

---



---

# LANKESTERIANA

---



---

No. 7

MAYO 2003

## 1<sup>er</sup> Congreso Internacional de Orquideología Neotropical 1<sup>st</sup> International Conference on Neotropical Orchidology

Manejo de Datos e Información / *Information and Data Management*

### CAXI XANATH. Base de datos de la Colección de Orquídeas del Jardín Botánico Clavijero

PHILIP J. BREWSTER & MARICRUZ PEREDO NAVA ..... 3

### AMO-DATA en la taxonomía y en el manejo de colecciones

ERIC HÁGSATER & LUIS M. SÁNCHEZ SALDAÑA ..... 5

### Hacia un catálogo actualizado de las Orchidaceae de Cuba

ERNESTO MÚJICA BENÍTEZ ..... 7

### The endemic orchid genera of the Antilles

MARK A. NIR ..... 9

### Costa Rican Orchidaceae types (CROTYPES) digital imaging documentation at AMES, Harvard University

FRANCO PUPULIN & GUSTAVO A. ROMERO-GONZÁLEZ ..... 11

### When is a species extinct? Quantitative inference of threat and extinction from herbarium data

DAVID L. ROBERTS & GREG MCINERNY ..... 17

### El Centro de Documentación del Jardín Botánico Lankester

WALTER SCHUG ..... 21

### El género *Epidendrum* en San Pedro de Carpish, Huánuco, Perú

DELSY M. TRUJILLO CHÁVEZ ..... 25

Avances en Filogenia de Orquídeas / *Advances in Orchid Phylogeny*

### Sistemática, filogenia y biogeografía de *Myrmecophila* (Orchidaceae)

GERMÁN CARNEVALI, JOSÉ LUIS TAPIA, NORRIS H. WILLIAMS & W. MARK WITTHEN ..... 29

continúa en las páginas internas



ESTE NÚMERO DE LANKESTERIANA  
FUE PUBLICADO GRACIAS AL GENTIL PATROCINIO DE LA  
FUNDACIÓN CHARLES H. LANKESTER



# LANKESTERIANA

LA REVISTA CIENTÍFICA DEL JARDÍN BOTÁNICO LANKESTER  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Copyright © 2003 Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica

Fecha efectiva de publicación / Effective publication date: 16 de mayo del 2003

Diagramación: Jardín Botánico Lankester

Imprenta: Litografía Ediciones Sanabria S.A.

Tiraje: 750 copias

Impreso en Costa Rica / Printed in Costa Rica

R Lankesteriana / La revista científica del Jardín Botánico  
Lankester, Universidad de Costa Rica. No. 1  
(2001)-- . -- San José, Costa Rica: Editorial  
Universidad de Costa Rica, 2001--  
v.

ISSN-1409-3871

1. Botánica - Publicaciones periódicas, 2. Publicaciones  
periódicas costarricenses



<b>Orchids smarter than scientists: an approach to Oncidiinae (Orchidaceae) taxonomy</b> STIG DALSTRÖM _____	33
<b><i>Guarianthe</i>, a generic name for the “<i>Cattleya</i>” <i>skinneri</i> complex</b> ROBERT L. DRESSLER & WESLEY E. HIGGINS _____	37
<b><i>Prosthechea</i>: a chemical discontinuity in Laeliinae</b> WESLEY E. HIGGINS _____	39
<b>Phylogeny and evolution</b> WALTER A. MARÍN _____	43
<b>Phylogeny of the <i>Heterotaxis</i> Lindley complex (Maxillariinae): evolution of the vegetative architecture and pollination syndromes</b> ISIDRO OJEDA, GERMÁN CARNEVALI, NORRIS H. WILLIAMS & W. MARK WHITTEN _____	45
<b>Phylogenetics of the Subtribe Pleurothallidinae (Epidendreae: Orchidaceae) based on combined evidence from DNA sequences</b> ALEC M. PRIDGEON & MARK W. CHASE _____	49
<b>Análisis fenético de caracteres anatómico-foliares de <i>Trichocentrum</i> y géneros relacionados (Orchidaceae, Oncidiinae)</b> ESTHELA SANDOVAL, TERESA TERRAZAS & ALEJANDRO VALLEJO _____	51
<b>Anatomía vegetativa de <i>Mexipedium xerophyticum</i> (Soto, Salazar &amp; Hágater) V.A. Albert &amp; M.W. Chase y géneros relacionados (Orchidaceae, Cyripedioideae)</b> ESTHELA SANDOVAL, TERESA TERRAZAS, GERARDO SALAZAR, ALEJANDRO VALLEJO & BÁRBARA ESTRADA _____	54
<b>Toward a phylogeny of Maxillariinae orchids: multidisciplinary studies with emphasis on Brazilian species</b> RODRIGO B. SINGER & SAMANTHA KOEHLER _____	57
<b>Molecular phylogenetics and generic concepts in the Maxillarieae (Orchidaceae)</b> NORRIS H. WILLIAMS & W. MARK WHITTEN _____	61
Estudios de poblaciones / <i>Population Studies</i>	
<b>El área fotosintética como indicador de la producción de flores en <i>Lepanthes sanguinea</i></b> MARÍA M. AGOSTO PEDROZA & RAYMOND L. TREMBLAY _____	65
<b>Efecto de remoción y relocalización de <i>Lepanthes eltoroensis</i> Stimson, después de un huracán</b> RAFAEL J. BENÍTEZ JOUBERT & RAYMOND L. TREMBLAY _____	67
<b>Phenotypic selection in <i>Lepanthes rupestris</i> Stimson</b> SOL TAÍNA CINTRÓN BERDECÍA & RAYMOND L. TREMBLAY _____	70
<b>Reproductive potential, growth rate and light environment in <i>Lepanthes rupestris</i> Stimson</b> DENNY S. FERNÁNDEZ, RAYMOND L. TREMBLAY, EVENEIDA RODRÍGUEZ & LIZ NELIA LÓPEZ _____	73
<b>Irregular flowering regimes in orchids</b> PAVEL KINDLMANN _____	77

**Breeding systems, gene flow and level of genetic differentiation in plant populations**  
 OSCAR J. ROCHA ..... 81

**The genetic structure of orchid populations and its evolutionary importance**  
 RAYMOND L. TREMBLAY & JAMES D. ACKERMAN ..... 87

Biología de la Polinización / *Pollination Biology*

**Resupination**  
 JOSEPH ARDITTI ..... 95

**Polinización de orquídeas en Guatemala: los polinizadores, el estado natural de sus poblaciones y las implicaciones para las especies polinizadas**  
 MARGARET DIX & MICHAEL DIX ..... 97

***Rhynchostele biconiensis*: cambios en abundancia y éxito de polinización entre 1992 y 2002**  
 MICHAEL DIX & MARGARET DIX ..... 98

**Why are there so many orchid species?**  
 CALAWAY H. DODSON ..... 99

**La subtribu Stanhopeinae: sus notables mecanismos de polinización, la química de sus aromas florales e implicaciones en sistemática y taxonomía**  
 GÜNTER GERLACH ..... 104

**Effects of flower age on pollination success in *Lepanthes sanguinea***  
 EDWIN GUEVARA RAMOS, MARÍA M. AGOSTO PEDROZA & RAYMOND L. TREMBLAY ..... 107

**Floral mimicry in Oncidioid orchids**  
 MARTYN POWELL, FRANCO PUPULIN, JORGE WARNER, MARK W. CHASE & VINCENT SAVOLAINEN ..... 109

**Orchid pollination: recent developments from Brazil**  
 RODRIGO B. SINGER ..... 111

Educación para la Conservación / *Education for Conservation*

**Orquídeas del Valle Escondido**  
 JORGE ARTURO CAMPOS ..... 117

**Neotropical orchid eco-tourism: educational experience of an orchid neophyte at the Bosque de Paz Biological Preserve, Central Volcanic Range, Costa Rica**  
 STEPHEN H. KIRBY ..... 121

**Conservation through education**  
 MARILYN H.S. LIGHT ..... 125

**Catálogo preliminar de las Orchidaceae de la Zona Protectora Cerros de la Carpintera, Costa Rica**  
 CARLOS OSSENBACH S., MARIO OSSENBACH S. & FRANCO PUPULIN ..... 127

**Conservación de orquídeas en Guatemala: la experiencia de un colegio**  
 RAQUEL JIMÉNEZ DE PINTO ..... 133

<b>Orchids at Writhlington School, orchid conservation in the community</b> SIMON PUGH-JONES	135
---	-----

Germinación y Propagación / *Germination and Propagation*

<b>Seed characteristics and asymbiotic germination of <i>Galeandra batemanii</i> Rolfe and <i>G. greenwoodiana</i> Warford</b> MARILYN H.S. LIGHT & MICHAEL MACCONAILL	141
<b>Variación en germinación simbiótica entre semillas de <i>Tolumnia variegata</i> y entre hongos micorrízicos</b> J. TUPAC OTERO, PAUL BAYMAN & JAMES D. ACKERMAN	145
<b>Mycorrhizal fungi of <i>Vanilla</i>: root colonization patterns and fungal identification</b> ANDREA PORRAS ALFARO & PAUL BAYMAN	147
<b>Micropropagación y conservación de orquídeas mexicanas en el Jardín Botánico Clavijero</b> VÍCTOR MANUEL SALAZAR ROJAS & MARTÍN MATA ROSAS	151
<b>Mycorrhizal fungi of endangered orchid species in Kolli, a part of Eastern Ghat's, South India</b> S. SENTHILKUMAR	155

Historia de la Orquideología / *History of Orchidology*

<b>El botánico y artista Rafael Lucas Rodríguez (1915-1981); reseña de su vida y su obra</b> CARLOS O. MORALES	159
<b>La aventura europea del <i>Epidendrum radicans</i></b> CARLOS OSSENBACH S.	165
<b>Tres en uno, ¿o son más? Historia de <i>Epidendrum dichotomum</i> Lindl., non Presl</b> GUSTAVO A. ROMERO-GONZÁLEZ & GERMÁN CARNEVALI FERNÁNDEZ-CONCHA	169
<b>Nuevas perspectivas de investigación de la familia Orchidaceae en Costa Rica</b> RAFAEL ÁNGEL VALVERDE ARIAS & ADOLFO QUESADA CHANTO	173
<b>La investigación en el Jardín Botánico Lankester</b> JORGE WARNER	175

Patología de Orquídeas / *Orchid Pathology*

<b>Estudio de la pudrición negra de las orquídeas causada por <i>Phytophthora</i> sp. en colecciones del Valle Central de Costa Rica</b> CLAUDIO CÁRDENAS BRICEÑO	179
<b>Detección de tres especies de Potyvirus en orquídeas nativas en un vivero del Valle Central de Costa Rica</b> B. ORTÍZ-ARIAS, L. MOREIRA, A.V. MACAYA-LIZANO & C. RIVERA	181

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

*Sesión / Session*

**MANEJO DE DATOS E INFORMACIÓN**  
***INFORMATION AND DATA MANAGEMENT***

## “CAXI XANATH” BASE DE DATOS DE LA COLECCIÓN DE ORQUÍDEAS DEL JARDÍN BOTÁNICO CLAVIJERO

PHILIP J. BREWSTER & MARICRUZ PEREDO NAVA

Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México

La importancia de documentar las colecciones de plantas en los jardines botánicos es esencial para realizar estudios sobre ellas. De los 51 jardines botánicos de México, el Jardín Botánico Clavijero (JBC), es el único ubicado en Bosque Mesófilo de Montaña (BMM). La ventaja de contar con una base de datos de la colección del jardín botánico facilita la investigación, educación y conservación. Se presenta CAXI\_XANATH (Flor negra en lengua totonaca de *Vanilla planifolia*), una base de datos diseñada en Access 2000 que almacena información de ejemplares vivos depositados en la Colección de Orquídeas del JBC. Actualmente CAXI\_XANATH contiene cerca de 1300 registros (ca. 140 especies) de 18 Estados de la República, e incluye información curatorial, geográfica, taxonómica, referencias bibliográficas, imágenes, técnicas empleadas y estudios de cultivo, además de actuar como una guía de identificación enfocada a las especies de BMM de la región. Tal información servirá para la publicación de un libro y CD-ROM.

**Antecedentes.** La colección de orquídeas del JBC es una de las más importantes de los jardines botánicos de México. Eso se debe principalmente al tamaño de la colección y a que la mayor parte de sus ejemplos son colectas locales del BMM, uno de los hábitats de mayor riqueza pero dentro de los más amenazados del país. En él se encuentra una alta concentración de diversidad de orquídeas. El hecho de que el JBC es el único jardín botánico de México ubicado en BMM con, tal vez la única colección documentada de orquídeas de la región, destaca su importancia actual y futuro potencial.

**Problemática.** Reconociendo la diversidad de especies en la colección, se detectó cierta problemática en la falta de conocimiento de detalles hortícolas, ya que el almacenamiento de los registros en una base

de datos ya existente, estaba limitada sólo a los datos de colecta. Otro de los problemas ha sido la falta de actualización de información en la base de datos, lo que provoca que exista una gran inconsistencia entre los registros y el estado actual de la colección; identificación, ubicación, pérdida de material.

**Base de datos CAXI XANATH.** Es por esto que nace CAXI\_XANATH, una base de datos diseñada para administrar información sobre la colección de orquídeas. En su primera fase se dirige más a quienes tienen mayor contacto e interés en la colección, por ejemplo los jardineros del jardín botánico y el público en general. Almacena tanto datos de colecta como información hortícola, por ejemplo la aplicación de sustratos, riego y fertilizantes y control de luz, temperatura y humedad, además de la identificación de plagas y enfermedades y su control.

Para lograr la identificación correcta de cada especie, se cuenta con una característica vital en la base de datos que es la presentación de imágenes de cada registro de la colección y la información taxonómica, de distribución y hábitat que le corresponde.

Se emplean tres niveles taxonómicos (género, especie, infraespecie) incluyendo también sinonimia y nombres vernaculares. Se basa en la clasificación de Dressler (1993) y sigue las abreviaciones de autores de Brummitt & Powell (1992).

Como información adicional, se pretende conservar referencia bibliográfica de la descripción de las especies, así como referencia a la bibliografía particular.

Otros detalles que incluye son notas sobre la aplicación de métodos de polinización y la fenología.

**Estructura.** El modelo de base de datos CAXI\_XANATH utiliza datos relacionales. Está constituido por 26 tablas relacionales, las cuales fueron creadas a partir del manejador de bases de datos Access 2000.



Cuadro 1. Registros incluidos en la base de datos, con su procedencia geográfica y ecológica.

País	Número registros
México (18 Estados)	1281
Otros países	20

Tipo de Vegetación	Número registros
No definida	788
Bosque mesófilo de montaña	197
Bosque tropical perennifolio	135
Bosque de <i>Quercus</i>	115
Bosque tropical caducifolio	26
Bosque de coníferas	21
Bosque tropical subcaducifolio	15
Pastizal	3
Palmar	1

La incorporación y actualización de información se realiza a través de sencillos formularios de captura. Los datos almacenados en las tablas pueden ser extraídos con consultas y visualizados en informes o formularios. Los datos pueden ser exportados a formatos como Excel, Lotus, Paradox, Dbase, documentos html, archivos de texto, archivos en formato RTF, SQL, entre otros.

Cuadro 2. Registros del Estado de Veracruz.

Veracruz	Número registros
Géneros	85
Especies	193

Actualmente la base de datos alberga un poco más de 1300 registros (ca. 140 especies) de 18 Estados de la República, distribuidos de la manera indicada en el Cuadro 1.

En México, es el estado de Veracruz el más representativo, ya que contamos con 1051 registros (Cuadro 2).

**Conclusión.** Para contribuir en el cumplimiento de los objetivos de la misión del JBC (investigación, educación y conservación), la base de datos de la colección de orquídeas tendrá un papel inicial importante en el uso de su información por parte del personal del jardín (información completa) y del público en general (información restringida); esto último se pretende presentar en forma de un manual, CD-ROM y página web.

Como parte del seguimiento a este proyecto se continuará con el proceso de alimentación a la base de datos con información técnica que servirá de apoyo a la comunidad científica.

**Philip J. Brewster** realizó estudios de horticultura en Merrist Wood Agricultural College, Inglaterra. Del 1985 a 1996 trabajó como horticultor botánico en los Royal Botanic Gardens, Kew, donde estuvo encargado de varias colecciones vivas en el departamento de plantas tropicales. Durante ese tiempo realizó expediciones a España (principalmente Islas Canarias) y Colombia. Desde 1996 colabora en el Jardín Botánico Clavijero del Instituto de Ecología, México, como responsable de las áreas públicas. A partir del 2000 es encargado de la colección de orquídeas, participando en cursos y talleres como miembro de la Asociación de Orquideología de México.

## AMO-DATA EN LA TAXONOMÍA Y EN EL MANEJO DE COLECCIONES

ERIC HÁGSATER<sup>1</sup> & LUIS M. SÁNCHEZ-SALDAÑA

Herbario AMO, Apartado Postal 53-123, 11320, México, D.F.

<sup>1</sup>Autor para correspondencia: eric@internet.com.mx

AMO-DATA es un sistema de bancos de datos, relacionados todos ellos entre sí, para el manejo de colecciones botánicas y taxonomía. Reúnen información de familias, géneros, especies, localidades, tipos de vegetación y nomenclatorial, entre otros; en sí, toda la información necesaria para los trabajos de tipo taxonómico de la familia Orchidaceae.

En sus inicios, AMO-DATA fue diseñada en el Herbario AMO por Eric Hágsater y Kerry Walter en el manejador de bases de datos Revelation, entre los años 1984-1985. Contaba con cuatro bancos de información: el de géneros, el de países, el de colectas y el banco de ejemplares de herbario, los cuales pretendían cubrir la mayor cantidad de información posible de cada uno de los registros, basados en las etiquetas de colecta.

Posteriormente se inició el desarrollo de un banco de datos nomenclatorial para la familia Orchidaceae, con la idea de incluir todos los nombres disponibles para la familia, esto con la finalidad de obtener listados de los taxa con su sinonimia, además del manejo de la bibliografía básica.

Finalmente en colaboración de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, se concretó una base de datos más completa, desarrollada en el programa comercial Advanced Revelation, el cual es un manejador de bases de datos de tipo relacional con campos de longitud variable, los cuales se ajustan automáticamente a la cantidad de información que contenga cada registro, además cuenta con campos de valor múltiple, los cuales nos permiten tener varios valores (nombres) en el mismo campo, y presenta campos simbólicos, los cuales permiten tener una mayor versatilidad en el manejo de la información de los diferentes registros.

Actualmente AMO-DATA cuenta con 27 bancos de información todos ellos interrelacionados entre sí. Dentro de ellos destaca el banco COLECTAS, que con-

siste fundamentalmente de una libreta de colectas electrónica, en la cual se almacena toda la información recabada durante los viajes de recolección en el campo, por los diferentes colectores de la Institución y el banco de ESPECÍMENES, basado en las etiquetas de los ejemplares de herbario, y que almacena toda la información contenida en éstas, permitiendo además capturar información de colecciones anexas al herbario como son: la diapoteca, flores preservadas en alcohol, ilustraciones y otras.

El banco denominado BIBLIOGRAFÍA, contiene la información referente a los artículos en los que se describen especies nuevas, o bien, aquellos trabajos en los que se efectúan cambios nomenclatoriales o taxonómicos, permitiendo con ésto tener la referencia bibliográfica completa y detallada. Finalmente en el banco TAXA, se capturan todos los nombres válidamente publicados y aceptados, basándose principalmente en las descripciones originales, monografías, revisiones taxonómicas, etc. Este banco cuenta con la información de los sinónimos taxonómicos y nomenclatoriales para cada uno de los nombres aceptados.

Todos y cada uno de los bancos que forman AMO-DATA, dan como resultado una poderosa herramienta que ayuda a los trabajos florísticos y/o taxonómicos a obtener la información de manera fácil y ordenada. El procesamiento de todo el material mediante el uso del banco de COLECTAS es menos tedioso y con menos errores en el etiquetado del material, debido a que la información se teclea una sola vez y posteriormente se transfiere al banco de ESPECÍMENES. A partir de este banco se obtienen las etiquetas de herbario con sus respectivos duplicados, además de llevar un control preciso de lo que pasa con las plantas colectadas.

En lo que respecta a la revisión e identificación de todo el material botánico que se está estudiando, esta tarea se vuelve relativamente sencilla al utilizar con-

juntamente los bancos ESPECÍMENES y TAXA, debido a que de una manera rápida se obtiene cualquier información disponible en las etiquetas de herbario, por ejemplo: todos los nombres que ha recibido un ejemplar de herbario y quién los asignó, el colector y su número de colecta, datos de ecología y distribución local y/o regional de una especie, si se trata de material tipo o no, sólo por mencionar algunos.

Mediante el uso de estos bancos es fácil localizar duplicados de una misma colecta depositados en diferentes instituciones, lo que nos permite identificar automáticamente todos los duplicados con la revisión de un solo ejemplar. Además, nos facilita la localización de material tipo no anotado como tal en las instituciones, basándonos en la información disponible en la publicación original.

El poner en blanco y negro los resultados de nues-

tro estudio, que es la última etapa de nuestro trabajo, se vuelve relativamente simple, ya que mediante una serie de listados, podemos obtener en cualquier orden resultados tales como: listados florísticos locales y/o regionales; listado del material revisado, incluyendo la institución en que se encuentra depositado; lista de nombres aceptados con sus sinónimos nomenclatoriales y taxonómicos; cita bibliográfica de cada uno de los nombres utilizados en nuestro estudio, datos acerca de material tipo, etc.

Finalmente, con los 120 mil registros con los que cuenta AMO-DATA actualmente se han publicado 6 volúmenes de los *Icones Orchidacearum*, gran parte de la revista *Orquídea* (Méx.), entre otras. Además, la información con que cuenta AMO-DATA, está disponible a todos aquellos estudiosos que estén interesados en este tópico.

**Eric Hágsater.** Fundador de la Asociación Mexicana de Orquideología en 1969, Fundador y Director del Herbario AMO desde 1976. Es miembro y fundador de importantes Asociaciones y Fundaciones tanto de México como del extranjero. Especialista en el género *Epidendrum* L. (Orchidaceae), con más de 130 artículos publicados, principalmente en la taxonomía de orquídeas y en la conservación de las orquídeas en el Neotrópico. Editor de la revista *Orquídea* (Méx.) y de los *Icones Orchidacearum*, entre otras publicaciones. Ha diseñado y desarrollado AMO-DATA. Miembro desde 1994 del comité técnico de la REMIB (Red Mundial de Información sobre Biodiversidad), red interinstitucional que comparte información biológica. Está constituida por nodos, formados por los centros de investigación que albergan las colecciones científicas.

**Luis Sánchez.** Curador del Herbario AMO desde 1995 y responsable del manejo y funcionamiento de AMO-DATA. Colaborador de Eric Hágsater en el estudio del género *Epidendrum* L. (Orchidaceae) en el Neotrópico. Ha participado en diversos proyectos tanto de México como del extranjero. Coeditor de los *Icones Orchidacearum* desde 1997.

## HACIA UN CATÁLOGO ACTUALIZADO DE LAS ORCHIDACEAE DE CUBA

ERNESTO MÚJICA BENÍTEZ

Jardín Botánico Orquideario Soroa, Universidad de Pinar del Río  
Apdo. Postal No. 5. Candelaria, Pinar del Río. Cuba. emujica@vrect.upr.edu.cu

Desde el siglo pasado las especies de orquídeas que habitan el territorio cubano han estado en el punto de mira de los estudiosos del tema por ser la isla de Cuba la mayor de las Antillas. Sin embargo, es hasta el año 1938 cuando se publica el primer estudio sobre las orquídeas de esta isla por parte de Julián Acuña Galé, prestigioso botánico cubano (Acuña Galé 1938). Posteriormente, en 1946, el Hermano León publica en su libro "Flora de Cuba" un nuevo tratamiento y listado (Sauget 1946). Un largo período de tiempo siguió a esta publicación y sólo 38 años después, en 1984, la Dra. Helga Dietrich, de la Universidad de Jena en Alemania, publica un *check-list* de acuerdo a los estudios realizados por ella en Cuba (Dietrich 1984). A fines del año 1998, después de un intenso trabajo, fue confeccionado por un grupo de autores del Orquideario Soroa, Cuba, el último listado oficial de géneros y especies de orquídeas registradas en Cuba, el cual salió publicado a principios del año 2000 formando parte del libro "Los Géneros de Orquídeas Cubanas" (Mújica *et al.* 2000).

Debido al dinamismo que tienen los estudios orquideológicos en el mundo y principalmente en Mesoamérica, son muchos los cambios nomenclatoriales y segregaciones que se han realizado después de tres años, por lo que ya se hace necesaria una nueva revisión de la familia para Cuba.

El objetivo del presente trabajo es la creación de un catálogo actualizado, teniendo en cuenta los nuevos registros, tendencias y resultados de los estudios taxonómicos actuales, llevados a cabo por importantes especialistas nacionales y extranjeros que durante años han dedicado sus esfuerzos a esta tarea.

Para ello se revisaron en su totalidad los ejemplares depositados en el Herbario del Instituto Superior Pedagógico de Pinar del Río (HPPR) (Mújica 2003), los del Herbario Johannes Bisse (HAJB), del Jardín Botánico Nacional y los depositados en el Herbario

del Instituto de Ecología y Sistemática (HAC), que contiene las colecciones de los antiguos Herbario Sauvalle, Herbario de la Estación Agronómica de Santiago de Las Vegas y los del Herbario del Colegio de La Salle. Igualmente se han tenido en cuenta los ejemplares depositados en el Herbario del Orquideario Soroa, aunque éste no está actualmente registrado.

En los casos de especies que se encuentran en Cuba y no tienen testigo en ningún herbario nacional se han confiado en algunos autores y en informaciones obtenidas de algunos herbarios extranjeros que no han podido ser visitados. Sólo se han hecho excepciones en los casos de especies citadas que carecen de testigos en herbarios nacionales o extranjeros pero que han sido o están siendo cultivadas en estos momentos en el Orquideario Soroa. Éstas están debidamente comprobadas por el autor después de ver los ejemplares, fotos y dibujos de los mismos, y así se hace constar en el listado.

Como podrá comprobarse, se han utilizado también datos e informes que aparecen tanto en antiguas bibliografías como en las más actuales, tratándose de llegar en todo momento a criterios que correspondan lo más fielmente posible a las tendencias que hoy se observan en el campo de la orquideología en Mesoamérica. Evidentemente se ha tratado de adoptar la nomenclatura más reciente en la designación de los taxa. Como todos saben, los estudios de análisis molecular han traído como consecuencia en algunos grupos la segregación de muchas de sus especies hacia otros géneros. En algunos casos estos cambios ya han sido aceptados en el listado en preparación, mientras que en otros el autor prefiere señalar estos nuevos cambios como sinónimos en espera de que los estudios con cada grupo concluyan, principalmente en los grandes, y poder ofrecer una realidad más completa de cada uno de ellos en el futuro.

Igualmente se realizan una serie de comentarios en aquellos casos de cambios nomenclatoriales, adiciones o eliminaciones de géneros y especies registradas para el país y se señalan las especies endémicas en Cuba. El autor, en algunos casos, considera probable la presencia en territorio cubano de otras especies que actualmente carecen de un registro confiable, por lo que aparecen en un listado de especies de posible presencia en Cuba. Igualmente se brinda un pequeño listado de especies que han sido observadas en algunas ocasiones y sobre las cuales el autor muestra serias dudas.

Por último, el autor desea con el presente trabajo, lograr que sirva de referencia actualizada para aquellos que día a día se esfuerzan por estudiar y conservar las especies de esta familia de plantas en el país y la región.

#### AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que deben ser mencionadas y muy poco el espacio. En primer lugar al amigo Franco Pupulin del Jardín Botánico Lankester y principal gestor de esta idea junto a Carlos Ossenbach y su esposa Pilar Casasa, quienes desde San José de Costa Rica y al frente de la Fundación Lankester han colaborado desinteresadamente para la divulgación de este trabajo. A Eric Hágater,

Helga Dietrich, León Ibarra, Robert Dressler, Carlyle A. Luer y James Ackerman por la paciencia mostrada y la ayuda brindada a la hora de responder a mis dudas. A los colegas del Orquideario Soroa, Rolando Pérez Márquez y José L. Bocourt y los técnicos por su apoyo en todo momento, a Alelí Morales, Curadora de la colección de la sección Orchidaceae del HAJB, al Dr. Armando Urquiola y Teresa García del HPPR y Juan Llamacho del HAC por las facilidades otorgadas para la revisión de esos herbarios.

#### LITERATURA CITADA

- Acuña Galé, J. 1938. Catálogo descriptivo de las orquídeas cubanas. Bol. Est. Agron. Santiago de Las Vegas 60.
- Dietrich, H. 1984. Vorläufiges Gattungs- und Artenverzeichnis Kubanischer Orchidaceae. Wiss. Zeitschr. Friedrich-Schiller-Univ. Jena.
- Mújica Benítez. E., 2003. Notas acerca de la colección de Orchidaceae del Herbario del Instituto Superior Pedagógico de Pinar del Río (HPPR), Cuba. Lankesteriana 6: 9-16.
- Mújica Benítez. E., R. Pérez Márquez, J. Lazaro Bocourt Vigil, P.J. López Trabanco y T.M. Ramos Calderón. 2000. Géneros de Orquídeas Cubanas. Editorial Félix Varela, La Habana. 208 p.
- Sauget, J.S. (Hno. León). 1946. Familia 2. Orquídeas. In Flora de Cuba. Vol. I. Gimnospermas. Monocotiledóneas. Contr. Occ. Mus. Hist. Nat. Col. La Salle 1 (8): 341-404.

**Ernesto Mújica Benítez** es Licenciado en Educación, convertido en estudioso de las orquídeas de forma autodidacta. Labora en el Orquideario Soroa desde hace 10 años, donde es Jefe de Colecciones y se dedica principalmente a los estudios fenológicos de las especies de orquídeas cubanas, además de incursionar en otras áreas de investigación. Ha participado e impartido conferencias y charlas sobre diversos temas en Argentina y Chile, además de haber visitado también Paraguay, Brasil y Costa Rica en funciones de trabajo. Actualmente está realizando sus estudios de doctorado sobre el estado de conservación de especies endémicas de la península de Guanahacabibes, de acuerdo a los resultados de los niveles de producción de frutos de las mismas.

## THE ENDEMIC ORCHID GENERA OF THE ANTILLES

MARK A. NIR

Research Associate

Department of Systematics, The New York Botanical Garden  
Bronx, NY 10458, U.S.A. klapi@aol.com

In the Antillean Archipelago there are more than 600 species of orchids in about 120 genera. Of them about 90 species belong to 14 endemic genera. The Antillean genera are purely a Greater Antilles phenomenon. Only three species extend into Florida and three into the Lesser Antilles (Table1).

The epidendroid phylade (van den Bergh *et al.* 2000) shows the three alliances that concern us here, the *Neocogniauxia–Dilomilis* clade, the *Domingoa* clade and the *Broughtonia* clade. As predicted by Dressler in 1981, the paper shows quite convincingly both the relationship of the *Neocogniauxia–Dilomilis* clade to the Pleurothallids and its relationship to the progenitors of the Laeliinae. Except for *Dilomilis montana*, the members of this group are rare and highly endangered. The position of the monospecific genus *Tomzania* Nir remains unresolved. Since at present there are apparently no closely related species

on the mainland, these may be considered palaeo-endemics.

In the *Domingoa–Nageliella–Homalopetalum* clade, the van den Bergh & al. paper fully confirms Dressler's (1964) transfer of the Mexican *Ponera–Scaphyglottis–Hartwegia kienastii* to *Domingoa*, which until then consisted of *Domingoa nodosa* and *Domingoa haematochila* from Hispaniola and Mona, thus reducing the number of purely Antillanean genera.

The *Broughtonia* clade, consisting of the genera *Basiphyllaea*, *Tetramicra*, *Quisqueya*, *Psychilis* and *Broughtonia*, was also predicted by Dressler (1981). At the time there was one *Tetramicra* with pseudobulbs, while recently the epiphytic *Tetramicra malpighiarum* was described (Hernández & Díaz 2000). At least two new species of *Tetramicra* remain to be published. *Laeliopsis* and *Cattleyopsis* have already been previously included in *Broughtonia* (e.g. Díaz 1996, Nir 2000).

Molecular data on *Basiphyllaea* have not yet been published. Since the publication of Orchidaceae Antillanae (Nir 2000), two additional species were described (Díaz *et al.* 2001, Ackerman 2001) and two more transferred from *Bletia*.

The publication of the paper by Carlswald *et al.* (2002) fully justifies the reunification of the genera *Polyrrhiza* and *Polyradicion* with *Dendrophylax* as proposed by Nir (2000), while several species need to be transferred from *Campylocentrum* to *Dendrophylax*, most notably the monospecific genus *Harrisella*. The paper also demonstrated the noncon-specificity of the Caribbean *Campylocentrum jamaicense* with the mainland *Campylocentrum micranthum*. The New World Angraecinae now comprise two genera as proposed by Nir (2000), forming a neotropical clade, sister to the Old World Angraecinae.

Table 1. The Antillanean Orchid Genera. Number of species in each genus (One species each: F = Florida, L.A. = Lesser Antilles). Modified from Nir, Orchidaceae Antillanae, 2000.

<i>Antillanorchis</i>	1	
<i>Basiphyllaea</i>	3	F
<i>Braasiella</i>	1	
<i>Broughtonia</i>	6	
<i>Dendrophylax</i>	8	F
<i>Dilomilis</i>	5	
<i>Domingoa</i>	2	
<i>Fuertesella</i>	1	
<i>Neocogniauxia</i>	2	
<i>Psychilis</i>	15	L.A.
<i>Quisqueya</i>	4	
<i>Tetramicra</i>	13	L.A.
<i>Tomzania</i>	1	
<i>Tolumnia</i>	23	F, L.A.

The monophyly of the entirely Caribbean *Tolumnia* clade was shown by Williams *et al.* (2001). A cladogram by Williams and Whitten (2001) fully justifies the incorporation of the segregates *Hispaniella*, *Jamaicella*, *Olgasis* (Nir 1994), *Gudrunia* (Nir 2000), and *Braasiella* (Ackerman 2001) into *Tolumnia* Braem.

#### LITERATURE CITED

- Ackerman, J.D. 2001. Notes on the Caribbean Orchid Flora III. *Lindleyana* 16: 13-16.
- Ackerman, J.D. 1997. The Orchid flora of the Caribbean. *Lindleyana* 12: 149-152.
- Carlswald, B.S. *et al.* 2002. Molecular phylogenetics of Neotropical leafless Angraecinae (Orchidaceae): Reevaluation of generic concepts. *Int. J. Plant Sci.* 164: 43-51.
- Díaz Dumas, M.A. 1996. Revisión de los géneros antillanos *Broughtonia* R. Brown, *Cattleyopsis* Lemaire y *Laeliopsis* Lindley (Orchidaceae). *Rev. Jardín Bot. Nac.* 7:9-16.
- Díaz Dumas, M.A. *et al.* 2001. Taxonomic changes in Cuban Orchids: *Basiphyllaea*. *Harvard Pap. Bot.* 5: 487-488.
- Dressler, R. L. 1964. Nomenclatural notes on the Orchidaceae 2. *Taxon* 13: 245-247.
- Dressler, R. L. 1981. *The Orchids: Natural History and Classification*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Hernández, J. A & M. A Díaz. 2000. A New Species of *Tetramicra* (Orchidaceae). *Harvard Pap. Bot.* 5: 189-192.
- Nir, M. A. 1994. Taxonomic changes in Caribbean Orchids. *Lindleyana* 9:147-151.
- Nir, M. A. 2000. *Orchidaceae Antillanae*. *Dag Media*.
- Van den Bergh, C. *et al.* 2000. A Phylogenetic analysis of Laeliinae. *Lindleyana* 15: 96-114.
- Williams, N. H. *et al.* 2001. Molecular Systematics of the Oncidiinae. *Lindleyana* 16:113-139.
- Williams, N. H. & W. M. Whitten. 2001. Checking an orchid hybrid background. *Orchids* 70: 1056-1061.

**Mark A. Nir** was born 1935 in Slovakia. He is a graduate of the Rupin Agricultural College, and studied biology and medicine in Austria and Israel. Associate Professor Emeritus of Medicine (Dermatology), NY College of Medicine; Research Associate, Department of Systematics, The New York Botanical Garden.

## **COSTA RICAN ORCHIDACEAE TYPES (CROTYPES) DIGITAL IMAGING DOCUMENTATION AT AMES, HARVARD UNIVERSITY**

FRANCO PUPULIN<sup>1</sup> & GUSTAVO A. ROMERO-GONZÁLEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica  
Research Associate, Marie Selby Botanical Gardens

P.O. Box 1031-7050 Cartago, Costa Rica, AC. fpupulin@cariari.ucr.ac.cr

<sup>2</sup>Orchid Herbarium of Akes Ames, Harvard University Herbaria, Harvard University, U.S.A.

Botanical collections in developed countries are not always restricted to their native plants. Many herbaria in those countries also host large collections from tropical and subtropical floras as the result of floristic projects carried out by leading European and North American botanical institutions in the past three centuries. Access to these research collections and data resources has been historically a significant impediment for scientists working in tropical countries, where, paradoxically, a better documentation system is needed for the identification, comparison, and management of the much more diverse floras and faunas. Recent conventions on sustainable use of biodiversity (see <http://www.biodiv.org>) stress the importance of research and training contributing to biodiversity conservation, as well as the value of the interchange of relevant information aimed to maintain valuable plant resources and to make them widely available (Barthlott 2001). An effective electronic information system has been acknowledged as an important tool to provide dissemination of the information sources represented by biological collections kept in developed countries, including botanical collections. Images of herbarium specimens, in the form of photographs, slides, xerox copies, etc., with a special emphasis on nomenclatural types, have long been used as complementary materials for taxonomic studies, or as an alternative to the loan of important material. Early examples of extensive image collections are the photographs of European type specimens taken by J. Francis Macbride in the 1930's, now partially available from the web site of the Field Museum in Chicago (2003), the digitizing of Linnean types by the Swedish Museum of Natural History (2003a), and the data capture of types of all vascular plants held in

Dutch herbaria, carried out by the Leiden National Herbarium (2003). More recent type databases include the large Swartz herbarium (within the Regnellian herbarium at the Swedish Museum of Natural History) (Swedish Museum of Natural History 2003b), a collection comprising approximately 6000 specimens of phanerogams and ferns, mainly from the West Indies, loans from which are not allowed (Leiden Nationaal Herbarium 2003); the collections of specimens of *Erythroxylum* borrowed by the late Timothy Plowman at the Field Museum; the University of Florida Herbarium collections catalog and type specimens web sites, including plant species of Florida, including those potentially poisonous, and the UF Herbarium type specimens (Florida Museum of Natural History 2003); the collection of types of Costa Rican Instituto Nacional de Biodiversidad (2003); the Compositae types digital imaging project to be completed by the Munich public herbarium; and the Missouri Botanical Garden (2003) project aimed to create a database of plant images linked to associated database records as a repository for scientifically identified plant images. For a more complete survey of type database Internet addresses, see Davies *et al.* (2002).

Orchidaceae form one of the largest families of flowering plants, with an estimated 25,000 species (Dressler 1993). They are found in a great variety of habitats in all continents except Antarctica, but their diversity is greater in the tropical regions of the world. In the Neotropics, species of Orchidaceae constitute a significant part of most ecosystems and often constitute the most diverse component of the forest canopy. Costa Rica possesses 1360 orchid species, of which 267 are regarded as endemics (Pupulin 2002). This figure accounts for the highest diversity in



Mesoamerica and, in comparison with the reduced size of the country, for one of the richest orchid floras over the planet. The overall relevance of the family from both ecological and economical perspectives, makes any knowledge about the Orchidaceae of paramount importance for analysis of biodiversity, as well as for environmental evaluation and research. In these, and related fields, access to nomenclatural types is of great importance. Nomenclatural types are the specimens selected to serve as a reference point when a plant species is first described and named; they are permanently linked to the plant name and allow species to be identified without ambiguities (ICBN 2000). These specimens are extremely important to botanists when attempting to determine the correct application of a name, and provide a common basis for even the most advanced research techniques.

The origins of the Orchid Herbarium of Oakes Ames can be traced back to the establishment of the Ames Botanical Laboratory in 1899. Oakes Ames conceived his herbarium primarily as a working tool, and it became a depository of much and varied information on orchid species in addition to the storage of dried specimens. It included original descriptions, photographs, drawings, life-size copies of type-specimens, published-plates and other references useful for identification purposes. He also amassed a comprehensive library on the family. Ames donated his Orchid Herbarium and Library to Harvard in 1938, together with a sizable endowment. The Orchid Herbarium of Oakes Ames is an integral part of the Harvard University Herbaria and currently contains about 131,000 specimens and it is accompanied by a library of about 5,000 books, reprints, and journals. In addition, a collection of 3,000 flowers in glycerine, 4,000 pickled specimens, and hundreds of line drawings supplement dried specimens in the main collection. This herbarium is exceptionally rich in types, resulting from an active exchange program maintained throughout the years by the staff of the herbarium. With nearly 800 sheets, the AMES herbarium is perhaps the richest repository of Costa Rican Orchidaceae types in the world. From a preliminary survey, 23% are holotypes or holotype fragments, 11% are isotypes or isotype fragments, 52% are drawings of types (many of them to be selected as lecto-

types), 6% are types according to the literature but their category has not been established, and 3% are possible types.

The main objective of The CROTPES project is to digitize all the Costa Rican orchid types at AMES. It will be supported by two researchers, a Database/Network administrator, and two research assistants for a period of approximately one year. Specific activities will include the photographic and digital acquisition of images (including post production manipulation) and the library-based research for evaluation and collation of bibliographical documentation. Images will be acquired at AMES using an Epson 1640XL scanner and a Hasselblad 503ELX Camera equipped with 150mm f/4 Tessar Zeiss and 80mm f/2.8 Planar Zeiss lenses mounted on bellow, recorded on both Kodak E-64 120 slide film and Kodak 160 120 negative film. Photographic procedures will follow, in general, those recommended by Rochester Institute of Technology (2000) for archiving of type specimens. Slides and/or negatives will be successively scanned at Universidad de Costa Rica with a film scanner Nikon Super Coolscan 8000 ED (optical resolution of 4000 DPI [ppi], dynamic range 4.2), specifically designed for acquisition of 135 and medium format films. Computer support at AMES is currently a computer system based on a single Intel 2.4 Ghz Pentium 4 Xeon™ chip, with 120 gigabytes of storage and 1024 megabytes of RAM. At the Universidad de Costa Rica, computer support is currently a Macintosh (PowerMac G4) computer system with 17 gigabytes of storage and ~ 800 megabytes of RAM.

On average, four images will be recorded per type sheet: the entire sheets of specimens (Fig. 1, 2), macro images of taxonomically important structures (mostly the flower) (Fig. 3A), and the original label(s) (Fig. 3B, 4B). A measurement scale will be included in the images as a reference. Entire sheet specimens (11.5 x 17.5 in) will be scanned at 450 DPI (ppi), and generated file sizes will be around 39 megabytes (Fig. 1, 2). One or more close-ups will be scanned (ca. 4 x 4 in) up to 1200 DPI (ppi), with generated file sizes around 22 megabytes (Fig. 3A, 4A). Slides and negatives will be taken on medium format film (2 1/4 x 2 1/4 in) and successively scanned at

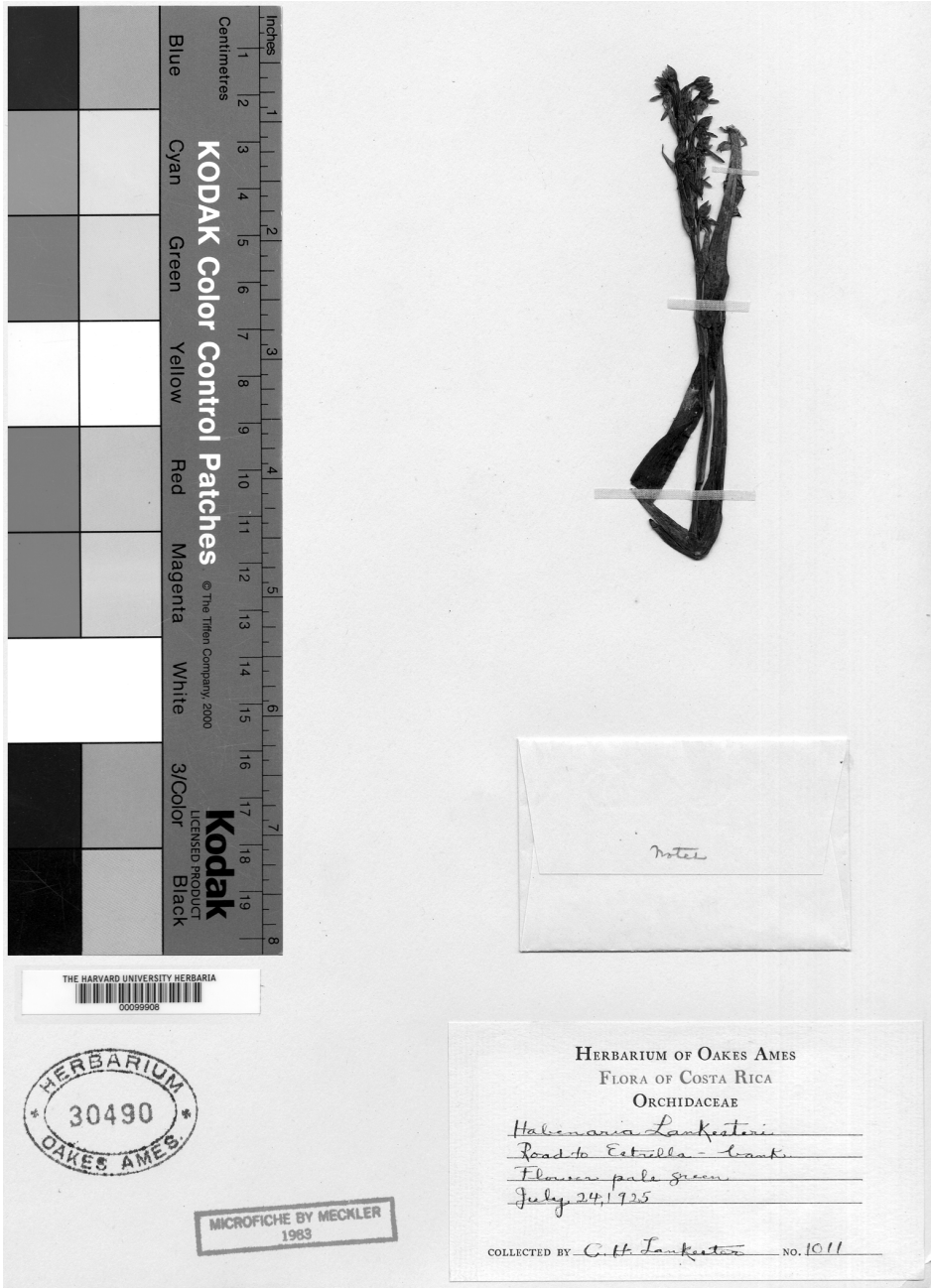


Figure 1. *Habenaria lankesteri* Ames. Holotype. Reproduced with kind permission by the Director, Harvard University Herbaria, Harvard University.

3000 DPI (ppi) or 4000 DPI (ppi), generating files of about 39 Mb and 60 Mb respectively.

Digital images will be initially recorded as TIFF files with color depth at 24/16 millions of colors. Images will be matched with a 1.8 gamma monitor

and relative colorimetrics for rendering profiles. Intermediate processing and post-production manipulation of digital herbarium images (to improve sharpening and to apply brightness/contrast filters) will be achieved with Adobe® Photoshop® 7.0.

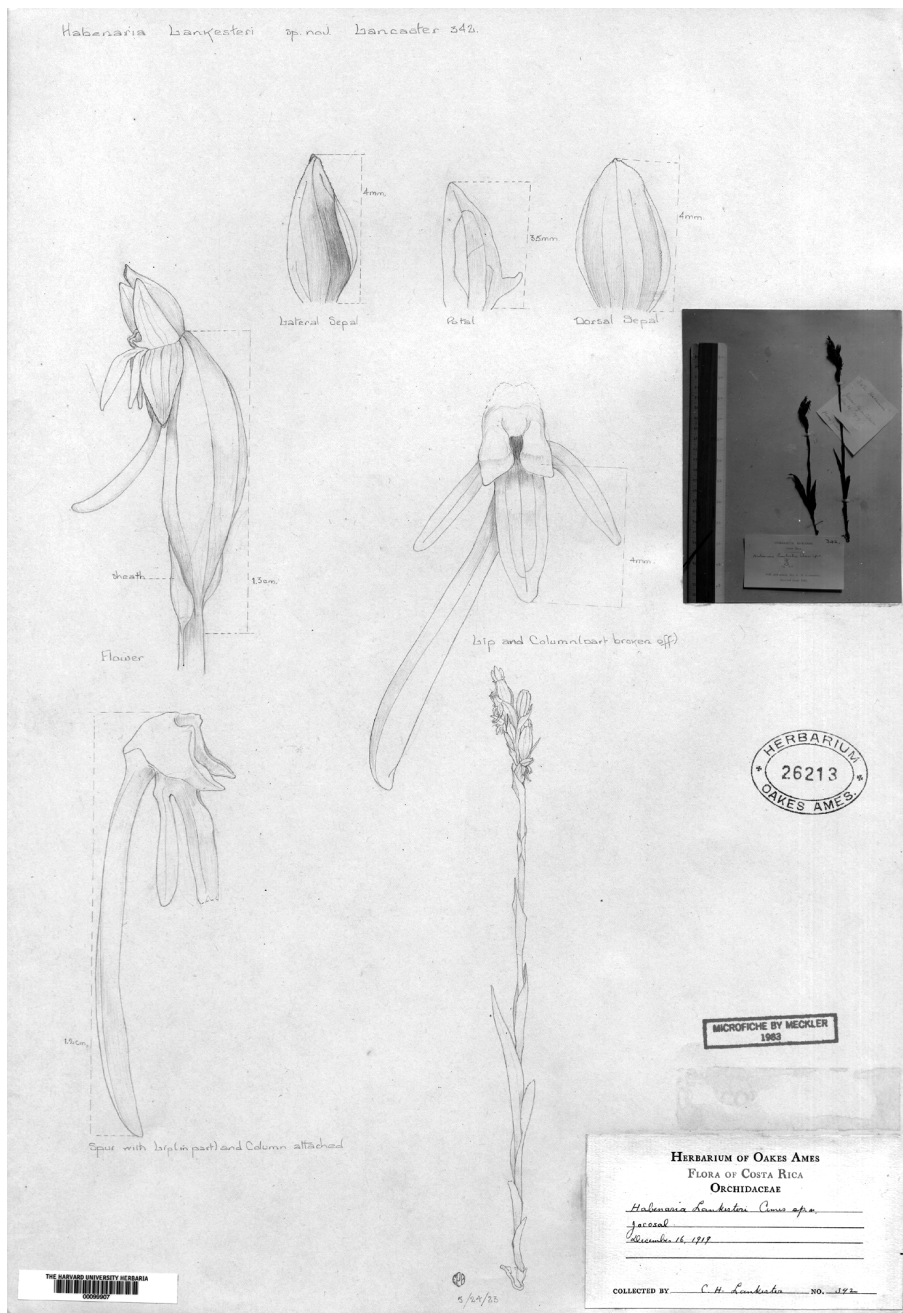


Figure 2. *Habenaria lankesteri* Ames. Drawing of holotype. Reproduced with kind permission by the Director, Harvard University Herbaria, Harvard University.

The slide and negative collections will be preserved employing accepted preservation practices. The digital images will be preserved as part of the ongoing commitment of both institutions to the maintenance and accessibility of their many collections and databases.

The status of types not yet determined will be checked in the pertinent literature and, when available, in modern revisions. Information not included on the sheet labels (i.e., author, collector, locality) will also be verified in the literature. Species names

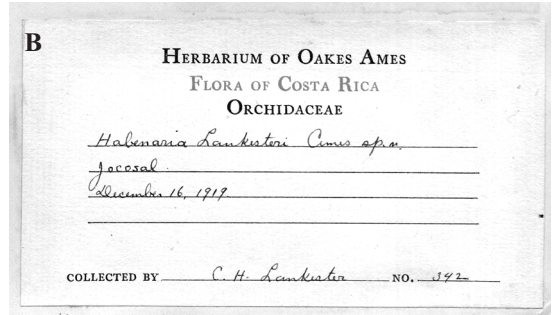
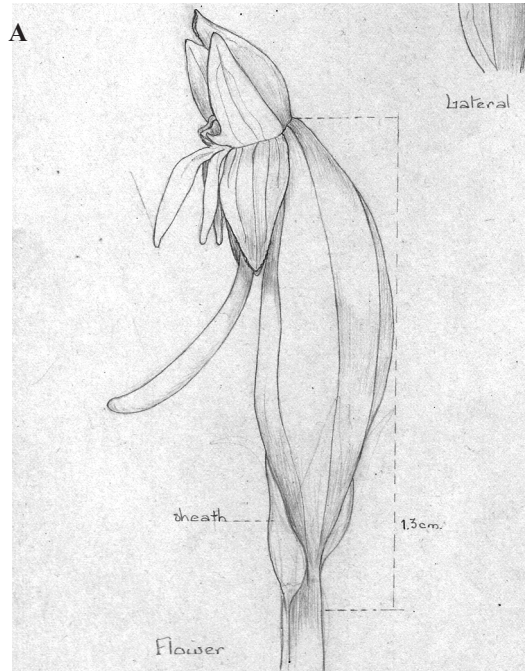
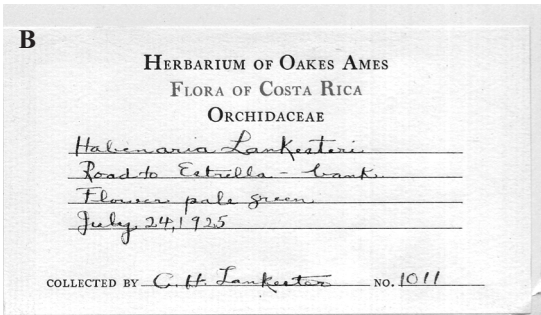


Figure 3. *Habenaria lankesteri* Ames. Holotype. A. Detail of flowers. B. Label. Reproduced with kind permission by the Director, Harvard University Herbaria, Harvard University.

Figure 4. *Habenaria lankesteri* Ames. Drawing of holotype. A. Detail of drawing. B. Label. Reproduced with kind permission by the Director, Harvard University Herbaria, Harvard University.

will be checked through the International Plant Names Index (IPNI, product of a collaboration between The Royal Botanic Gardens, Kew, The Harvard University Herbaria, and the Australian National Herbarium) and other literature sources. Author abbreviations, name of collectors, and literature citation will follow currently accepted community standards (Brummit & Powell 1992, Lawrence *et al.* 1968, Stafleu & Cowan 1976-1988, Stafleu & Mennega 1992-2000; see also <http://www.huh.harvard.edu/databases/index.html>).

Ultimately, images will be made available on the Internet via the Harvard University Herbaria speci-

men database system: [http://brimsa.huh.harvard.edu/cms-wb/specimen\\_index.html](http://brimsa.huh.harvard.edu/cms-wb/specimen_index.html)

The following is sample of this database, using *Acer heptalobum* Diels as an example: <http://brimsa.huh.harvard.edu/cms-wb/specimens.jsp?barcode=50431>

Each type will have a unique URL (Uniform Resource Locator) maintained by the Harvard University Herbaria, and mirrored at the University of Costa Rica; other web-based databases can simply establish links to all or a partial set of the types. This approach has several advantages, the main one being that all changes made in the database need only be

made once. Partial sets of the data set, including images, will be made available using inexpensive storage media (CDs) for free to institutions not having the computer infrastructure to view the data and images on the Internet.

#### LITERATURE CITED

- Barthlott, W. 2001. Biodiversity and collections. BIOLOG Status Seminar 2001. Bonn, Germany.
- Brummit, R.K. and C.E. Powell (eds.). 1992. Authors of Plant Names. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Davies, A.M.R., P. Bodensteiner, A. Pillukat and J. Grau. 2002. INFOCOMP – the Compositae Types digital imaging project in Munich. *Sendtnera* 8: 9-20.
- Dressler, R.L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press.
- Field Museum of Natural History. 2003. [http://www.fnmh.org/research\\_collections/botany](http://www.fnmh.org/research_collections/botany) (February).
- Florida Museum of Natural History, University of Florida. 2003. <http://www.flmnh.ufl.edu/natsci/herbarium/types> (February).
- Instituto Nacional de Biodiversidad. 2003. <http://www.inbio.ac.cr/tipos/herbario> (February).
- International Code of Botanical Nomenclature (St. Louis Code). 2000. Regnum Veg. 138. Königstein.
- Lawrence, G.H.M., D.F.G. Buchheim, G.S. Daniels and H. Dolezal (eds.). 1968. *Botanico-Periodico-Huntianum*. Pittsburgh.
- Leiden Nationaal Herbarium. 2003. <http://nhnml.leidenuniv.nl/#types> (february).
- Missouri Botanical Garden. 2003. <http://www.mobot.org> (February).
- Pupulin, F. 2002. Catálogo revisado y actualizado de las Orchidaceae de Costa Rica. *Lankesteriana* 4: 1-88.
- Rochester Institute of Technology. 2000. Procedures and recommendations for photographing and archiving types specimens of the New York Botanical Garden. Prepared by the Biomedical Photographic Communications Department, School of Photographic Art and Sciences.
- Stafleu, F.A. and R.S. Cowan. 1976-1988. *Taxonomic Literature*, 2nd ed. Vol. 1-7: A-Z. Utrecht.
- Stafleu, F.A. and E.A. Mennega. 1992-2000. *Taxonomic Literature*. Supplement 1-6: A-E. Königstein.
- Swedish Musueum of Natural History. 2003a. <http://www.linnaeus.nrm.se/botany> (February).
- Swedish Museum of Natural History. 2003b. <http://www.nrm.se/fbo/hist/swartz/swartz.html.en> (February).

**Franco Pupulin** is a professor of the Universidad de Costa Rica, where he works as a researcher at Jardín Botánico Lankester. He is particularly interested in the systematics and evolution of advanced orchid groups, mainly in the subtribes Oncidiinae and Zygopetalinae. He is also working to several floristic projects in the Mesoamerican region, and is an approved AOS taxonomic authority.

**Gustavo A. Romero-González** is Keeper of the Orchid Herbarium of Oakes Ames and Editor of *Harvard Papers in Botany*, and he currently conducts monographic and floristic work on the Orchidaceae in northern South America as well as research on the biological basis for the long-term management of Neotropical non-timber forest products (including orchids, of course!).

## WHEN IS A SPECIES EXTINCT? QUANTITATIVE INFERENCE OF THREAT AND EXTINCTION FROM HERBARIUM DATA

DAVID L. ROBERTS<sup>1</sup> & GREG J. MCINERNEY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey TW9 3AB, U.K. (E-mail d.roberts@rbgkew.org.uk)

<sup>2</sup>School of Biological Sciences, University of East Anglia, Norwich, Norfolk, NR4 7TJ, U.K.

We are now entering a time of immense environmental upheaval were, increasingly, experts are required to provide conservation assessments. Quantitative assessment of trends in range and abundance is costly, requiring extensive field studies over a long period of time (Burgman *et al.* 2000). Unfortunately, many species are only known through a few 'chance' sightings or a handful of specimens and extinction may be even harder to ascertain (Solow & Roberts, in press).

Organisations such as CITES and the World Conservation Union have considered a species to be extinct when it has not been observed for 50 years (Reed 1996). As a criterion, its usefulness was dependent on the characteristics of the species in question. For example, not observing a species of insect, with a short generation time, would clearly not be comparable with not seeing a turtle for 50 years, which spends extended periods at sea. Revision of the categories resulted in species being classified 'extinct' when exhaustive surveys failed to produce any observations over a time period appropriate to the species' life history and throughout its known historical range (IUCN 2001).

**Quantitative inference of threat and extinction.** Using a record of sightings, Solow (1993a, 1993b) demonstrated two methods to test the hypothesis of extinction on the basis of the period without sighting and the previous sighting record. The indices produce probabilistic inference of extinction in the absence of biological information (Solow & Helser 2000), as little is known of so many species, and extinctions are rarely observed directly (Solow & Helser 2000, Solow & Roberts, in press). Similar methods have been presented which also look at the behaviour of

the most recent sightings in the record (Solow & Roberts, in press) and can reduce the effect of periods where little collection effort has occurred (McCarthy 1998). Examination of these indices has been carried out with sighting data recorded for species of varying taxa (see Burgman 1995, McCarthy 1998, Burgman *et al.* 2000, Roberts & Wilcock, in press). Evaluation against recognised conservation classifications suggested that the indices can infer threat and aid in the prioritisation of species for conservation attention (McCarthy 1998). Specimen-based records provide information on the distribution of taxa through time and space (Ponder *et al.* 2001), of which there is a wealth held in the taxonomic collections and libraries of herbaria and museums. Methods such as these potentially have wide application as indicators of threat.

Lists of threatened species often form the primary source of information in the allocation of limited resources (Burgman 2002). Here we present a number of quantitative methods for rapidly assessing threat and extinction based on herbarium data.

**Solow Equation.** Using the time of the last sighting ( $t_n$ ) the Solow equation gives the probability that  $n$  observations occurred within the period  $0 \leq t \leq t_n$ , given that sightings are equally likely to occur within the period  $T$  (Solow 1993a) (Fig. 1). Therefore higher probability values ( $>\alpha$ ) infer that extinction has not occurred as the lack of sightings at the end of the record could happen by chance. Low probabilities ( $<\alpha$ ) infer that extinction has occurred as the sightings are unlikely to have occurred in the time period  $0 \leq t \leq t_n$  given the magnitude of  $T$  and/or  $n$ .

$$p = \left( \frac{t_n}{T} \right)^n$$

**Solow Equation for a declining population.** The Solow equation (1993a) is suitable for small populations that are predisposed to rapid extinction, as the sightings are assumed to follow a stationary Poisson process (Solow 1993b). However, in a declining population sightings are less likely to occur towards the end of the period because sightings will reduce as the population declines. Assuming that the sightings follow a Poisson process with decreasing rate function Solow developed the following equation (Solow 1993b).

$$p = F_s(t_n) / F_s(T)$$

where

$$s = \sum_{i=1}^n ti$$

and the function  $F_s(t)$  is given by

$$F_s(t) = 1 - \sum_{i=1}^{[s/t]} (-1)^{i-1} \binom{n}{i} (1 - (it/s))^{n-1}$$

**Solow / Roberts Equation.** The Solow/Roberts non-parametric test (Solow & Roberts, in press) does not require a complete sighting record, as the number of sightings ( $n$ ) is not required for its calculation (Solow & Roberts, in press). Using  $t_n$ ,  $T$  and  $t_{n-1}$  (the second to last sighting) the equation generates the probability that another sighting will occur (Fig. 2). However, the equation for a declining population does not make any assumption that the sightings follow a Poisson process.

$$p = \left( \frac{t_n - t_{n-1}}{T - t_{n-1}} \right)$$

**Collection effort.** Collection effort is clearly not a uniform process and therefore it is important to eliminate inaccuracies arising from trends in collection effort through herbarium practices and access to sites (i.e. wars, CITES and government permits, funding, remote location, etc). Instead of using time as a measure of the period between sightings collec-

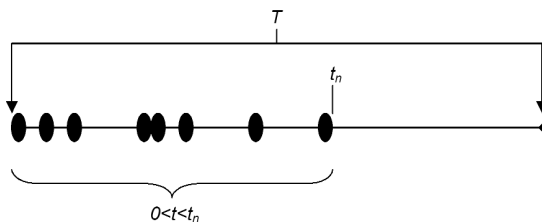


Fig. 1. The Solow equation evaluates the probability that n observations occurred before the last sighting during the period  $T$ .

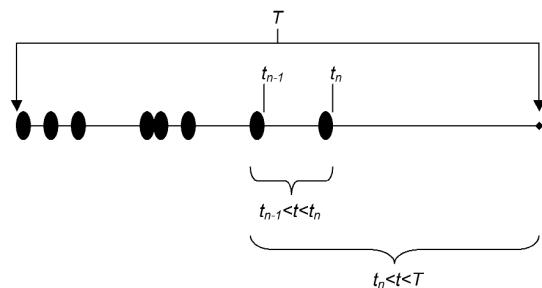


Fig. 2. The probability of another sighting occurring is generated based on the ratio between the periods  $t_{n-1} < t < t_n$  and  $t_n < t < T$ .

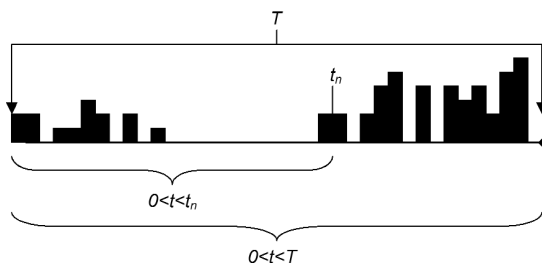


Fig. 3. The Partial Solow equation generates probabilities based on the collection effort producing n sightings given the total effort within the whole period.

tion effort can be used (Fig. 3). McCarthy (1998) modified the Solow equation to incorporate an index of collection effort for each year ( $ei$ ) (Partial Solow equation). Collection effort can be calculated as the proportion of the total species observed in each time unit (McCarthy, pers. comm. 2002), assuming all species have an equal chance of being observed at any time in the locality. If collection effort does not vary over the period (0 to  $T$ ), then the equation reduces to the Solow equation (McCarthy, 1998).

**Partial Solow Equation.**

$$p = \left( \frac{\sum_{i=1}^{t_n} e_i}{\sum_{i=1}^T e_i} \right)^n$$

This method can also be applied to the Solow / Roberts equation.

**Start Dates.** In the case of say annual bird counts, it is possible to select a start date for the period  $T$ , however in many cases this is rarely possible. By using the first sighting as the start date the number of sightings,  $n$ , reduces to  $n-1$ , limiting the number of species with calculable probabilities.

**Inferring decline.** Increasing magnitude of  $p$ -values implies decreasing levels of threat (McCarthy 1998). If species were collected randomly and were not in decline, then one would expect that the distribution would be uniform, for example species that are presumed extinct would have the lowest  $p$ -values (McCarthy 1998). If 50 species were examined, by chance we would expect 5 species to have  $p$ -values below 0.1, 10 species below 0.2 and so on.

**Testing the tests.** Error rates can be calculated as the actual proportion of extant species inferred as extinct ( $p < \alpha$ ) for all sighting records and indices (McCarthy 1998).

Power of the indices is calculated as the proportion of species correctly identified as extinct (McCarthy 1998).

IUCN categories of threat, where available, can be used as a source of information for the 'true' status of a species by which the equations can be evaluated using the Spearman's rank correlation (McCarthy 1998).

**An illustrated example.** The record of *Aeranthus arachnites* (Thou.) Lindl. from Mauritius, Indian Ocean, contains  $n = 5$  collections during the 20th century 1960, 1962, 1964, 1968 and 1973. If the beginning of the observation period is taken to be the time of the first collection in 1960,  $n$  is reduced

by 1, and  $T = 40$  (i.e. from 1960 to 2000), the  $p$ -value based on the assumption of a constant collecting rate is 0.012. The smallness of this  $p$ -value is due to the apparent decline in the collecting rate over the observation period. If, instead, we assume that the collecting rate declines exponentially, then the  $p$ -value is 0.306, reflecting the expected increasing difficulty in locating the species. While the collection record gives some evidence of such a decline, it is not possible to determine from so small a record whether the exponential model is reasonable. However, if we make no assumption of the rate of decline then  $p = 0.15625$ . This would therefore suggest that the species is still present on Mauritius. Based on 16 months of field work in Mauritius, this species still exists.

## LITERATURE CITED

- Burgman, M.A., R.C. Grimson and S. Ferson. 1995. Inferring threat from scientific collections. *Conserv. Biol.* 9: 923-928.
- Burgman, M.A. 2002. Turner Review No. 5: Are listed threatened plant species actually at risk? *Austral. J. Bot.* 50: 1-13.
- Burgman, M.A., B.R. Maslin, D. Andrewartha, M.R. Keatley, C. Boek and M. McCarthy. 2000. Inferring threat from scientific collections: power tests and an application to Western Australian *Acacia* species. In S. Ferson and M.A. Burgman (eds.), *Quantitative Methods for Conservation Biology*. Springer-Verlag New York, Inc. p. 7-26.
- IUCN 2001. IUCN Red List Categories: Version 3.1. Prepared by the IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- McCarthy, M.A. 1998. Identifying declining and threatened species with museum data. *Biol. Conserv.* 83: 9-17.
- Ponder, W.F., G.A. Carter, P. Flemons and R.R. Chapman. 2001. Evaluation of museum collection data for use in biodiversity assessment. *Conserv. Biol.* 15: 648-657.
- Reed, J.M. 1996. Using statistical probability to increase confidence of inferring species extinction. *Conserv. Biol.* 10: 1283-1285.
- Roberts, D.L. and C.C. Wilcock. in press. Fragmentation of tropical rainforests and its effect on orchid survival. *Proceedings of the 17th World Orchid Conference*.
- Solow, A.R. 1993a. Inferring extinction from sighting data. *Ecology* 74: 962-964.
- Solow, A.R. 1993b. Inferring extinction in a declining population. *J. Mathem. Biol.* 32: 79-82.



- Solow, A.R. and T. Helser. 2000. Detecting extinction in sighting data. *In* S. Ferson and M.A. Burgman (eds.), *Quantitative Methods for Conservation Biology*. Springer-Verlag New York, Inc. p. 1-6.
- Solow, A. and D.L. Roberts. in press. A nonparametric test for extinction based on a sighting record. *Ecology*.

**David Roberts** was educated at the Universities of Aberystwyth, Wales and Aberdeen, Scotland, where he received his doctoral on the "Reproductive Biology and Conservation of the Orchids of Mauritius". He has had field experience in Mauritius, La Reunion, Rodrigues, Borneo, and the Chatham Islands. Currently David is an orchid taxonomist at the Royal Botanic Gardens, Kew, where he has a particular interest in the orchids of tropical Africa, islands of the western Indian Ocean and alternative uses of herbarium data particularly relating to conservation biology.

## EL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN DEL JARDÍN BOTÁNICO LANKESTER

WALTER SCHUG

Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica  
Dirección de correo: Apdo. 922-1011 Y, San José, Costa Rica, A.C. walterschug@racsa.co.cr

Obtener informaciones en un país neotropical como Costa Rica puede resultar difícil. Es por esto que se vio la necesidad de tener la mayor cantidad de información en un solo lugar.

Así, hace 18 meses se comenzó a desarrollar este proyecto para reunir todas esas informaciones en una sola base de datos. La distribución de la información será por medio de Internet; así los interesados podrán acceder la información ofrecida a cualquier hora del día, en cualquier lugar del mundo.

Desde un principio la construcción de la base de datos fue planificada para varios idiomas. Actualmente la base está disponible en inglés, alemán y español como lenguajes del manejo del sistema, pero de igual manera se pueden integrar a ella otros idiomas.

Se presentan varios libros y revistas de consulta que no están traducidos a los tres idiomas, sino solamente en su versión original. Todos los datos en la base están conectados entre sí, para facilitar la respuesta de preguntas, preparación de informes o listados que sean necesarios para un determinado uso.

La consistencia de esta base de datos está dada por la forma de almacenamiento de los datos, lo que es muy importante para su mantenimiento y la obtención de resultados precisos.

**Informaciones técnicas del proyecto.** Desde un inicio, se mantuvo la idea de usar programas libres (Free/Open Software), además que fuera un sistema cliente/servidor para múltiples usuarios y funcionando por Internet. Por tanto, se eligieron productos para:

1. La base de datos (*Database Backend*),
2. La presentación (*Presentation layer*),
3. El lenguaje de programación (*Programming Language*).

1. En este momento hay cuatro bases de datos libres para el uso profesional (en orden alfabético): Firebird, MySQL, PostgreSQL y SAP DB. Todos estos programas están desde hace años en el mercado (Firebird antes como producto comercial), son estables y se usan en muchos proyectos en todo el mundo. Por razones que aquí se explican brevemente se decidió usar la base de datos MySQL. Es rápida, tiene puertos (*Ports*) para muchos sistemas operativos (*Operating Systems*), y un gran número de API's (*Application Programming Interfaces*).

2. La presentación debe ser por medio de un Browser (e.g. Internet Explorer®), que tiene muchas ventajas: no hay que instalar programas adicionales en la computadora cliente (*Client PC*), el uso del Centro de Documentación es accesible vía Internet y no hay que aprender a usar nuevos programas. Para obtener las ventajas de una presentación por este medio se necesita, además de los tres productos de la lista de arriba, un Servidor de Internet. Para este fin se eligió el Apache Web Server, también Free/Open Software.

3. Después de decidir sobre los puntos uno y dos, se eligió el lenguaje PHP, que tiene acceso nativo a la base de datos y está muy bien integrado en el Servidor Apache.

La combinación de los programas para el Servidor elegido permite usar una gran variedad de Sistemas Operativos como Windows NT, 2000, XP, Linux (todas las distribuciones grandes), Unix (IBM, HP, Sun, Silicon Graphics), BSD's (Free-, Open-, y Net). El cliente puede ser cualquier computadora que tiene un browser que soporta HTML 4.01(XHTML 1.1) y CSS 2.0.

Hasta marzo 2003, se conocen y trabajan las si-

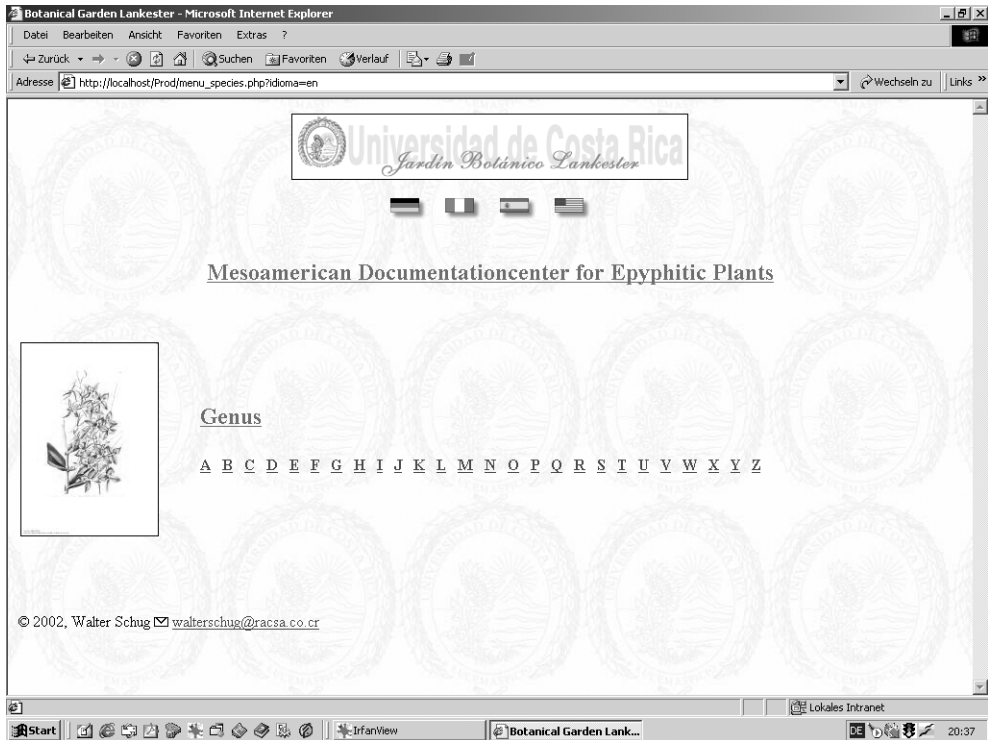


Figura 1. Pantallas para la selección de géneros en el programa.

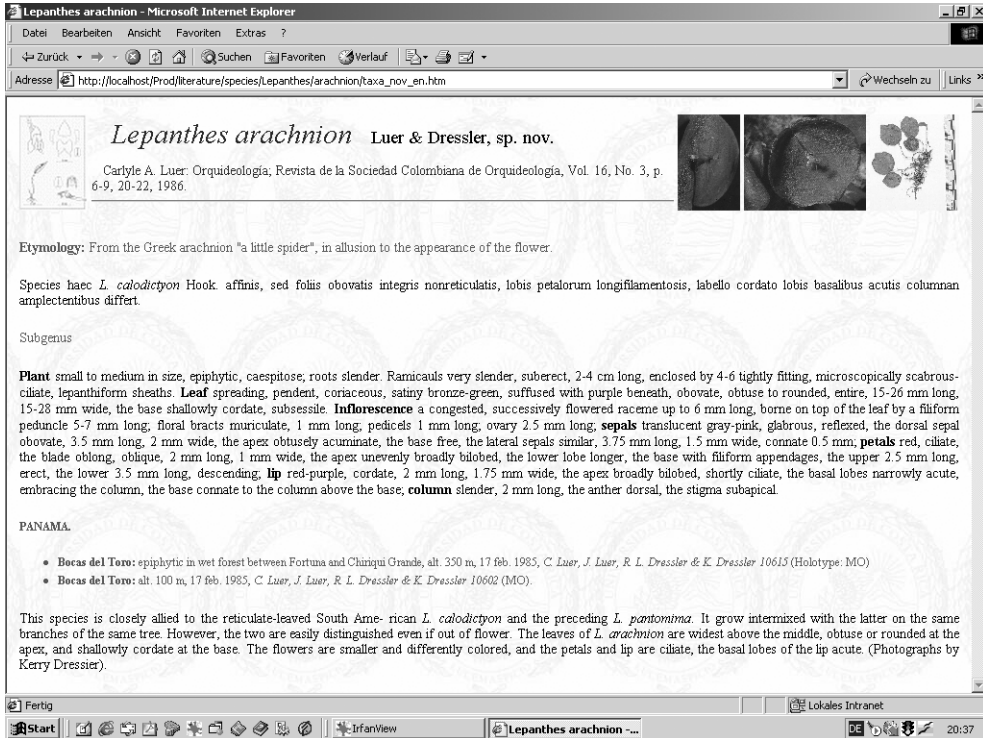


Figura 2. Pantalla principal de una especie, *Lepanthes arachnion* Luer & Dressler.

güentes versiones: MySQL 4.0.12, Apache 2.0.44, PHP 4.3.0 bajo Windows 2000 Professional Service Pack 3.

**Partes importantes de la base de datos.**

a. LITERATURA – en varios niveles: serie, unidad, artículo, parte de artículos. Como ejemplo: para nivel uno será la revista Lankesteriana en general, para nivel dos Lankesteriana No. 7, para nivel tres el artículo específico de Lankesteriana No.7, para nivel cuatro la descripción de una especie en el artículo. Todas las partes deberían encontrarse como Archivos PDF en la base, para leerlos online o con la opción de bajar el archivo a la máquina local para tener la información a mano. Hay una página inicial para el nivel dos que es el libro/revista, con un resumen del libro/revista, el número de páginas, los autores, la fecha de la publicación, la tabla de contenidos y la posibilidad de leer/bajar el libro completo o en partes (artículos, nuevas descripciones de plantas). Se puede buscar información de literatura por autores, nombres de

libros/revistas, especies/géneros publicados en el libro o revista o cualquier otro dato guardado en la base.

- b. AUTORES – todas las informaciones sobre autores, como sus nombres, apellidos, abreviatura del nombre (según IPNI), su fecha de nacimiento, fecha de muerte, etc.
- c. CUADERNOS DE CAMPO – Hay posibilidad de manejar muchos datos, incluyendo la información sobre material en herbarios (tipos, fotos, dibujos, nombre del herbario, número del espécimen, etc.) Las informaciones son accesibles horizontal y verticalmente. Ejemplo: Buscar todos los números de Franco Pupulin relacionados con plantas del género *Lepanthes* (= vertical). La versión horizontal será: mostrar todos los números de los cuadernos de campo de todas las personas relacionadas con plantas del género *Lepanthes*. Será posible también mostrar algo como todas las colectas de Franco Pupulin entre 1500 y 1650 m entre 1.1.1995 y 31.12.1997. Esto demuestra la flexibilidad del sistema.

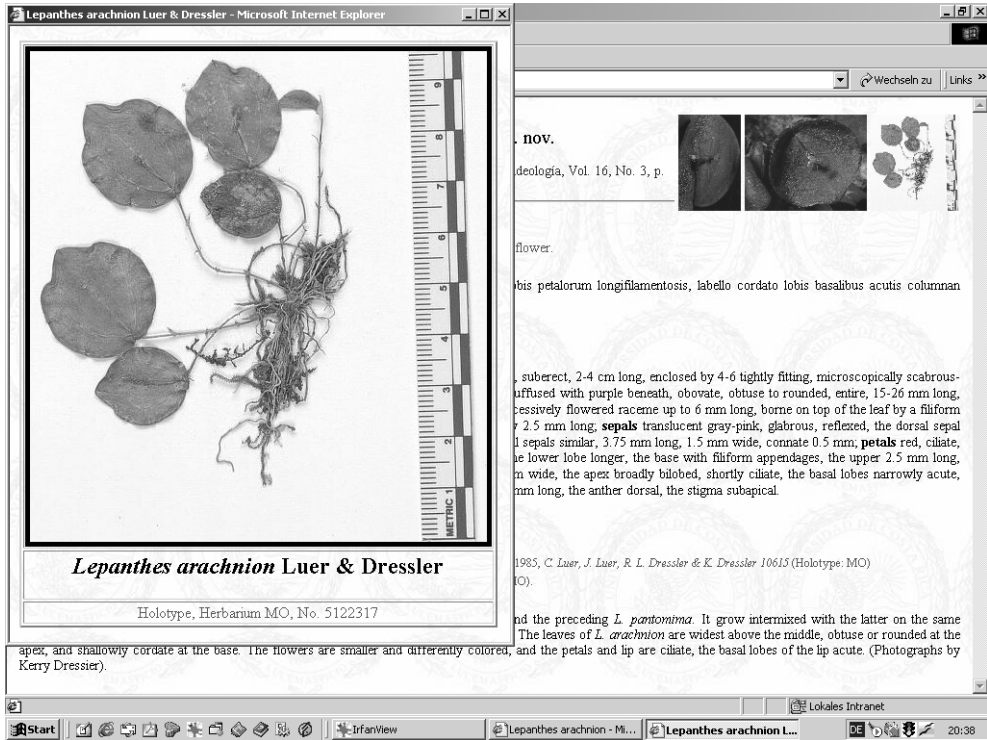


Figura 3. Ventana ampliada del tipo de *Lepanthes arachnion* Luer & Dressler.

- d. MANEJO DE SINÓNIMOS.
- e. TIPOS – página especial para los tipos nomenclatoriales, con la publicación de la descripción original (*protologo*), fotos del tipo, fotos de la lámina del herbario, nombre de los herbarios con material, referencia a los cuadernos de campo con datos de la recolecta, nuevas combinaciones relativas al taxon, etc.
- f. CAMBIOS TAXONÓMICOS – lista de los cambios taxonómicos de una especie (historia).
- g. ACCESO A OTRAS BASES DE DATOS – datos de otras bases de datos (IPNI, Index Herbarium, etc.).
- h. GEOGRAFÍA – informaciones geográficas, países, provincias, cantones, distritos con datos de alturas, zonas de vida, etc. Así, en el futuro existe la opción de insertar los datos de la base automáticamente en mapas.
- h. TAXA – es el elemento central de la base. Todos los

elementos mencionados arriba y muchos más están conectados con los taxa. Los taxa se guardan según la nomenclatura botánica, desde la familia hasta la subforma implementada. Cada nombre puede ser acompañado por su etimología y un texto breve para comentarios. Luego se encuentra el estado de los taxa, la lista de sinónimo(s), su basiónimo, *nom. illeg.* etc., con la referencia bibliográfica relativa a la publicación de nuevas combinaciones. Todos los taxa están relacionados con la literatura original, el tipo de publicación, su descripción, el sistema de clasificación, etc. La figura 1 muestra cómo seleccionar géneros en el programa, la figura 2 muestra la pantalla principal de una especie, en este caso *Lepanthes arachnion* Luer & Dressler. En la figura 3 se ve la ventana del tipo de *Lepanthes arachnion* ampliada. Cada foto en las páginas se puede ampliar con un simple 'clik' en la fotografía.

**Walter Schug** nació en Alemania en 1966. Es Bachiller en Ciencias, graduado en la Universidad de Ciencias Aplicadas de Karlsruhe, donde estudió computación y economía. Desde el 2000 vive en Costa Rica.

## EL GÉNERO *EPIDENDRUM* EN SAN PEDRO DE CARPISH, HUÁNUCO, PERÚ

DELSY M. TRUJILLO CHÁVEZ

Investigadora Asociada del Museo de Historia Natural - Universidad Ricardo Palma (URP)  
Jirón Ricardo Flores # 355 – A. La Victoria, Lima. Perú. [tdelsy@hotmail.com](mailto:tdelsy@hotmail.com), [delsyt@latinmail.com](mailto:delsyt@latinmail.com)

Entre las principales publicaciones realizadas sobre la familia Orchidaceae en el Perú, sobresalen aquéllas publicadas por los investigadores Charles Schweinfurth y David Bennett Jr. y coautores (Bennett & Christenson 1993, 1995, 1998, 2001, Dodson & Bennett 1989, Schweinfurth 1959, 1970). Según estos estudios, en el departamento de Huánuco se han registrado 83 especies del género *Epidendrum*, de las cuales el 24% (20 especies) provinieron de colectas realizadas en la zona conocida como Carpish, incluyendo aquéllas que tomaron como punto de referencia esta zona.

La zona conocida como Carpish, políticamente se encuentra ubicada en la provincia y departamento de Huánuco y comprende las localidades denominadas Carpish de Mayobamba y San Pedro de Carpish. Esta última se localiza entre los kilómetros 452 y 464 de la carretera Huánuco-Tingo María y según la clasificación de zonas de vida de Holdridge, presenta las características correspondientes al bosque pluvial-Montano Bajo Tropical (bp-MBT), ubicándose altitudinalmente entre 2100 y 3014 m.s.n.m.

El presente trabajo pretende verificar la presencia de las especies de la familia Orchidaceae, entre ellas las del género *Epidendrum*, previamente colectadas y descritas en la localidad de San Pedro de Carpish, debido a que en los últimos cinco años esta localidad viene siendo afectada por la deforestación producto de la intensificación y expansión de las actividades agrícolas y la extracción de plantas para el comercio ilegal, el cual se ha incrementado significativamente. Asimismo, permitirá realizar una colecta de manera más exhaustiva, que genere mayor información de las especies presentes en esta zona. Según lo observado en los trabajos anteriormente citados, por lo general las muestras han sido colectadas en las márgenes de la

carretera y se han efectuado en forma muy esporádica, debiéndose principalmente a la topografía accidentada que es característica de esta zona y a la presencia, casi perenne, de densas neblinas, por lo cual es considerado según el Mapa Forestal del Perú, como un Bosque de Neblina.

El presente estudio busca cubrir la totalidad del área de la localidad, por lo que desde el mes de agosto del 2002 se vienen realizando actividades que contemplan salidas de campo mensuales para efectuar las colectas en tres zonas principales reconocidas por los pobladores como: la “Cumbre de Carpish”, la “Ruta Paty” (zona de mayor deforestación) y el límite con “Mirador”.

Producto de estos trabajos, hasta la fecha se han identificado en la localidad de San Pedro de Carpish siete especies correspondientes al 35% del total de especies anteriormente descritas por C. Schweinfurth y D. Bennett, las cuales corresponden a: *Epidendrum macrostachyum* Lindl., *Epidendrum mesomicon* Lindl., *Epidendrum miradoranum* Dodson & Bennett., *Epidendrum nocturnum* Jacq., *Epidendrum excisum* Lindl., *Epidendrum funkii* Rchb.f. y *Epidendrum weberbauerianum* Kraenzl.; y tres especies descritas previamente, según los mismos autores, en otros departamentos del Perú, pero no en Huánuco, siendo éstas: *Epidendrum odontospathum* Rchb.f., *Epidendrum platyoon* Schltr. y *Epidendrum pleurobotrys* Schltr., faltando aún por identificar algunas muestras.

### LITERATURA CITADA

- Bennett, D.E., Jr. & E.A. Christenson. 1993. Icones Orchidacearum Peruvianum. Part 1. pl. 040-055.  
Bennett, D.E., Jr. & E.A. Christenson. 1995. Icones Orchidacearum Peruvianum. Part. 2. pl. 238-254.

- Bennett, D.E., Jr. and E.A. Christenson. 1998. Icones Orchidacearum Peruvianum. Part 3. pl. 444-474.
- Bennett, D.E., Jr. and E.A. Christenson. 2001. Icones Orchidacearum Peruvianum. Part 4. pl. 633-658.
- Dodson, C.H. & D.E. Bennett, Jr. 1989. Orchids of Peru. Icones Plantarum Tropicarum. Serie II, Fasc. 1: pl. 56-72.
- Schweinfurth, C. 1959. Orchids of Peru. Fieldiana, Bot. 30 (2): 390-531.
- Schweinfurth, C. 1970. First Supplement to the Orchids of Peru. Fieldiana, Bot. 33: 33-46.

**Delsy Mariela Trujillo Chávez** es Licenciada en Biología, graduada de la Universidad Ricardo Palma, y posee una Maestría en Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Es Investigadora asociada del Museo de Historia Natural y colaboradora del Instituto de Etnobiología de la Universidad Ricardo Palma. Actualmente se encuentra realizando el Inventario de Orquídeas de la Localidad de San Pedro de Carpish en el Departamento de Huánuco.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

*Sesión / Session*

**AVANCES EN FILOGENIA DE ORQUÍDEAS**  
***ADVANCES IN ORCHID PHYLOGENY***



## SISTEMÁTICA, FILOGENIA Y BIOGEOGRAFÍA DE *MYRMECOPHILA* (ORCHIDACEAE)

GERMÁN CARNEVALI<sup>1</sup>, JOSÉ LUIS TAPIA<sup>1</sup>, NORRIS H. WILLIAMS<sup>2</sup> & W. MARK WHITTEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Herbario CICY, Centro de Investigación Científica de Yucatan, México

<sup>2</sup> Florida Museum of Natural History, Gainesville FL 32611-7800. U.S.A.

El género *Myrmecophila* Rolfe ha sido tradicionalmente incluido dentro de un concepto amplio de *Schomburgkia* Lindl. Sin embargo, recientes reconstrucciones filogenéticas basadas en secuencias de ADN indican que el grupo es basal dentro del complejo de taxa alrededor de *Cattleya* Lindl. *s.l.* y sólo lejanamente relacionado con las verdaderas *Schomburgkia* (las que están relacionadas con *Laelia* Lindl., un género restringido a elevaciones por encima de 1000 m en México central). Las “semejanzas” entre *Schomburgkia s.s.* y *Myrmecophila* (e.g., los miembros del perianto ondulados, las inflorescencias con largos pedúnculos y los ocho polinios) son el resultado de convergencia o de retención de caracteres plesiomórficos. La distinción entre ambos grupos ha sido reconocida desde hace mucho tiempo, pero a nivel seccional (e.g., Schlechter 1913, Foldats 1979). En 1917, Rolfe por primera vez sugiere tratar el grupo como un género aparte pero su propuesta no fue seguida por los autores posteriores (e.g., Williams 1946, Ames & Correll 1953). Más recientemente, Kennedy (1979) hizo una propuesta convincente para la resurrección del género, que ha sido aceptada por la mayoría de los orquideólogos que trabajan en el área de distribución del grupo (e.g. Dressler 1993, McLeish *et al.* 1995, Espejo-Serna & López-Ferrari 1997, Carnevali, Tapia-Muñoz & Ramírez 2001, Carnevali *et al.* 2001).

Un análisis cladístico de todas las Laeliinae usando secuencias de ADN (van den Berg *et al.* 2000), identifica claramente a *Myrmecophila* como el grupo hermano del clado que incluye a los géneros del antiguamente llamado complejo *Cattleya*. En otras palabras, se trata de un grupo basal que hizo divergencia temprana de los ancestros que originaron a los géneros *Brassavola* R.Br., *Rhyncholaelia* Schltr., *Cattleya*, *Sophranitis* Lindl. y los miembros

brasileños del género *Laelia* tal como se los ha circunscrito hasta hace poco. Por ello, no está relacionado con las verdaderas Laelias, tipificadas por *Laelia grandiflora* (Llave & Lex.) Lindl. [= *Laelia speciosa* (H.B.K.) Schltr.]) ni con *Schomburgkia* (tipificadas por *Schomburgkia crispa* Lindl.), grupos que no pertenecen a este clado de taxa alrededor de *Cattleya*.

*Myrmecophila* es fácilmente reconocible entre otras Laeliinae por sus plantas relativamente grandes con pseudobulbos homoblásticos (de varios entrenudos no diferenciados), huecos, portando (1)-2-3(-4) hojas en los entrenudos apicales y con inflorescencias largamente pedunculadas con flores vistosas que típicamente poseen sépalos y pétalos ondulados. Las plantas, usualmente epífitas (raramente litófitas o subterrestres), viven siempre asociadas con hormigas que forman colonias que habitan el interior de los pseudobulbos huecos. Se sabe que estas hormigas protegen tanto a la orquídea como a los forofitos de la herbivoría (Dejean *et al.* 1995).

Un estudio sistemático del género permite reconocer ocho especies y un híbrido natural. Las especies y sus distribuciones se presentan en la Tabla 1. Las especies se distribuyen naturalmente desde la costa caribe de Venezuela, donde crece una especie endémica, *M. humboldtii*, hasta el sureste de México donde se encuentra un centro de diversidad. Hay especies disyuntas en los estados mexicanos del Pacífico (Michoacán, Colima, Jalisco y Nayarit) donde crece *Myrmecophila galeottiana* y las vertientes pacíficas en Nicaragua, Honduras y El Salvador, donde crece la muy distintiva especie *Myrmecophila wendlandii*. Hay una especie disyunta en las Islas Caimán, *M. thompsoniana*. Por último, hemos reconocido un híbrido natural entre *Myrmecophila christinae* y *M. brysiana*, *M. x lagu-*

Tabla 1. Especies de *Myrmecophila* reconocidas en este estudio y sus distribuciones. Abreviaciones. B = Belice; CR = Costa Rica; ES = El Salvador; G = Guatemala; H = Honduras; N = Nicaragua; M = México; g = Costa del Golfo de México, p = costa del Pacífico.

ESPECIES	DISTRIBUCIÓN
<i>M. brysiانا</i> (Lem.) G.C. Kenn.	CR, H, N, G, B, M (g)
<i>M. christinae</i> Carnevali & Gómez-Juárez	G, B, M (g)
<i>M. galeottiana</i> (A. Rich.) Rolfe	M (p)
<i>M. grandiflora</i> Carnevali, Tapia-Muñoz & I. Ramírez	M (g)
<i>M. humboldtii</i> (Rchb. f.) Rolfe	Venezuela
<i>M. thompsoniana</i> (Rchb. f.) Rolfe	Islas Caimán
<i>M. tibicinis</i> (Batem.) Rolfe	CR, H, N, G, B, M (g)
<i>M. wendlandii</i> (Rchb. f.) G.C. Kenn.	N, H, G, ES
<i>M. x lagunae-guerrerae</i> Carnevali, Ibarra.González & Tapia-Muñoz	M (g)

*nae-guerrerae*. Las especies del género son fácilmente reconocibles por combinaciones de caracteres florales y vegetativos y tienen distribuciones geográficas y ecológicas coherentes. Los patrones de coloración floral resultaron críticos en la delimitación específica, así como la morfología labelar y la estructura de la inflorescencia. Aún quedan problemas por ser esclarecidos en relación a cuántos taxa se encuentran dentro de la circunscripción actual de *M. brysiانا* y si se deben reconocer taxa subespecíficos en las *Myrmecophilas* de las Islas Caimán (Dressler & Carnevali 2000).

Una vez respondida la pregunta de cuántas especies constituyen el género y cuáles son sus límites, nos planteamos preguntas sobre las relaciones entre las especies. Por otra parte, la evolución de caracteres morfológicos selectos resulta de interés (número de entrenudos de los pseudobulbos, ramificación de la inflorescencias, textura floral, así como las distribuciones de los diversos grupos).

Para ello, seleccionamos dos taxa como grupos externos, *Encyclia cordigera* (H.B.K.) Dressler y *Schomburgkia splendida* Schltr. y como grupo interno incluimos todos los taxa descritos del género (con la excepción del híbrido natural). Los árboles obtenidos fueron enraizados con *E. cordigera* como grupo más externo.

Un total de 46 caracteres morfológicos, ocho caracteres de anatomía foliar y secuencias de ADN (ITS 1 y 2) fueron usados en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas.

Se realizaron análisis separados de los caracteres morfológicos y de las secuencias de ADN. Luego, un análisis combinado fue llevado a cabo con el uso de los programas Winclada y Nona. Para la identificación de las topologías más parsimoniosas se utilizó el algoritmo del Ratchet con 200 iteraciones y 5 caracteres muestreados en cada iteración. Para evaluar el apoyo estadístico de los clados reconocidos, se realizó un análisis de Jackknife con 1000 réplicas. En todos los análisis, *Myrmecophila* resultó ser un grupo monofilético. Las topologías de los árboles de consenso de todos los análisis (morfología, ITS y combinado) resultaron consistentemente similares. Luego del reconocimiento y descarte de los caracteres no informativos filogenéticamente, el análisis combinado identificó un solo árbol más parsimonioso (L= 97, CI = 71, RI = 73; Figura 1). Veinticuatro caracteres moleculares resultaron ser informativos, 10 de ellos sinapomórficos para el género *Myrmecophila*.

El único árbol obtenido (Figura 1) identifica a *Myrmecophila humboldtii* como el miembro más basal del género. Esta especie es el grupo hermano de dos clados, uno compuesto de dos especies (*M. galeottiana* y *M. wendlandii*), aquí llamado "Clado Pacífico" y el otro que incluye al resto del género, aquí llamado el "Clado Atlántico". Dentro del Clado Atlántico, la especie de las Islas Caimán es el taxón hermano del resto. Dentro de este Clado Atlántico, *M. christinae* y *M. grandiflora* son especies hermanas. Entre las sinapomorfias morfológicas de *Myrmecophila* destacan los pseudobulbos homoblásticos, huecos.

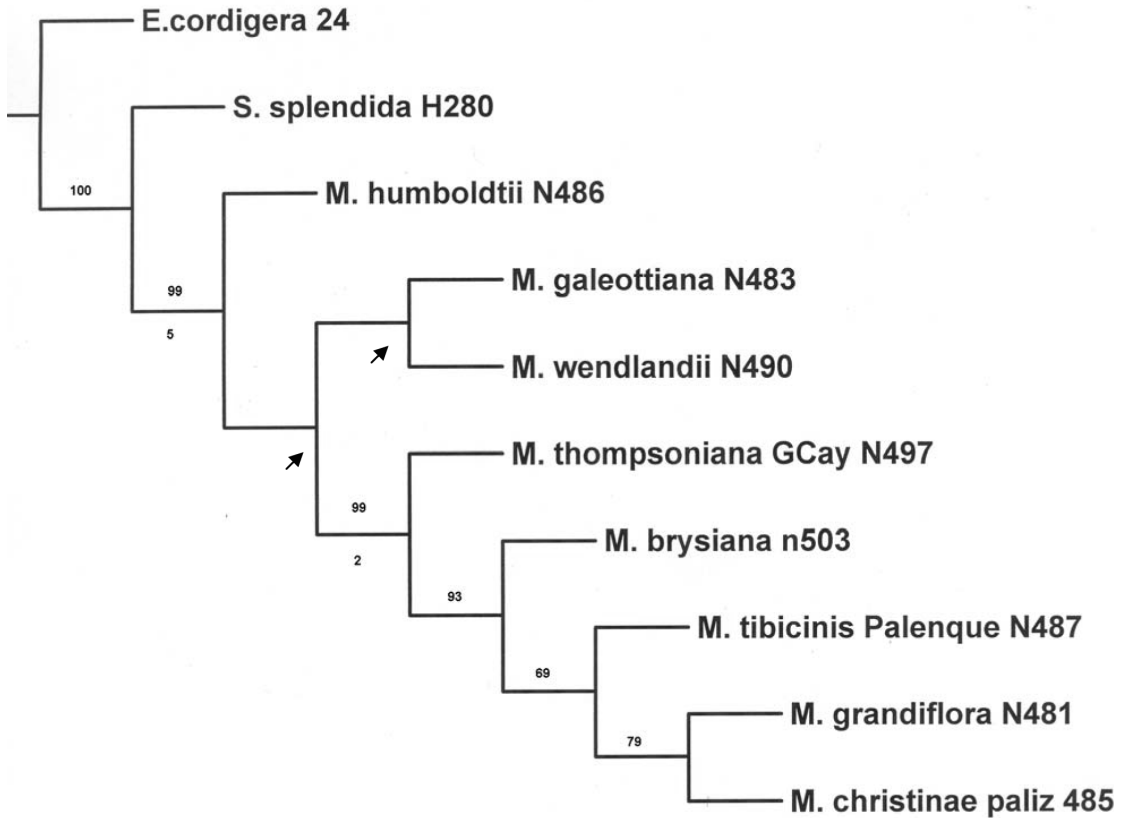


Figura 1. Único árbol más parsimonioso hallado en el análisis combinado (morfología, anatomía e ITS 1 & 2). Números arriba de las ramas representan valores de Jackknife y los números por debajo indican los valores de apoyo en el análisis de Bremer. Nudos con flechas indican clados que colapsan en el árbol de Jackknife.

El Clado Pacífico tiene como sinapomorfias que lo apoyan la floración después de la estación lluviosa y la columna no ensanchada hacia el ápice. El Clado Atlántico está apoyado por las siguientes sinapomorfias: perianto glabro, nectario globular y pseudobulbos maduros de 5-7 entrenudos. Por otro lado, el clado formado por *M. christinae* (distribuida en Belice, Petén de Guatemala y Península de Yucatán) y *M. grandiflora* (México vertiente del Golfo en Oaxaca, Veracruz, Tamaulipas y Querétaro), un par de especies vicariantes, está apoyado por las inflorescencias usualmente simples, el labelo muy abierto en posición natural, las anteras mucho más anchas que largas y la posesión de un reborde conspicuo en el ápice de las anteras.

La topología del cladograma obtenido sugiere que el género pudo haber tenido una distribución más amplia que se extendía desde el norte de Sur

América, toda Centro América (ambas costas) y las Antillas y que hoy en día está representado por especies relictas en la región Pacífica, en las Antillas y en Venezuela. El género parece estar sufriendo una evolución activa en la Costa del Golfo de México y en el Caribe, donde crecen las cuatro especies más derivadas (el llamado complejo de *Myrmecophila tibicinis*), todas cercanamente relacionadas y con distribuciones vicariantes o especializaciones ecológicas cuando coexisten parapatricamente.

LITERATURA CITADA

Ames, O. & D.S. Correll. 1953. *Laelia*. In Orchids of Guatemala and Belize. Dover Publications, New York. p. 414-415.  
 Carnevali, G., J.L. Tapia-Muñoz, R. Jiménez-Machorro, L. Sánchez-Saldaña, L. Ibarra-González, I. M. Ramírez & M P. Gómez-Juárez. 2001. Notes on the flora of the

- Yucatan Peninsula II: A synopsis of the orchid flora of the Mexican Yucatán Peninsula and a tentative checklist of the Orchidaceae of the Yucatán Peninsula Biotic Province. *Harvard Pap. Bot.* 5: 383-466.
- Carnevali, G., J.L. Tapia-Muñoz, & I. M. Ramírez, 2001. The status of *Schomburgkia tibicinis* var. *grandiflora* Lindl. (Orchidaceae) and a key to the Mexican species of *Myrmecophila*. *Harvard Pap. Bot.* 6: 245-251
- Dejean, A., I. Olmsted & R. R. Snelling. 1995. Tree-epiphyte-ant relationships in the low inundated forests of Sian Ka'an Biosphere Reserve, Quintana Roo, Mexico. *Biotropica* 27(1): 57-70
- Dressler, R.L. 1993. *Field Guide to the Orchids of Costa Rica and Panama*. Cornell University Press, Ithaca & Londres.
- Dressler, R.L. & G. Carnevali. 2000. *Myrmecophila thompsoniana*, the Wild Banana Orchid of the Cayman Islands. *Orchid Digest* 64(1): 25-30.
- Espejo-Serna, A. & A.R. López-Ferrari. 1997. Orchidaceae II. Part 8 of Las Monocotiledóneas Mexicanas: Una Sinopsis Florística. Consejo Nacional de la Flora de México, México, D. F.
- Foldats, E. 1970. *Schomburgkia* Lindley. In *Flora de Venezuela* 15(3), Orchidaceae. Instituto Botánico, Caracas, Venezuela. pp. 455-468.
- Kennedy, G.C. 1979. The genera *Schomburgkia* and *Myrmecophila*. *Orch. Dig.* 43(6): 205-211.
- McLeish, I., N.R. Pearce & B. R. Adams. 1995. *Native Orchids of Belize*. Balkema, Rotterdam, Netherlands.
- Rolfe, R.A. 1917. *Schomburgkia superbiens* Lindl. *Orch. Rev.* 25: 49. 1917.
- Schlechter, R. 1913. Die Gattung *Schomburgkia* Lindl. *Orchis* 7: 38--43.
- van den Berg, C., W.E. Higgins, R.L. Dressler, W.M. Whitten, M.A. Soto Arenas, A. Culham & M. W. Chase. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Lindleyana* 15: 96-114.
- Williams, L.O. 1946. The validity of the genus *Schomburgkia*. *Darwiniana* 5: 74-77.

**Germán Carnevali** obtuvo su licenciatura en biología en la Universidad Central de Venezuela; Maestría y Doctorado en la Universidad de Missouri-St. Louis, asociado con el Missouri Botanical Garden. Sus intereses son la sistemática y filogenia de varios grupos de Orchidaceae Neotropicales, principalmente los géneros *Myrmecophila*, *Schomburgkia*, *Encyclia*, *Lophiaris*, *Cohniella* y la subtribu Maxillariinae en general. Simultáneamente, tiene intereses en la florística de las Orchidaceae de la Península de Yucatán, América Central, las Guayanas, la Amazonía y Venezuela.

**José Luis Tapia Muñoz** obtuvo su licenciatura en la Universidad Veracruzana (Xalapa, Veracruz, México). Desde 1998 ha trabajado en el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, donde colabora con las investigaciones de Germán Carnevali. Sus intereses son la florística de la Península de Yucatán y la sistemática de varias familias, especialmente Convolvulaceae, Orchidaceae y Asteraceae. Trabajando con las Orchidaceae, sus intereses primordiales son el género *Myrmecophila*, el complejo *Trichocentrum-Lophiaris-Cohniella* y las Orchidaceae de la Provincia Biótica Península de Yucatán.

**Norris H. Williams**, Ph.D., es Curador de Plantas Vasculares en la Universidad de Florida, Herbario del Museo de Historia Natural de Florida, y ha trabajado en aromas florales, biología de la polinización, y en la sistemática y evolución de las orquídeas. En la actualidad dedica la mayoría de su tiempo al estudio de la sistemática molecular de las Orchidaceae neotropicales.

**W. Mark Whitten**, Ph.D., es Senior Biologist en el Herbario de la Universidad de Florida y ha trabajado con fragancias florales y biología de la polinización, así como en sistemática y evolución de las orquídeas. También Whitten está actualmente dedicando sus actividades de investigación al estudio de la sistemática molecular de las orquídeas del Neotrópico.

## ORCHIDS SMARTER THAN SCIENTISTS – AN APPROACH TO ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) TAXONOMY

STIG DALSTRÖM

Research Associate, Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, U.S.A.  
sdalstrom@selby.org

When initiating a project in plant taxonomy it is necessary to carefully examine the type specimen for each taxon that has been described. Just as important, however, is to explore the natural habitats of the plants because that is where the dynamics occur, which is the logical source for the necessary data. It is in nature where we best can develop an understanding of what a “species” really is and its role in the environment. Another fact to remember is that a previously described “species” does not necessarily constitute a good natural species. Specific and generic concepts can differ drastically between scientists even regarding the same group of plants (e.g., Dalström 2001b *versus* Christenson 2002).

It appears generally accepted that the primary basis of evolution in all organisms is mutation. Through minor and frequent mutations an isolated population that does not exchange genetic information with other populations can keep even initially insignificant genetic changes inside their own group. Over many new generations of plants they will eventually have time to amplify the changes and become distinct. Another possible source of new taxa is through natural hybridization where the offspring become so drastically different from the parents that they will not cross-pollinate with any of them. The hybrids therefore “need” to find a new pollinator or develop some other isolating barrier to ensure a separate evolutionary path. It has been possible to identify many natural hybrids in *Odontoglossum* Kunth that were originally described as species by crossing the suspected parent species under artificial conditions (Rolfe 1893). Some species are more promiscuous than others and one of the worst is *Odontoglossum crispum* Lindl. Over one hundred “varieties” [color forms] have been named (Bockemühl 1989), which demonstrates the incredible variability and popularity of this species alone.

Many of the color forms are probably the results of cross-pollination with other species.

I define a species as a group of plants that look alike regarding taxonomically important features and which produce offspring with the same important features as the parents. I distinguish a species by one or more unique important features, or a unique combination of features, which constitutes the species profile. A species profile generally, but not exclusively, consists of features that are associated with the pollination apparatus (column and lip relation in Oncidiinae) while a genus profile can consist of many other features as well, such as vegetative or anatomical differences. A genus is a selected group of species, which share a unique combination of features that distinguish them from plants in other genera. A subtribe is a group of selected genera, which share some unique features, or combination of features that make them different from other subtribes, etc.

I consider the pollination of the flower the most significant part of the speciation process. Therefore, we need to study the design of the pollination apparatus to distinguish the various species. Some visual and obvious characteristics of the flower morphology, such as a larger or smaller callus on the lip, variation in color, etc., are obvious features and may initially seem important. They can also be the result of changes in the environment, however, such as cooler temperatures, brighter light or dryer air, which affect the general health of the plant. Plants in the subtribe Oncidiinae demonstrate a notorious ability to change the flower appearance due to an environmental impact (stress). Naturally, the size and age of a plant also matters. I call this ability a plant’s natural plasticity, which is different from a plant’s natural variability. Compared with humans one could say that

“plasticity” represents our habit of making different faces depending on our mood, as opposed to how different individuals appear in length, nose shape or hair color, regardless of the mood (= variability). In *Odontoglossum* many of the traditional distinguishing features between species are “cosmetic” due to variability and plasticity and do not really tell us much about the species profile. Some species descriptions are also based on cultivated and stressed plants, which can produce flowers with deviating shapes. Obviously, different species of the same genus may also have strikingly different plant habits and anatomy in addition to floral differences. In *Odontoglossum*, however, the species are so vegetatively similar that they look pretty much the same without flowers. They may differ in mature size and shape but a young plant of a large species looks very much like a large plant of a small species.

Most species of *Odontoglossum* were described during the nineteenth century by taxonomists with very little or no natural experience of the plants or their habitats, which led to descriptions based on very limited knowledge. As a metaphor we can use the Andes hidden in mist. As the mist evaporates the individual peaks begin to emerge. This is how orchid species often are perceived, as isolated and distinct entities separated by shape, size or color. As the mist continues to evaporate the peaks connect via intermediate ridges and eventually turn into one continuous mountain range. Orchid species that originally appear distinct often become connected when more plant material is examined from intermediate localities. Many *Odontoglossum* species are not distinct entities but rather belong to a complex of similar taxa. In some cases the members of a complex have satisfactory profiles to justify a specific status. In other cases, they connect with each other by intermediate forms. If the complex is too blurry I prefer to treat the entire complex as a superspecies, which refers to a level slightly “above” a more traditional species concept. A superspecies consists of subspecies, which refers to a level slightly “below” species, and are geographically restricted populations of plants with a shared sub-profile that differs from other subspecies. A subspecies is morphologically relatively consistent within the population and does not generally mix with other sub-

species of the same superspecies. In my vocabulary, the term “variety” refers to individual plants that share some deviating features, such as a lack of pigment, with individual plants in other populations, which has little taxonomic significance.

Traditionally, the flower shape has dominated the basis for Oncidiinae taxonomy. The angle between the column and the lip has played a major role in how we classify plants on a generic level, while features such as plant shape and habit, micro-morphology of the pollinarium and plant anatomy have been largely ignored. Vegetatively different plants have ended up in the same genus because they have flowers with a similar angle between the lip and the column. One of the problems with this approach is that the angle is not a definite feature, but rather a gliding scale from the lip and column being parallel, to 180° apart, or more. Both the lip and the column also show a great diversity and irregularity in shape and size, which makes it difficult to measure the angle in a consistent way. It is actually rather strange that so much attention has been paid to a few floral features when the vegetative parts of the plants can show a great differentiation in shape and habit. On a specific level, however, it seems logical to assume that the most important aspect of a plant’s life is the reproduction phase. Therefore, the pollination strategy and dynamics must be intimately involved with a species evolution and identity. Consequently, the taxonomically important features are those that concern the pollination apparatus (column and lip relation in *Odontoglossum*), which need to be rather stable.

There seem to exist two antagonistic “forces” in nature, which concern the reproduction of flowering plants. One force encourages morphological stability to enable a species to develop some kind of consistent inter-action with a particular pollinator. The reason why cross-pollination (the exchange of pollen between two separate individual plants, or clones) is preferable to self-pollination is that the exchange of genetic information increases variability. This, in turn, allows a wider adaptation to possible changes in the environment. If the flowers kept changing continuously, however, the result would be a genetic and morphological chaos, and a probable extinction due to a lack of fitting pollinators. The extreme conse-

quence of a too stable morphology, on the other hand, would result in an inability to adapt to changes in the environment and to new pollinators, which inevitably also would lead to extinction. A balance between genetic stability and variability through mutations, natural hybridization and plasticity, seems to be the successful choice. It is simple to discern a successful strategy *versus* an unsuccessful one in *Odontoglossum* because the plants either exist commonly or not, and the majority of *Odontoglossum* species display a great variability. It seems logical that plants with a variable gene-code have a higher survival rate in an unstable environment, than do plants with a more fixed genetic constitution. The Andean region of South America provides a constantly changing environment due to volcanic eruptions, earthquakes, landslides and floods, and more recently, man's occurrence on the stage. In a longer perspective, fluctuation in temperature has caused periods of glaciations as well. Consequently, a variable habitat would also favor a rapid and diverse speciation, which seems to be the case in the Andes.

The flowers of *Odontoglossum* are considered rewardless. They do not offer any kind of obvious reward, such as nectar or oil for the pollinator. Theoretically, a pollinator may visit a seemingly rewardless flower for some other rewarding reasons, such as absorbing a scent or possibly to deposit eggs on the flower, which in turn may feed the larvae. No such observations are documented, however. In order to encourage the pollinator to re-visit a rewardless flower the plant has to develop a deceit pollination strategy, and this seems to be done with the help of variable and plastic features, or cosmetics. Examples of cosmetics are coloration patterns, variation in the callus size and shape, width of sepals and petals, and possibly a variation in odors (e.g. the different parts of the flower of *Odontoglossum hallii* Lindl. have different smells). A certain degree of natural hybridization also seems favorable to an increased variability as long as the pollination strategy is not broken up and becomes chaotic. In conclusion, we have certain features, which vary not only between different individual plants but also between individual flowers on the same raceme and are assumed to be deceptive. They convince the pollinator to make yet another try

in its quest for whatever reward it is searching for. Cosmetic features are here called taxonomically unimportant and are unreliable for distinguishing species. Features, such as the pollination apparatus, that "design" the flower to accommodate particular pollinators are taxonomically important features. These cannot change too much because it would lead to a morphological chaos with consequent pollination problems. Unfortunately, what works to fool pollinators also fools scientists. Only by visiting many populations and studying large quantities of plants can we see through this deception and discern natural species.

When we fully understand the evolutionary dynamics in a small group of plants, such as *Odontoglossum*, we discover a valuable key to the understanding of how other organisms evolve on Earth as well. Repetitive speciation patterns on many levels in plants have led to the development of superficially similar flowers based on similar pollination strategies. Using the flower morphology exclusively for taxonomic treatments may seem convenient and user-friendly but can be misleading and confusing at the same time because it does not necessarily relate to the natural relationship between species and genera. In contrast, with the recent development of DNA sequence analysis we have found another key to the classification of troublesome plants. Although still at an experimental, initial stage of its development, it is now possible to learn about the genetic relationships of the plants. This can be very useful in some cases, such as the delineation and separation of *Cyrtochilum* from allied genera (Dalström 2001a). Unfortunately it also creates a new dimension of problems when we realize that morphologically different looking plants can be closely related, and viceversa, thus breaking up traditional classification and creating a very unpractical system. In other words, with a classification system based solely on DNA analysis, you may have to know the plant before you can identify it, because there are no reliable and visible indications where it belongs.

#### LITERATURE CITED

- Bockemühl, L. 1989. *Odontoglossum*, a Monograph and Iconograph. Brücke-Verlag Kurt Schmiersow, Hildesheim. Germany.

- Christenson, E. A. 2002. *Cochlioda* - A taxonomic treatment of this New World genus. *Orchids* 2(110–121).
- Dalström, S. 2001a. A synopsis of the genus *Cyrtochilum* (Orchidaceae; Oncidiinae): Taxonomic reevaluation and new combinations. *Lindleyana* 16(2): 56–80.
- Dalström, S. 2001b. New species and combinations in the Oncidiinae (Orchidaceae) and a synopsis of the *Cochlioda* clade. *Selbyana* 22(2): 135–145.
- Rolfe, R. A. 1893. Hybrid *Odontoglossums*. *Orch. Rev.* 1(5): 142.

**Stig Dalström** is a free-lance botanical artist, and Research Associate of the Marie Selby Botanical Gardens, Sarasota, Florida, US. He specializes in Oncidiinae taxonomy, particularly the Andean species of *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Oncidium* and *Odontoglossum*.



## **GUARIANTHE, A GENERIC NAME FOR THE "CATTLEYA" SKINNERI COMPLEX**

ROBERT L. DRESSLER<sup>1</sup> & WESLEY E. HIGGINS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Missouri Botanical Garden; Florida Museum of Natural History; Marie Selby Botanical Gardens  
Mailing address: 21305 NW 86th Ave., Micanopy, Florida 32667, U.S.A. rdressl@nersp.nerdc.ufl.edu

<sup>2</sup>Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236-7726, U.S.A. whiggins@selby.org

Molecular systematics, the comparison of DNA sequences, has brought a continuing revolution to plant taxonomy. In most cases, the results are intuitively reasonable, even when they demand changing long-known names. The analysis of the Laeliinae, by van den Berg *et al.* (2000) has confirmed some clear relationships, showing, for example, that *Schomburgkia* is quite distinct from *Myrmecophila* but very close to *Laelia anceps*. Among other things, this study has shown that *Cattleya*, as we have known it, is not clearly delimited. One of the clearest segregates is the largely Central American "*Cattleya*" *skinneri* complex (van den Berg 2000). With the removal of this group from *Cattleya*, most of the remaining species form a natural group, with some South American misfits, all quite unlike the *skinneri* complex. As it is now clear that *C. skinneri* and its close allies are out of place in *Cattleya*, the present paper proposes a new generic name for this complex, *Guarianthe*, based on *Guaria*, a Costa Rican word for orchid, and the Greek *anthe*, or flower. *Guaria*, by itself, might be confused with the Meliaceae *Guarea*.

According to the molecular analysis by van den Berg *et al.* (2000), the sister group of the *C. skinneri* alliance is *Rhyncholaelia*. There is no bootstrap support for combining these two groups, and, indeed, the bootstrap support for *C. skinneri*, *C. patinii* and *C. aurantiaca* as a group is minimal. *Guarianthe* is quite distinct from *Rhyncholaelia* in most features. *Guarianthe* has a racemose inflorescence, the pollinia are four, and the cuniculus type nectary is quite small, while the inflorescence of *Rhyncholaelia* is sessile and one-flowered, the pollinia are eight, and there is a very prominent nectary separating the ovary from the rest of the flower, so the fruit is long-beaked.

Though *Cattleya bowringiana* is not placed within the *C. skinneri* alliance in the molecular analysis, there is also no bootstrap support to exclude it from the clade. We treat *C. bowringiana* as a member of *Guarianthe* because of the strong agreement in all structural features. Further analysis may falsify this conclusion, but, in the meantime, we may call *C. bowringiana* a *Guarianthe*.

There is a special problem involving the hybrid swarm between *C. aurantiaca* and *C. skinneri*. Plants from this hybrid swarm have been described as new, including *Cattleya deckeri* Klotzsch, *C. guatemalensis* Moore, *C. pachecoi* Ames & Correll, *C. skinneri* var. *parviflora* Hook., and apparently *Cattleya laelioides* Lemaire (Withner 1999). Withner suggests that the name *C. x guatemalensis* should be conserved for the members of this hybrid swarm (1999), so we refrain from publishing any new combination based on the hybrid swarm. Both Rolfe (1900) and Withner (1999) hold that *C. deckeri* is the oldest name for *C. patinii*, a species widespread in northern South America. The available evidence suggests, however, that *C. deckeri* was based on a hybrid backcross to *C. skinneri* (Dressler 1998).

***Guarianthe*** Dressler & W.E. Higgins, *gen. nov.*

Plantae pseudobulbis claviformibus, bifoliatis, inflorescentia racemosa terminalis, labello columnnam parvam involvens.

Epiphytic, pseudobulbs clavate, bifoliate; inflorescence terminal, racemose, from a prominent sheath; sepals and petals similar, lip infundibuliform, surrounding the column; column clavate, 10-12 mm long; anther incumbent, pollinia 4, with caudicles.

Type species: *Cattleya skinneri* Bateman.

***Guarianthe aurantiaca*** (Bateman ex Lindl.) Dressler & W.E. Higgins, *comb. nov.*

Basionym: *Epidendrum aurantiacum* Bateman ex Lindl., *Edward's Bot. Reg.* 24: misc. p. 8. 1838.

***Guarianthe bowringiana*** (Veitch) Dressler & W.E. Higgins, *comb. nov.*

Basionym: *Cattleya bowringiana* Veitch, *Gard. Chron.* 2: 683. 1885.

***Guarianthe skinneri*** (Bateman) Dressler & W.E. Higgins, *comb. nov.*

Basionym: *Cattleya skinneri* Bateman, *Orchid. Mex. Guat. t.* 13. 1838.

***Guarianthe patinii*** (Cogn.) Dressler & W.E. Higgins, *comb. nov.*

Basionym: *Cattleya patinii* Cogn. *Dict. Icon. Orchid.* 2: t. 25. 1900.

#### LITERATURE CITED

- van den Berg, C. 2000. Molecular phylogenetics of Tribe Epidendreae with emphasis on Subtribe Laeliinae (Orchidaceae). Ph.D. thesis, Department of Botany, University of Reading.
- van den Berg, C., W.E. Higgins, R. L. Dressler, W.M. Whitten, M.A. Soto Arenas, A. Culham, & M.W. Chase. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Lindleyana* 15: 96-114.
- Dressler, R.L. 1998. The neotypification of *Cattleya deckeri*. *Lindleyana* 13: 219-220.
- Rolfe, R. A. 1900. *Cattleya deckeri*. *Orchid Rev.* 8: 261-263.
- Withner, C.L. 1999. *Cattleya x guatemalensis*. Its history, close relatives, and problems relating to its identity. *Orch. Dig.* 63: 53-61.

**Robert L. Dressler** nació en el centro de los EE.UU., en la Sierra de Ozark, en 1927, y salió a la civilización (California) a la edad de 10 años. Desde sus años formativos, sentía mucho interés en el campo y en la naturaleza. En la universidad, la combinación de una profesora mediocre de zoología y un profesor excelente de botánica le guió definitivamente hacia la botánica. Recibió el Doctorado en Biología de Harvard en 1957, y trabajó en el Jardín Botánico de Missouri de 1957 a 1963, cuando fue al Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. Vivió algo más de 20 años en Panamá, estudiando la clasificación y la ecología de orquídeas, especialmente su polinización natural. Ahora vive en el norte de Florida, asociado con el Jardín Botánico de Missouri y el Herbario de la Universidad de Florida. Ha escrito varios libros y numerosos artículos. Ahora está trabajando en el proyecto Flora Mesoamericana.

**Wesley E. Higgins** is currently the Head of Systematics and Jessie B. Cox Chair in Tropical Botany at Marie Selby Botanical Gardens in Sarasota, Florida. He is also a Courtesy Curator at the Florida Museum of Natural History. Dr. Higgins is a member of the International Scientific Committee of LANKESTERIANA and is on the Editorial Board for SELBYANA. He has previous experience at Royal Botanic Gardens, Kew, and Missouri Botanical Garden. Dr. Higgins graduated *magna cum laude* from the University of Florida, earning a Ph.D. in Horticulture Science with a minor in Botany. Although his research is in the holomorphology of *Encyclia sensu lato*, he is better known for its segregated genera such as *Prosthechea*, *Oestlundia*, *Microepidendrum*, and *Dinema*. He is an accredited American Orchid Society judge and an approved AOS taxonomic authority.

## **PROSTHECHEA: A CHEMICAL DISCONTINUITY IN LAELIINAE**

WESLEY E. HIGGINS

Head of Systematics, Marie Selby Botanical Gardens  
811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236-7726, U.S.A. whiggins@selby.org

The chemistry of *Prosthechea* differs from other members of the subtribe. Williams (1979) was the first to report the unusual chemical properties of *Prosthechea*. Pabst (1981) observed that flowers preserved in alcohol had a strange mottled appearance. He used this characteristic in his attempt to reestablish *Anacheilium*. Ferreira *et al.* (1986) studied the chemical composition of the flavonoid crystals found in the flowers. Higgins (2000) expanded the search for these crystals in the examination of the holomorphology of *Prosthechea*. The unique chemistry of the genus has important ecological and taxonomic significance.

The genus *Prosthechea* was described by Knowles and Westcott in 1838. The derivation of the name *Prosthechea* is from the Greek *prostheke* in reference to the appendage of tissue (midtooth) on the back of the column in *P. glauca*. This genus of about 100 species has a widespread natural distribution in the Neotropics from Florida (USA) and Mexico southward through tropical South America. Species in this genus are epiphytic or lithophytic herbs and prefer a wet habitat, damp woodlands including swamps, and wet forests from sea level to 2600 meters. The pseudobulbs are fusiform and often flattened. One to five thin leaves surmount each pseudobulb. The inflorescence is scapose or sessile, often with a prominent spathe. The flowers are usually non-resupinate. The labellum is adnate to approximately one half of the column and the callus is typically a thickened pad. The column is usually gibbous, lacking wings; the midtooth, usually large, is erect at apex of column and often covered by a fleshy knob-like, obtuse or truncate appendage which is ligulate (a thin flap of tissue above the anther cap), deltoid, subquadrate, or subflabellate, and sometimes fimbriate; the anther cap is not appressed by the midtooth; lateral teeth are separated from the midtooth by deep narrow sinuses; the rostellum is individed but not

cleft. Seed capsule is three-winged or sharply three-angled, the suture covered by a strap of tissue that lifts upon dehiscence. Large druse-type glycoside crystals are usually present throughout the plant. The published chromosome counts of *Prosthechea* are  $2N = 40$  (Kamemoto & Randolph 1949).

The interaction of a flower with its pollinator is one of the methods of reproductive isolation between species. Floral traits that confer pollinator specificity include shape, fragrance, pigment, and nectar. Most *Prosthechea* attract wasps, which are active during the day although the bright red-orange colored *P. vitellina* may be bird pollinated. Self-pollination has been reported in *Prosthechea*. In *P. boothiana* var. *erythronioides* and *P. cochleata* var. *triandra* the column has a structural modification of two additional anthers that allows the pollen tubes to bypass the rostellum resulting in self-pollination. An interesting observation is that although self-pollinating forms occur over the range of the two species, only the self-pollinating forms are found in Florida. This suggests that the pollinators are not present in Florida.

The floral pigments are molecules that absorb some of the wavelengths and reflect others. There are many different kinds of these molecules and they occur in complex mixtures. The group of compounds found in plants known as flavonoids include flavones, flavonols, anthocyanins, and related compounds. The yellow pigments flavones in the leaf of *P. fragrans* are 6-hydroxy-C-glycosides (Williams 1979). Flavones are also found in flowers of the brightly colored species such as *P. vitellina*. Other flavonoids found in *Prosthechea cochleata* and *P. prismatocarpa* floral pigments are cyanidin and peonidin-based anthocyanins (Arditti & Fisch 1977).

Secondary chemistry (such as the presence of glycoside crystals) attributes important ecological con-

cepts to floral biology. At least 4000 flavonoids are known, and they are common in all higher plants. These glycosides can accumulate in the vacuoles. Druse-type glucoside crystals can be observed in the vacuoles of *Prosthechea*. Flowers of *Prosthechea* precipitate glycoside crystals when fixed in ethanol that can be observed in the glass specimen jar (Pabst, Moutinho *et al.* 1981). This secondary chemistry character of glucoside crystals, flavonoid aglycone structure and linked carbohydrate sidechain of glucorhamnose, is easily observed by preserving flowers in ethanol with 5% sodium hydroxide (Ferreira, Parente *et al.* 1986). These crystals fluoresce under ultraviolet light, probably adding to the visibility of flowers for insect pollinators in a dense forest. The presence of crystals in the flower can also be detected by a sandy feel when cutting the column of a flower with a razor blade.

Fragrances secreted by the osmophores play an important role in flower pollinator interactions. The unique combinations of volatile molecules create differences in the fragrance spectrum of different species. The components of four *Prosthechea* fragrances have been published (Kaiser 1993).

- *Prosthechea baculus* - Aromatic spicy-floral scent consisting of aromatic esters, phenols, vanilline, and indole complemented by a distinctive herbaceous and straw-like note that is largely attributable to oxoisophorone accompanied by its dihydro derivative and the corresponding epoxy diketone.
- *Prosthechea citrina* - unique pleasant floral and hesperidic scent interaction of ipsdienol and ispidienone together with neral and geranial, numerous olfactory important compounds such as myrcene, citronellal, methyl geranate, methyl (Z)-4-decenoate, geraniol and farnesal.
- *Prosthechea fragrans* - aromatic-floral accord balanced by a multifaceted scent reminiscent of passion fruit and mango triggered by interaction of ocimene, b-ionone and two isomers of edulane, plus a range of aliphatic esters, and a contrasting astringent note reminiscent of tea roses produced by 3,5-dimethoxy toluene.
- *Prosthechea glumacea* - unmistakable very sweet aromatic-floral effect based on linalool and its high

anis aldehyde contrasted by a melon-like green note attributable to (Z,Z)-3,6-nonadienol.

*Prosthechea* capsules release several million seeds (Arditti 1992) by opening a suture along the midline of each carpel during dehiscence (Pridgeon, Cribb *et al.* 1999). The mechanism of opening is different in *Prosthechea*; the suture is covered by a strap of tissue, which lifts to open the suture for seed disbursal (Higgins 2000). The seed consist of a tiny embryo and a net-like testa. The embryo usually lacks a cotyledon and endosperm. Rudimentary cotyledons have been observed in *P. vitellina*. The *Prosthechea* seed are elongate to 500-1000 µm long and are of the *Epidendrum* type (Barthlott 1976).

Withner's (1998) *Euchile* has glaucous leaves, a lip that encircles the column, a nectary at the base of the column, and three large truncate teeth on the column. The column structure of *Euchile* also differs in that the midtooth is not ligulate (Higgins 1999). Higgins (1997) placed *E. mariae* and *E. citrina* in *Prosthechea*. A phylogeny based on holomorphology also places *Euchile* sister to the other *Prosthechea* species (Higgins 2000).

In addition to being important ecological traits, the chemistry of *Prosthechea* provides reliable taxonomic characters. The presence of druse-type glucoside crystals is consistence within the genus and these crystals are not found in sister taxa. Holomorphology is the total collection of characters or the complete description of an organism including morphological, anatomical, chemical, and molecular characteristics. Taxonomic decisions based on holomorphology provide the most useful and predictive classification schemes.

#### LITERATURE CITED

- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. New York, John Wiley & Sons.
- Arditti, J. and M.H. Fisch. 1977. Anthocyanins of the Orchidaceae: Distribution heredity, functions, synthesis, and localization. *In* J. Arditti (ed.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*. Ithaca, Cornell University Press. 1: 117-155.
- Barthlott, W. 1976. Morphologie der Samen von Orchideen im Hinblick auf taxonomische und funktionelle Aspekte. *Proceedings of the 8th World Orchid*

- Conference, Frankfurt, Deutsche Orchideen Gesellschaft.
- Ferreira, V.F., J.P. Parente, *et al.* 1986. Chemical Discontinuity in Laeliinae Benth. *Biochemical Systematics and Ecology* 14(2): 199-202.
- Higgins, W.E. 1997. A Reconsideration of the Genus *Prosthechea* (Orchidaceae). *Phytologia* 82(5): 370-383.
- Higgins, W.E. 1999. The genus *Prosthechea*: An old name resurrected. *Orchids* 68(11): 1114-1125.
- Higgins, W.E. 2000. Intergeneric and Intrageneric Phylogenetic Relationships of *Encyclia* (Orchidaceae) Based upon Holomorphology. Horticultural Sciences. Gainesville, The University of Florida: 297.
- Kaiser, R. 1993. *The Scent of Orchids, Olfactory and chemical investigations.* Amsterdam: Elsevier.
- Kamemoto, H. and L.F. Randolph. 1949. Chromosomes of the *Cattleya* tribe. *Amer. Orch. Soc. Bull.*, 18: 366-369.
- Pabst, G.F., J.L. Moutinho, *et al.* 1981. An attempt to establish the correct statement for genus *Anacheilium* Hoffm. and revision of the genus *Hormidium* Lindl. ex Heynh. *Bradea* 3(23): 173-186.
- Pridgeon, A.M., P.J. Cribb, *et al.* (eds.) 1999. *General Introduction, Apostasioideae, Cypripedioideae. Genera Orchidacearum.* Oxford, Oxford University Press.
- Williams, C.A. 1979. The leaf flavonoids of the Orchidaceae. *Phytochemistry* 18: 803-810.
- Withner, C. L. 1998. *Brassavola, Encyclia, and other genera of México and Central America. The Cattleyas and their Relatives.* Timber Press, Portland, Oregon.

**Wesley E. Higgins** is currently the Head of Systematics and Jessie B. Cox Chair in Tropical Botany at Marie Selby Botanical Gardens in Sarasota, Florida. He is also a Courtesy Curator at the Florida Museum of Natural History. Dr. Higgins is a member of the International Scientific Committee of LANKESTERIANA and is on the Editorial Board for SELBYANA. He has previous experience at Royal Botanic Gardens, Kew, and Missouri Botanical Garden. Dr. Higgins graduated *magna cum laude* from the University of Florida, earning a Ph.D. in Horticulture Science with a minor in Botany. Although his research is in the holomorphology of *Encyclia sensu lato*, he is better known for its segregated genera such as *Prosthechea*, *Oestlundia*, *Microepidendrum*, and *Dinema*. He is an accredited American Orchid Society judge and an approved AOS taxonomic authority.

## PHYLOGENY AND EVOLUTION

WALTER A. MARÍN

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica  
wmarin@biologia.ucr.ac.cr

A particular human drive is to arrange things into categories, look for patterns and allocate labels. Since ancient times, humans have applied this to life itself. Today we use the Linnaeus' system of classification, first published in 1735, which classifies living organisms by grouping them with the most similar visible characteristics into groups. This kind of scheme is called taxonomy. The system is based on groups nested within groups of increasingly general scope. So several species can belong to the same genus, several genera to the same family, and so on through order, class, phylum, and kingdom. Phenetic classification is an extension of the Linnean approach. According to the Phenetic method, species are grouped together with other species that they most closely resemble phenotypically.

The publication of Darwin's *On the Origin of Species* in 1859 led to a new approach to classification that attempted to unravel the evolutionary history of species. The closest species in this scheme are not necessarily those that show more resemblance, but those which share the most recent common ancestry.

The development of cladistic techniques, combined with the usage of computers to analyze large quantities of data, have produced new insights into the history of life. Cladistic classification determines the evolutionary relationships between organisms by analyzing certain kinds of characteristics, or traits. In the course of evolution, a novel, heritable trait will emerge in some organism. That trait will be passed on to its descendants. Two organisms that share such a new, or derived, trait or group of traits are therefore more closely related to each other than to organisms that lack those traits. By treating recently evolved characteristics differently from ancestral characteristics, this technique emphasizes evolutionary relationships over structural or morphological similarities.

Cladistics is now accepted as the best method avail-

able for phylogenetic analysis. It provides an explicit and testable hypothesis of organismal relationships. The basic idea behind cladistics is that members of a group share a common evolutionary history, and are closely related, more so to members of the same group than to other organisms. These groups are recognized by sharing unique features which were not present in distant ancestors.

Cladistic analysis has become synonymous with phylogenetic systematics. A clade, a monophyletic taxon or evolutionary branch, is a group of organisms which includes the most recent common ancestor of all of its members and all of the descendants of that most recent common ancestor. The name clade derives from the Greek word "*klados*", meaning branch or twig. A taxon is monophyletic if a single ancestor gave rise to all species in that taxon and to no species in any other taxon. On the other hand a taxon is polyphyletic if its members are derived from two or more ancestral forms not common to all members, in this case the group does not include the most recent common ancestor of those organisms; the ancestor does not possess the character shared by members of the group.

Cladistic analysis uses a concept called outgroup comparison to recognize primitive characters for all members of a group of interest and to establish a starting point for a phylogenetic tree. An outgroup is a species or group of species. All members of the study group are compared as a group to the outgroup. Characters common to both the outgroup and the study group are likely to have been present in a common ancestor and are therefore shared primitive characters.

An important assumption of Cladistics is that characteristics of organisms change over time. It is only when traits change that it is possible to recognize different lineages or groups as well as the direction in

which characters change, and the relative frequency with which they change. It is also possible to compare the descendants of a single ancestor to look at patterns of origin and extinction in these groups, or to look at relative size and diversity of the groups.

Cladistics is today the most commonly used method to classify organisms because it recognizes and employs evolutionary theory.

In recent years, DNA sequencing methods have become an useful tool for determining evolutionary relationships. The DNA present in the cells of all living organisms provide a distinctive genetic profile of the species. By comparing the similarity of DNA between two species, scientists can determine how closely they are related. These molecular similarities reveal the relationships among organisms. The study of ancestral relations among species, often illustrated with a "tree of life" branching diagram, is also known as a phylogenetic tree.

In any species, usually there will be several variants, or alleles, of each gene. The alleles of a specific gene are related to each other - new alleles arise from older ones mostly by mutation. Molecular biologists can work out these relationships and draw up family trees that show which alleles are most closely related. When new species evolve from this ancestral population, some of the alleles may be lost through genetic drift or natural selection.

The studies of molecular phylogeny have provided new ways for measuring how closely or distantly related different species are on the evolutionary tree. These molecular tools have greatly aided evolutionary biologists in tracing ancestor-descendant relationships, which show how later organisms developed from earlier ones, among various organisms on the tree of life.

The study of Fossils is mostly based on the analysis of morphological features that can be misled by incomplete evidence. The molecular techniques on the other hand detect differences in genes between organisms, which provide another kind of evidence to help determine how closely related they are. This allows the

researchers to represent evolutionary relationships on a phylogenetic tree by the extent to which the organisms' gene sequences differ from each other. In fact, the genome, or entire set of genes, of an organism contains a record of the organism's evolutionary history.

The combination of information from analysis of fossils with DNA studies, allows researchers to draw evolutionary trees showing where and approximately when the species branched off from common ancestors. These diagrams, known as phylogenetic trees, or cladograms, are hypotheses that represent the best estimate of the true evolutionary relationships, based on existing evidence. They are constantly revised as new data become available.

While molecular analysis has become a standard method of tracing evolutionary relationships, it also has limitations, and sometimes it can yield wrong answers. When genetic measurements and evidence from fossils conflict, scientists recognize that no one technique is always correct.

The best results obtained in evolutionary studies often come from combining analyses of the comparative morphology of different species with molecular techniques. The coupling of these approaches permit evolutionary biologists to build a more accurate picture of life's history.

#### BIBLIOGRAPHY

- Dodson, E.O. and P. Dodson. 1985. *Evolution: Process and Product*. Prindle, Weber & Schmidt Publishers. Boston.
- Freeman, S and J. C. Herron. 2001. *Evolutionary Analysis*. Prentice-Hall Inc. New Jersey.
- Kenrick, P. and P.R. Crane. 1997. *The origin and early diversification of Land Plants: A cladistic study*. The Smithsonian Institution Press. Washington.
- Mayr, E. 2001. *What evolution is*. Basic Books (Perseus Books Group). New York.
- Niklas, K.J. 1997. *The evolutionary biology of plants*. The University of Chicago Press. Chicago.
- Wilson, A.C. 1985. *The molecular basis of Evolution*. *Scientific American* 253:164-173.

**Walter A. Marín**, Ph.D (Physiological Plant Pathology, University of London) is Professor of Plant Anatomy and Plant Physiology at the Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. Currently conducting research on morphological study of organogenesis of maize *in vitro* and effect of water stress and fungal infection on growth and survival of seedlings of woody species.

## PHYLOGENY OF THE *HETEROTAXIS* LINDLEY COMPLEX (MAXILLARIINAE): EVOLUTION OF THE VEGETATIVE ARCHITECTURE AND POLLINATION SYNDROMES

ISIDRO OJEDA<sup>1</sup>, GERMÁN CARNEVALI<sup>1</sup>, NORRIS H. WILLIAMS<sup>2</sup> & W. MARK WHITTEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Herbarium CICY, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.  
Calle 43. No. 130. Col. Chuburná de Hidalgo, 97200 Mérida, Yucatán, México.

<sup>2</sup> Herbarium, Florida Museum of Natural History, University of Florida  
385 Dickinson Hall, P.O. Box 117800 Gainesville, Florida 32611-7800, U.S.A.

*Heterotaxis* Lindl. comprises about 11 primarily epiphytic species ranging from the southeastern U.S.A. (Florida) and the Greater Antilles to Brazil, with most of the species occurring in Central and South America. This complex is characterized by a sympodial growth habit, with short rhizomes, laterally compressed oblong pseudobulbs (unifoliate), and subtended by various leaf-bearing sheaths. Exceptions are *Maxillaria equitans* (Schltr.) Garay and *Maxillaria valenzuelana* (Sw.) Nash, which exhibit a pseudomonopodial growth without pseudobulbs. The one-flowered inflorescence emerges from the leaf axils; the flowers are distinctly fleshy, a character shared with the *Ornithidium* complex, and colors varying from yellow to orange, with some species showing purple lips with calli varying in size and texture. The column exhibit an arcuate shape with the lip articulated to its base.

Lindley described *Heterotaxis* in 1826 based on a species known today as *Maxillaria crassifolia* (Lindl.) Rchb. f., and although in 1830 the same author described a new genus (*Dicrypta* Lindl.) based on the same species, this complex of species must be referred by priority under the first generic name, *Heterotaxis*.

The name *Heterotaxis* has been used to design a complex of species within *Maxillaria* Ruiz & Pav., and most authors considered it as a synonymous of this genus in their floristic treatments; however, some of them have pointed out that this complex represents a group of species at generic level.

Several studies based on morphology, anatomy, and DNA sequences have showed that *Maxillaria* repre-

sents a para or polyphyletic genus, and that some groups of species, commonly considered within *Maxillaria*, should be reevaluated and recognized at the generic level.

*Heterotaxis* represents one of these groups, and previous studies using DNA sequences (ITS 1 & 2) situated this complex of species in a basal position in the phylogeny of *Maxillaria s.l.*

Our major goals in the present work were: 1) to determinate if *Heterotaxis* represents a monophyletic group, 2) to establish the phylogenetic relationships among species considered within this complex, and 3) to study the evolution of the vegetative architecture and pollination syndromes.

We considered an in-group of 18 species, representing 12 described species in *Heterotaxis* and two new species plus four representative species of *Ornithidium* Salisb. complex. Outgroups species (*Lycaste cruenta*, *Xylobium zarumense*, *Cryptocentrum latifolium*, and *Maxillaria bicallosa*) were selected according to a previous approach to the phylogeny of *Maxillaria* and related genera based on DNA sequences of ITS 1 & 2.

A total of 58 morphological characters (morphology, and gross leaf anatomy) and DNA sequences of ITS 1 & 2 were used in the reconstruction of phylogenetic relationships.

We conducted separate analyses of morphology and DNA sequences, and a combined analysis using the Winclada and Nona programs.

In separate analyses of both data, morphology and DNA sequences, *Heterotaxis* represents a monophyletic group provided three species, *Maxillaria*



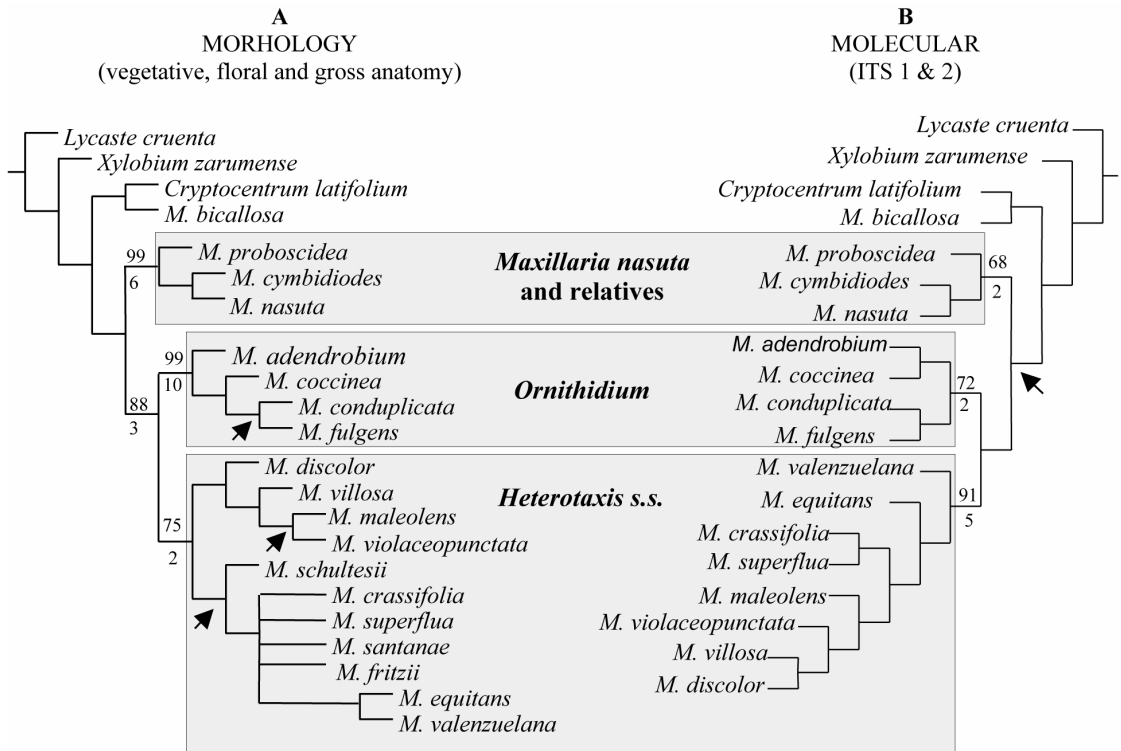


Figure 1. Consensus trees of the phylogenetic relationships of *Heterotaxis* complex, A - based on morphological characters (morphology and gross foliar anatomy), and B - DNA sequences of internal transcribed spacers (ITS 1 & 2). Numbers above branches represent jackknife values, and numbers below branches Bremer support values. Nodes with arrows represent collapsed clades in the jackknife tree.

*nasuta*, *M. cymbidiodes*, and *M. proboscidea* are excluded from this complex (Fig. 1).

A total of 20 most parsimonious tree (L = 106, CI = 0.85, RI = 0.92) were found in the analysis based on morphology; this evidence supports the position of *Heterotaxis s. s.* (excluding *M. nasuta*, *M. cymbidiodes*, and *M. proboscidea*) as a sister clade of *Ornithidium*.

*Heterotaxis s.s.* was supported by three synapomorphies, the pedicel of the flower is wider than the rest of the internodes of the peduncle, the column is articulated to the pedicel in an angle of 45°, and finally, the presence of a sub-apical mucron in sepals and petals. Two major clades were found within *Heterotaxis s.s.*; the *Violaceopunctata* clade contains only species with a sympodial growth habit and those species with larger size; this clade is supported by two synapomorphies, the labellum of these species is markedly 3-lobed in shape, and anatomically, these species share

the presence of a pattern of 4-7 vascular bundles in the mesophyll repeated modularly, quite different from the rest of *Heterotaxis* species which present a modular pattern of three vascular bundles. The *Violaceopunctata* clade contains those species which are, due to similar size and growth habit, commonly confused with the species of *M. nasuta* and relatives.

The *Crassifolia* clade contains species with sympodial and the two species with a pseudomonopodial growth habit. This clade is supported by two synapomorphies, blades of leaves are partially fused at the base (close to the articulation of the sheath), and a Y shape of sheaths in a transversal cross section. The position of *Maxillaria schultesii* is uncertain, and although in the consensus tree it is situated in *Crassifolia* clade, its position is not resolved in the jackknife tree (Fig. 1).

*Maxillaria nasuta* clade and relatives are supported by the next morphological synapomorphies: the shin-

ing surface (as varnished) and lacking of ridges of pseudobulb in dried material, this characteristic is quite different from the pseudobulb surface of *Heterotaxis s.s.*, which exhibit ridged and opaque surface. The size of the peduncle (of five internodes) of the inflorescence is longer (2 times) than size of the pseudobulb, and finally, the column shows a papillose surface in the dorsal portion.

A single most parsimonious tree was found in the analysis based on DNA sequences ( $L = 279$ ,  $CI = 0.75$ ,  $RI = 0.76$ ), this data support the presence of three clades, *M. nasuta* and relatives, *Heterotaxis s.s.*, and *Ornithidium*. However, the relationships among these clades are not resolved (Fig. 1). Sequences of ITS 1 & 2 also support the presence of the *Violaceopuntata* clade, and the pseudomonopodial plants are situated in a basal position within *Heterotaxis* clade, closely related to the species of the *Crassifolia* clade.

The total evidence analysis supports the position of *Heterotaxis s.s.* as a sister clade of *Ornithidium*, and the presence of the two previous clades, *Crassifolia* and *Violaceopunctata*, found with the morphological characters. According to this result, the sympodial

growth habit observed in most of the species in *Heterotaxis s.s.*, and in the *M. nasuta* clade is plesiomorphic. The pseudomonopodial growth habit of *M. valenzuelana* and *M. equitans* is derived within *Heterotaxis*. All studied species of *Ornithidium* show a growth habit as the observed in *Heterotaxis*, and the most plesiomorphic growth habit found in this analysis is that observed in *M. coccinea*, which a production of repeated sympodiums with elongated rhizomes.

The floral characteristics of the *Heterotaxis* species suggest a pollination syndrome by wasps which collect pseudopollen or wax. This pollination syndrome has been reported in other groups of *Maxillaria*, and according to the present results, this pollination syndrome is plesiomorphic and has evolved several times within *Maxillaria*. The floral characteristics of *Ornithidium*, such as fused lip forming a cup, long peduncles of flower, nectar production, and bright red to yellow colors suggest a pollination syndrome by hummingbirds. According to the total evidence this pollination syndrome is derived in the *Heterotaxis* – *Ornithidium* clade, and this floral modification is associated with the great variation in vegetative architecture observed in this complex of species.

**Isidro Ojeda Alayón** estudió Licenciatura en Biología en la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) entre 1994-99. Comenzó a estudiar la maestría en Ecología en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) entre 2001-03. En su tesis estudió la filogenia y la evolución de un complejo de especies dentro del género *Maxillaria*. Sus intereses en la investigación son: filogenia, sistemática, taxonomía y distribución de las orquídeas del Neotrópico. Le interesa de igual manera el uso de la información molecular y anatómica en la reconstrucción filogenética, y el estudio de la evolución de hábitos vegetativos y de estrategias de polinización.

**Germán Carnevali**, Ph.D., obtuvo su licenciatura en biología en la Universidad Central de Venezuela; Maestría y Doctorado en la Universidad de Missouri-St. Louis, asociado con el Missouri Botanical Garden. Sus intereses son la sistemática y la filogenia de varios grupos de las Orchidaceae Neotropicales, principalmente los géneros *Myrmecophila*, *Schomburgkia*, *Encyclia*, *Lophiaris*, *Cohniella* y la subtribu Maxillariinae en general. Simultáneamente, tiene intereses en la florística de las Orchidaceae de la Península de Yucatán, América Central, las Guianas, la Amazonía y Venezuela.

**Norris H. Williams**, Ph.D., es Curador de Plantas Vasculares en la Universidad de Florida, Herbario del Museo de Historia Natural de Florida, y ha trabajado en aromas florales, biología de la polinización y en la sistemática y evolución de las orquídeas. En la actualidad dedica la mayoría de su tiempo al estudio de la sistemática molecular de las Orchidaceae neotropicales.

**W. Mark Whitten**, Ph.D., es Senior Biologist del Herbario de la Universidad de Florida y ha trabajado en aromas florales, biología de la polinización y en sistemática y evolución de las orquídeas. Sus estudios recientes se concentran en la sistemática molecular de las orquídeas del Neotrópico.

# PHYLOGENETICS OF THE SUBTRIBE PLEUROTHALLIDINAE (EPIDENDREAE: ORCHIDACEAE) BASED ON COMBINED EVIDENCE FROM DNA SEQUENCES

ALEC M. PRIDGEON & MARK W. CHASE

Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey TW9 3AB, UK

Subtribe Pleurothallidinae (Epidendreae: Orchidaceae) comprises an estimated 4000 Neotropical species in about 30 genera (Luer 1986), accounting for 15-20% of the species in the entire family. The vast majority are dipteran-, deceit-pollinated epiphytes with sympodial growth, unifoliate non-pseudobulbous stems or “ramicauls,” conduplicate leaves, velamentous roots, and an articulation between the pedicel and ovary. Genera have been circumscribed on the basis of number of pollinia— eight, six, four or two – although there can be either eight or six in *Brachionidium* Lindl. (Luer 1986) and two or four (one large pair and one small pair) in *Myoxanthus* Poepp. & Endl. and *Lepanthes* Sw. (Stenzel 2000).

To evaluate the monophyly of subtribe Pleurothallidinae (Epidendreae: Orchidaceae) and the component genera and to reveal evolutionary relationships and trends, we sequenced the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and 5.8S gene for 185 taxa (Pridgeon, Solano & Chase 2001), later increased to 187 taxa (Pridgeon & Chase 2001). *Dilomilis montana*, *Neocogniauxia hexaptera*, *Arpophyllum giganteum*, and *Isochilus amparoanus* were used as outgroups. All but seven of the 32 subgenera of the megagenus *Pleurothallis* are represented by one or more taxa; those subgenera not represented are monospecific or comprise only a few species. As a result, the overall morphological diversity was sampled to minimize spurious attractions, a strategy recommended for large study groups in particular (Hillis 1998).

To resolve internal nodes in the ITS topology and offer additional evidence from another genome, we also sequenced the plastid gene *matK* and the *trnL* intron with the *trnL-F* intergenic spacer (hereafter simply *trnL-F*) for a representative subset of the taxa

in the ITS study (Pridgeon, Solano & Chase 2001, Pridgeon & Chase 2001). Sequences of *rbcL* (Chase *et al.* 1994, Kores *et al.* 1997, Cameron *et al.* 1999, van den Berg 2000), *matK* (Ryan *et al.* 2000, van den Berg 2000, Kores *et al.* 2001; Whitten, Williams & Chase 2000), and *trnL-F* (van den Berg 2000, Kores *et al.* 2001, Whitten, Williams & Chase 2000) have been useful in evaluating higher-level relationships in Orchidaceae by virtue of the relatively conservative evolution of the plastid genome.

Finally, we combined the plastid data with the corresponding ITS sequences for a separate analysis of 58 representative taxa to assess congruence among the separate and combined data sets (Pridgeon, Solano & Chase 2001, Pridgeon & Chase 2001). In this way we were able to compare topologies of DNA regions with different functional constraints (e.g., coding vs. noncoding, nuclear vs. plastid, concerted evolution in ribosomal ITS sequences) before combining them to limit spurious results in the separate analyses (Johnson & Soltis 1998, Soltis, Soltis and Chase 1999, Wiens 1998).

There is strong support in most analyses (Pridgeon, Solano & Chase 2001, Pridgeon & Chase 2001) for the monophyly of Pleurothallidinae and, as in other analyses (van den Berg *et al.* 2000), for inclusion of *Dilomilis* and *Neocogniauxia* in Pleurothallidinae. Taking into account the highly supported molecular evidence from multiple DNA regions, the shared number of pollinia in some taxa (eight) and leaf anatomy, the ancestral reed-stem condition in other clades of Epidendroideae (van den Berg 2000), and evolutionary remnants thereof in present-day Pleurothallidinae, we proposed (Pridgeon & Chase, 2001) that Pleurothallidinae be expanded to include *Dilomilis*, *Neocogniauxia*, and presumably the monospecific *Tomzania*, thereby forming a more natural

unit. Furthermore, recognition of a new subtribe comprising only three genera that are collectively sister to Pleurothallidinae would result in unnecessary taxonomic inflation.

Although most genera in the several clades identified in the analyses are monophyletic, all data sets are highly congruent in revealing the polyphyly of *Pleurothallis* and its constituent subgenera as presently understood, falling into seven clades with generally strong bootstrap support (Pridgeon, Solano & Chase, 2001, Pridgeon & Chase, 2001). The high degree of homoplasy in anatomical/morphological characters, especially floral characters, limits their usefulness in phylogenetic reconstruction of the subtribe.

#### LITERATURE CITED

- Cameron, K.M., M.W. Chase, W.M. Whitten, P.J. Kores, D.C. Jarrell, V.A. Albert, T. Yukawa, H.G. Hills and D.H. Goldman. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Amer. J. Bot.* 86: 208-224.
- Chase, M.W., K.M. Cameron, H.G. Hills and D. Jarrell. 1994. DNA sequences and phylogenetics of the Orchidaceae and other lilioid monocots. In A. M. Pridgeon (ed.), *Proceedings of the 14th World Orchid Conference*, 61-73. HMSO, Edinburgh, UK.
- Hillis, D.M. 1998. Taxonomic sampling, phylogenetic accuracy, and investigator bias. *Syst. Biol.* 47: 3-8.
- Johnson, L.A. and D.E. Soltis. 1995. Phylogenetic inference in Saxifragaceae *sensu stricto* and *Gilia* (Polemoniaceae) using *matK* sequences. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 149-175.
- Kores, P.J., K.M. Cameron, M. Molvray and M.W. Chase. 1997. The phylogenetic relationships of Orchidoideae and Spiranthoideae (Orchidaceae) as inferred from *rbcL* plastid sequences. *Lindleyana* 12: 1-11.
- Kores, P.J., M. Molvray, S.D. Hopper, P.H. Weston, A.P. Brown, K.M. Cameron and M.W. Chase. 2001. A phylogenetic analysis of Diurideae (Orchidaceae) based on plastid DNA sequence data. *Amer. J. Bot.* 88: 1903-1914.
- Luer, C.A. 1986. *Icones Pleurothallidarum I. Systematics of the Pleurothallidinae (Orchidaceae)*. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 15.
- Pridgeon, A.M., R. Solano and M.W. Chase. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *Amer. J. Bot.* 88: 2286-2308.
- Pridgeon, A.M. and M.W. Chase. 2001. A phylogenetic reclassification of Pleurothallidinae (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 235-271.
- Ryan, A., W.M. Whitten, M.A. T. Johnson and M.W. Chase. 2000. A phylogenetic assessment of *Lycaste* and *Anguloa* (Orchidaceae: Maxillarieae). *Lindleyana* 15: 33-45.
- Soltis, P.S., D.E. Soltis and M.W. Chase. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402: 402-404.
- Stenzel, H. 2000. Pollen morphology of the subtribe Pleurothallidinae Lindl. (Orchidaceae). *Grana* 39: 108-125.
- van den Berg, C. 2000. Molecular phylogenetics of tribe Epidendreae with emphasis on subtribe Laeliinae (Orchidaceae). Ph.D. thesis, University of Reading, UK.
- van den Berg, C., W.E. Higgins, R.L. Dressler, W.M. Whitten, M.A. Soto Arenas, A. Culham and M.W. Chase. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from nuclear transcribed spacers (ITS) of ribosomal DNA. *Lindleyana* 15: 96-114.
- Whitten, W.M., N.H. Williams and M.W. Chase. 2000. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. *Amer. J. Bot.* 87: 1842-1856.
- Wiens, J.J. 1998. Combining data sets with different phylogenetic histories. *Syst. Biol.* 47: 568-581.

**Alec M. Pridgeon** was born in 1950 in Dallas, Texas, USA and received his Ph.D. in biology from Florida State University, specializing in anatomy and systematics of orchids. He is presently Sainsbury Orchid Fellow at the Royal Botanic Gardens, Kew, where he specializes in molecular phylogenetics and co-edits and contributes to *Genera Orchidacearum*, a comprehensive multi-volume monograph of the orchid family. Volumes 1–3 of *Genera Orchidacearum* have already been published by Oxford University Press, and Volume 4 is in preparation.

**Mark W. Chase** was born in 1951 and received his Ph.D. in systematic botany from the University of Michigan. His research interests include systematics and evolution of angiosperms, in particular Orchidaceae. He is currently Head of the Molecular Systematics Section at the Royal Botanic Gardens, Kew, and co-edits and contributes to *Genera Orchidacearum*.

## ANÁLISIS FENÉTICO DE CARACTERES ANATÓMICO-FOLIARES DE *TRICHOCENTRUM* Y GÉNEROS RELACIONADOS (ORCHIDACEAE, ONCIDIINAE)

ESTHELA SANDOVAL<sup>1,3</sup>, TERESA TERRAZAS<sup>2</sup> y ALEJANDRO VALLEJO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México  
A.P. 70-614. C.P. 04510. Coyoacán, D.F. México

<sup>2</sup>Programa de Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillos, 56230 Estado de México, México

<sup>3</sup>Autora para correspondencia: esz@ibiologia.unam.mx, winchi@colpos.colpos.mx

La subtribu Oncidiinae es un grupo de los más diversos en las Orchidaceae en términos de su diversidad floral, biología de polinización, número cromosómico y morfología vegetativa. La subtribu tiene más de 1700 especies distribuidas en cerca de 75 géneros comúnmente reconocidos (Dressler 1993, Williams *et al.* 2001). Varios géneros clásicamente definidos son ampliamente reconocidos como polifiléticos. La subtribu Oncidiinae, al igual que Maxillariinae y Zygopetalinae, tiene una variedad de sistemas de polinización y las clasificaciones basadas en la morfología floral están en desacuerdo con las filogenias moleculares, probablemente debido a convergencias de los caracteres florales relacionados con la polinización. Dentro de la subtribu Oncidiinae, *Oncidium* es el género más rico en especies y el más polimórfico. Entre sus especies se encuentra un grupo muy distintivo, anteriormente conocido como “orejas de burro”, ubicado originalmente en *O.* sección *Plurituberculata* y otro llamado “colas de rata” ubicado en *O.* sección *Cebolletae* (Garay & Stacy 1974). Los miembros de estas secciones han sido clasificados en diferentes linajes dentro de Oncidiinae (Williams & Dressler 1973, Chase, 1987, Chase & Palmer 1989, 1992, Königer 1997, Williams *et al.* 2001). Más recientemente Williams *et al.* (2001) basados en evidencias moleculares plantean la hipótesis de que Oncidiinae incluye nueve clados. Uno de ellos abarca las especies de *Oncidium* secciones *Plurituberculata* y *Cebolletae*, dos especies de *Cyrtochilum* y *Trichocentrum sensu stricto*, conformando el clado *Trichocentrum*. Este es uno de los clados basales dentro de la propuesta de relaciones filogenéticas de Williams *et al.* (2001) para la sub-

tribu Oncidiinae. Se ha demostrado que la anatomía foliar contribuye a distinguir y soportar clados dentro de la subtribu, así como grupos dentro del clado *Trichocentrum* (Sandoval-Zapotitla & Terrazas 2001).

El presente trabajo tiene como objetivo conocer la similitud de los caracteres anatómico-foliar de las especies del clado *Trichocentrum* y géneros relacionados mediante análisis fenético y de ordenación, así como identificar los caracteres foliares diagnósticos para distinguir entre especies y géneros.

La selección de especies para este trabajo se hizo a partir de la revisión de los trabajos de Chase y Palmer (1989, 1992) y de Williams *et al.* (2001). Como parte del clado *Trichocentrum* se incluyó a *Trichocentrum albiflorum* (G. Salazar 5123), *T. ascendens* (R. Jiménez 857), *T. bicallosum* (M.A. Soto 3236), *T. cavendishianum* (G. Salazar 4707, R. Jiménez 964), *T. cebolleta* (E. Pérez 286), *T. flavovirens* (Leleu I 85), *T. hoegei* (M.A. Soto s.n.), *T. luridum* (R. Jiménez s/n), *T. microchilum* (M.A. Soto s.n., E. Hágsater 4286), *T. splendidum* (s.n.), *T. stramineum* (J. García 668). Como géneros relacionados se incluyó a *Cuitlauzina pendula* (M.A. Soto 4365), *Oncidium ampliatum* (C. Lamas s.n.), *O. pulvinatum* (E. Hágsater 11794), *Osmoglossum dubium* (Leleu s.n.), *Palumbina candida* (M.A. Soto 3299), *Psychopsis papilio* (s.n.), *Rossioglossum grande* (G. Salazar s.n.), *Trichopilia tortilis* (M.A. Soto 4822) y *Maxillaria cucullata* (M.A. Soto 5179), ésta última de la subtribu Maxillariinae. Los caracteres cualitativos y cuantitativos de los tejidos dérmico, fundamental y vascular de la hoja de cada especie corresponden a los

descritos por Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001) para el clado *Trichocentrum*.

En el análisis fenético se incluyeron 22 taxa (*T. cavendishianum* y *T. microchilum* con dos repeticiones) y 92 caracteres y se llevó a cabo con el programa NTSYS 2.02i (Rohlf 1993). El análisis de conglomerados fue calculado usando el Coeficiente de Correlación Momento-Producto de Pearson (CORR) (Sneath y Sokal 1973) debido a que el 74% de los caracteres es multiestado. Se siguió el método secuencial, aglomerativo, jerárquico y anidado (SAHN), empleando la media aritmética ponderada (UPGMA), para generar el fenograma. El análisis de ordenación se realizó mediante análisis de componentes principales (ACP), usando una matriz de correlación entre caracteres.

Los resultados de los análisis de conglomerados y de ordenación fueron consistentes entre sí respecto a la agrupación de los taxa. En ambos análisis se identificaron dos grandes grupos. El grupo I subdividido en: subgrupo "A" con *Trichocentrum bicallosum*, *T. cavendishianum*, *T. flavovirens*, *T. luridum*, *T. microchilum*, *T. splendidum* y *T. stramineum*; subgrupo "B" con *T. ascendens* y *T. cebolleta*; subgrupo "C" con *Trichocentrum albiflorum*, *T. hoegei* y *Trichopilia tortilis*. El grupo II subdividido en: subgrupo "A" con *Cuitlauzina pendula*, *Oncidium ampliatum*, *Osmoglossum dubium*, *Palumbina candida* y *Maxillaria cucullata*; subgrupo "B" con *Oncidium pulvinatum*, *Psychopsis papilio* y *Rossioglossum grande*. El análisis de componentes principales mostró que 25 caracteres tienen el mayor valor de contribución en los tres primeros componentes, de los cuales 14 son cuantitativos y 11 son cualitativos. Los 14 caracteres cuantitativos fueron evaluados mediante análisis de varianza para conocer si existían diferencias estadísticamente significativas entre los taxa.

Por otro lado, se encontró que del total de caracteres analizados, 21 caracteres son diagnósticos para los grupos resultantes; de ellos 15 son cuantitativos y seis cualitativos. Por tanto, un total de 46 caracteres resultaron tener significado taxonómico para los taxa en estudio. Dichos caracteres están relacionados con la forma de la hoja, las papilas, las características de

las células de la epidermis adaxial, el tipo de rebordes de las células de la epidermis abaxial, la hipodermis adaxial y el mesófilo, las características de las células con engrosamientos, las células buliformes, los haces vasculares, los haces de fibras no vasculares y del haz vascular central; así como la presencia de estegmatas y de espacios aéreos en la región basal. En términos de sus caracteres anatómico-foliare, el clado *Trichocentrum* (*sensu* Williams *et al.* 2001, o clado *Lophiaris*, *sensu* Chase y Palmer 1992) es variable. Sin embargo, los caracteres anatómico-foliare de las especies de los subgrupos I"A", I"B" y I"C", consideradas como parte del clado *Trichocentrum*, son más similares; tienen hojas distintivas con un mesófilo grueso, grandes células con engrosamientos secundarios espiralados en el mesófilo, sin hipodermis ni células buliformes y una baja proporción de haces vasculares en la zona central. Por otro lado, las especies del grupo II se caracterizan por tener hojas con un mesófilo delgado, hipodermis adaxial, células buliformes adaxiales y una alta proporción de haces vasculares en la zona central. Sin embargo, *O. ampliatum*, *O. pulvinatum*, *Palumbina candida*, *Psychopsis papilio* y *Rossioglossum grande*, originalmente integrantes del clado *Lophiaris* (*sensu* Chase y Palmer 1992), tienen características anatómico-foliare más similares entre ellas, pero diferentes a las de las especies del grupo I. De esta comparación se concluye que los caracteres anatómicos ahora presentados están en acuerdo con la filogenia molecular propuesta por Williams *et al.* (2001), ya que apoyan las relaciones filogenéticas de algunos miembros de la subtribu Oncidiinae y del clado *Trichocentrum*. Se detectaron caracteres que pueden considerarse diagnósticos para grupos de especies que deberán confirmarse al estudiar un mayor número de especies de *Trichocentrum* y géneros relacionados.

#### LITERATURA CITADA

- Chase, M.W. 1987. Systematic implications of pollinarium morphology in *Oncidium* Sw., *Odontoglossum* Kunth, and allied genera (Orchidaceae). *Lindleyana* 2: 8-28.
- Chase, M.W. & J.D. Palmer. 1989. Chloroplast DNA systematics of the lilioid monocots: feasibility, resources, and an example from the Orchidaceae. *Amer. J. Bot.* 76: 1720-1730.
- Chase, M.W. & J.D. Palmer. 1992. Floral morphology and chromosome number in subtribe Oncidiinae

- (Orchidaceae): evolutionary insights from a phylogenetic analysis of chloroplast DNA restrictions site variation. Pages 324-339 in P.S. Soltis, D.E. Soltis, and J.J. Doyle (eds.), *Molecular Systematics of Plants*. Chapman and Hall, New York.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Dioscorides Press, Portland, Oregon.
- Garay, L.A. & J.E. Stacy. 1974. Synopsis of the genus *Oncidium*. *Bradea* 1: 393-424.
- Königer, W. 1997. *Stilifolium* - a new name for the section *Cebolletae* of the genus *Oncidium* as a new genus in Subtribe Oncidiinae. *Arcula* 7:186-190.
- Rohlf, F. J. 1993. NTSYS. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. versión 1.80. New York.
- Sandoval-Zapotitla & T. Terrazas. 2001. Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Lindleyana* 16(2): 81-93.
- Sneath, P. H. A. & R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman and Co. San Francisco, California.
- Williams, N.H. & R.L. Dressler. 1973. *Oncidium* species described by Jacquin and the typification of *Oncidium*. *Taxon* 22: 221-227.
- Williams, N.H. et al. 2001. Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtochilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae).

**Esthela Sandoval** recibió su Licenciatura en 1985 y su Maestría en 1999, en la Facultad de Ciencias, UNAM. Desde 1982 estudia la anatomía vegetativa de géneros de *Arecaceae*, *Amaranthaceae*, *Cactaceae* y *Orchidaceae*. A partir de 1982 es académica del Instituto de Biología de la UNAM y desde 1989 es responsable del Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico. Ha impartido diversos cursos y cátedras en la Facultad de Ciencias de la UNAM, publicado trabajos anatómicos y se encuentra preparando un libro sobre Técnicas Histológicas. Ella vive en la Ciudad de México con su esposo Alejandro y su hija Tania Gabriela.

## ANATOMÍA VEGETATIVA DE *MEXIPEDIUM XEROPHYTICUM* (SOTO, SALAZAR & HÁGSATER) V. A. ALBERT & M. W. CHASE Y GÉNEROS RELACIONADOS (ORCHIDACEAE, CYPRIPEIDIOIDEAE)

ESTHELA SANDOVAL<sup>1,3</sup>, TERESA TERRAZAS<sup>2</sup>, GERARDO SALAZAR<sup>1</sup>,  
ALEJANDRO VALLEJO<sup>1</sup> & BÁRBARA ESTRADA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México  
A.P. 70-614. C.P. 04510. Coyoacán, D.F. México

<sup>2</sup>Programa de Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillos, 56230 Estado de México, México

<sup>3</sup>Autor para correspondencia: esz@ibiologia.unam.mx

La subfamilia Cypridioideae incluye los géneros *Cypripedium*, *Selenipedium*, *Phragmipedium*, *Paphiopedilum* y *Mexipedium* (Albert 1994). Este último recién identificado como género monoespecífico, xerofítico, de hábito rupícola y endémico de Oaxaca, México (Albert y Chase 1992). Numerosos trabajos con diversos enfoques, se han publicado sobre la anatomía vegetativa descriptiva y sistemática de los primeros cuatro géneros (Albert 1994, Arditti 1992, Atwood y Williams 1978, 1979; Lawton *et al.* 1992, Pridgeon 1981, 1986, 1987; Pridgeon *et al.* 1983, Rosso 1966, Williams 1979). Sin embargo, la anatomía de *Mexipedium xerophyticum* no había sido elaborada.

El presente estudio tiene la finalidad de presentar la descripción anatómica de los órganos vegetativos maduros de *Mexipedium xerophyticum*; dar una interpretación ecológica de algunos caracteres anatómicos y compararlos con los datos anatómicos previamente presentados para los otros géneros de la misma subfamilia. Se fijaron muestras de hoja, estolón y raíz de *M. xerophyticum* (G. Salazar 3740) en una solución de Formol-Alcohol-Ácido acético-Agua, para procesarlas según las técnicas histológicas convencionales de inclusión en parafina. Se analizaron 43 caracteres cualitativos y cuantitativos de los tejidos dérmico, fundamental y vascular de cada órgano. Las observaciones y fotomicrografías se realizaron en un fotomicroscopio Axioskop-Carl Zeiss, las mediciones realizadas se tomaron con un ocular micrométrico adaptado al microscopio. Las imágenes obtenidas fueron digitalizadas y posteriormente editadas con el progra-

ma Paint Shop Pro 7.5. Los detalles de velamen y exodermis de la raíz fueron observados en microscopio electrónico de barrido.

La descripción anatómica de esta especie incluye caracteres cualitativos, los valores cuantitativos registrados representan la media aritmética de 20 mediciones en cada carácter. Estos resultados fueron comparados con los datos de otros autores para el resto de los géneros de Cypridioideae.

Los caracteres anatómicos distintivos de *Mexipedium xerophyticum* son: a nivel de la hoja, células de la epidermis abaxial no diferenciadas en costales e intercostales, una vena central inconspicua y ausencia de células endodermiales en la vaina de esclerénquima de los haces vasculares; a nivel de la raíz la presencia de tilosomas de tipo esponjoso. La mayoría de los caracteres anatómicos de *M. xerophyticum* se interpretan como xeromórficos, lo que le permite resistir ambientes con alto estrés hídrico fisiológico o ambiental. Estos caracteres xeromórficos son: posición erecta de la hoja, tamaño reducido de la hoja, textura coriácea, presencia de pequeñas escamas y placas cerosas así como una cutícula gruesa, estomas sólo en superficie abaxial y semihundidos, abundantes pero pequeños, con rebordes cuticulares externos a manera de collar cuticular formando una cámara aislante por encima del estoma. Se ha establecido que estas cavidades hiperestomáticas reducen la transpiración al incrementar la vía a lo largo de la cual el vapor de agua debe difundir para dejar las hojas y atrapar el aire húmedo estancado fuera del



poro estomático. El desarrollo de estos rebordes cuticulares parecen predominar en hábitats secos (Sinclair 1987). Grandes células epidérmicas adaxiales con paredes engrosadas, especializadas para el almacenamiento de agua, y una cutícula gruesa también son adaptaciones a condiciones xéricas (Arditti 1992).

En la raíz, como caracteres xeromórficos, tenemos: abundantes tricomas; velamen con un elevado número de estratos, numerosas perforaciones entre sus paredes propiciando que el transporte del agua hacia los tejidos internos sea más eficiente y permitiendo el paso libre al aire, agua o nutrientes a través del tejido. Tilosomas de tipo esponjoso, exodermis y endodermis con células de paredes muy engrosadas, fuertemente lignificadas y una médula parenquimática son otros caracteres que permiten la adaptación de las especies a ambientes secos.

*Mexipedium xerophyticum* crece a nivel del suelo, donde la incidencia de luz suele ser escasa y difusa. La presencia de micropapilas como ornamentaciones epidérmicas permite una mejor captación de luz por diferentes ángulos oblicuos; las hojas están erguidas, por lo que la mayor captación de luz se lleva a cabo en la superficie abaxial y es aquí donde se observó un mejor desarrollo de micropapilas. Las células parenquimáticas del extremo abaxial del mesófilo son las que tienen mayor número de cloroplastos. Estos dos caracteres parecen ser una ventaja adaptativa para una mayor y más eficiente actividad fotosintética. Esta posición de las hojas se debe al desarrollo de estructuras que permiten un soporte mecánico adicional, al mismo tiempo resistir fuertes vientos a los que está expuesta la planta. Esto es posible mediante el desarrollo de paredes anticlinales gruesas en las células epidérmicas, un número relativamente alto de haces vasculares por milímetro, y cada haz con una vaina de esclerenquima en ambos polos. Además de la resistencia mecánica, el mayor número de haces permite un mayor y más eficiente transporte hídrico en la planta, necesario para responder a cortos períodos de disponibilidad de agua. La presencia de abundantes cristales de oxalato de calcio en el mesófilo de la hoja y en la médula del estolón se debe a que *Mexipedium xerophyticum* es una planta que crece en

suelos rocosos con alto contenido de carbonatos y calizas.

Albert y Pettersson (1994) mencionan que las similitudes moleculares y morfológicas entre *Paphiopedilum sensu stricto*, *Phragmipedium* y *Mexipedium* son más prominentes que sus diferencias. A partir del análisis anatómico, se puede afirmar que estas mismas relaciones de similitud son encontradas entre los tres géneros. Los caracteres compartidos por estos tres géneros son: hojas gruesas, vernación conduplicada, venas laterales inconspicuas, células epidérmicas adaxiales no diferenciadas como costales e intercostales, células epidérmicas con paredes anticlinales rectas, células epidérmicas con paredes tangenciales externas gruesas, grandes células en epidermis adaxial, hojas hipostomáticas, presencia de micropapilas en la epidermis abaxial de alguna de sus especies, menor proporción de mesófilo en la hoja, raíz carnosa, velamen de tipo *Calanthe*, más de cuatro estratos en el velamen, presencia de hongos filamentosos en el velamen; ningún contenido evidente en las células del córtex y de 8 a 17 arcos en el tejido vascular de la raíz. Además *Mexipedium* comparte con *Phragmipedium* la presencia de una cutícula gruesa, ausencia de tricomas y la presencia de tilosomas aunque también están presentes en *Paphiopedilum fairrieanum*. *Mexipedium* comparte con *Selenipedium* la ausencia de hojas teseladas, presencia de un sólo estrato en la endodermis de la raíz y células de la endodermis con engrosamientos del tipo U. *Mexipedium* comparte con *Cypripedium* la ausencia de hojas teseladas y la presencia de células del periciclo con paredes delgadas (excepto en *C. irapeanum*).

#### LITERATURA CITADA

- Albert, V. A. 1994. Cladistic relationships of the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae) from congruent morphological and molecular data. *Lindleyana* 9: 115-132.
- Albert, V. A. & M. W. Chase. 1992. *Mexipedium*: a new genus of slipper orchid (Cypripedioideae: Orchidaceae). *Lindleyana* 7: 172-176.
- Albert, V. A. & B. Pettersson. 1994. Expansion of genus *Paphiopedilum* Pfitzer to include all conduplicate-leaved slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae). *Lindleyana* 9: 133-139.

- Arditti, J. 1992. Anatomy. *In*: J. Arditti (ed.). Fundamentals of Orchid Biology. J. Wiley and Sons, Inc. New York. 691 pp.
- Atwood, J. T. & N. H. Williams, F. L. S. 1978. The utility of epidermal cell features in *Phragmipedium* and *Paphiopedilum* (Orchidaceae) for determining sterile specimens. *Selbyana* 2: 356 - 366.
- Atwood, J. T. & N. H. Williams, F. L. S. 1979. Surface features of the adaxial epidermis in the conduplicate-leaved Cyripedioideae (Orchidaceae). *J. Linn. Soc. (Bot.)* 78: 141-256.
- Lawton, J. R., E. F. Hennessy & T. A. Hedge. 1992. Morphology and ultrastructure of the leaf of three species of *Paphiopedilum* (Orchidaceae). *Lindleyana* 7: 199-205.
- Ledoux, M. 1996. The diminutive *Phragmipedium xerophyticum*. *Orchid Digest*. 60: 122-128.
- Pridgeon, A. M. 1981. Absorbing trichomes in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 68: 64-71.
- Pridgeon, A. M. 1986. Anatomical adaptations in Orchidaceae. *Lindleyana* 1: 90- 101.
- Pridgeon, A. M. 1987. The velamen and exodermis of orchid roots. *In*: J. Arditti (ed.). *Orchid Biology: Reviews and Perspectives IV*. Comstock Publishing Associates. Cornell University Press. Ithaca, New York. 139-192.
- Pridgeon, A.M., W.L. Stern & D.H. Benzing. 1983. Tilosomes in roots of Orchidaceae: Morphology and systematic occurrence. *Amer. J. Bot* 70: 1365-1377.
- Rosso, S.W. 1966. The vegetative anatomy of the Cyripedioideae (Orchidaceae). *J. Linn. Soc. (Bot.)* 59: 309-341.
- Sinclair, R. 1987. Water relations in Orchids. *In*: J. Arditti (ed.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives V*. Comstock Publ. Assoc. Cornell University Press. Ithaca, New York. 63-119.
- Soto, M.A., G.A. Salazar & E. Hágsater. 1990. *Phragmipedium xerophyticum*, una nueva especie del sureste de México. *Orquídea (Méx.)* 12:1-10.
- Williams, N. H. 1979. Subsidiary-cells in the Orchidaceae: their general distribution with special reference to development in the Oncidieae. *J. Linn. Soc. (Bot.)* 78: 41- 66.

**Esthela Sandoval** recibió su Licenciatura en 1985 y su Maestría en 1999, en la Facultad de Ciencias, UNAM. Desde 1982 estudia la anatomía vegetativa de géneros de Arecaceae, Amaranthaceae, Cactaceae y Orchidaceae. A partir de 1982 es académica del Instituto de Biología de la UNAM y desde 1989 es responsable del Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico. Ha impartido diversos cursos y cátedras en la Facultad de Ciencias de la UNAM, publicado trabajos anatómicos y se encuentra preparando un libro sobre Técnicas Histológicas. Ella vive en la Ciudad de México con su esposo Alejandro y su hija Tania Gabriela.

## TOWARD A PHYLOGENY OF MAXILLARIINAE ORCHIDS: MULTIDISCIPLINARY STUDIES WITH EMPHASIS ON BRAZILIAN SPECIES

RODRIGO B. SINGER & SAMANTHA KOEHLER

Departamento de Botânica, I.B., Universidade Estadual de Campinas  
Campinas, SP, Brazil, 13083-970. rbsinger1@yahoo.com

It has been demonstrated that the neotropical subtribe Maxillariinae comprises a well-supported monophyletic orchid group, according to cladistic analyses of nuclear and chloroplast DNA regions (Whitten *et al.* 2000). The results presented by Whitten *et al.* (2000) brought to light significant changes concerning the delimitation of the subtribe Maxillariinae. First, in order to avoid the description of an additional subtribe within the Maxillarieae to place the genus *Xylobium* Lindl., orchids formerly assigned to the subtribes Lycastinae and Bifrenariinae (Dressler 1993), including *Xylobium*, were merged into a broader Maxillariinae. This taxonomic decision is also supported by floral and vegetative characters. Second, it has been demonstrated that *Maxillaria* Ruiz & Pav., by far the largest genus in the subtribe, is polyphyletic, since species of *Cryptocentrum* Benth., *Chrysocycnis* Linden & Rchb.f., *Mormolyca* Fenzl and *Trigonidium* Lindl. appeared nested within *Maxillaria* (M. Whitten and N. Williams, pers. comm.). Once again, this seems to be a very reasonable finding, since *Maxillaria* as currently accepted comprises plants with extremely dissimilar vegetative architectures.

In order to contribute with the reevaluation of the generic boundaries within the subtribe Maxillariinae (*sensu* Whitten), a team of Brazilian researchers, including molecular and field biologists as well as chemists has been brought together in a multidisciplinary project. Our goals are (1) to conduct morphological studies of vegetative and flower features of representative species; (2) to determine the chemical structure of flower rewards and fragrances of representative species; (3) to perform pollination and breeding system studies with representative species and; (4) to perform sequencing of multiple DNA regions (nrITS,

*trnL-F*, *matK*, *atpb*) of Brazilian Maxillariinae species with emphasis on Brazilian endemic groups, in collaboration with W.M. Whitten and N.H. Williams (Florida Museum of Natural History, University of Florida, U.S.A.). Here we present a brief account of the results of morphological studies, with emphasis on variability of flower features, especially pollinarium morphology, among different alliances of Brazilian Maxillariinae species. Infrageneric classification into alliances follows Pabst & Dungs (1977).

**Acquisition of specimens.** The existence of two large living orchid collections in the state of São Paulo, located at the "Instituto de Botânica de São Paulo" and at the "Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz" has allowed the collection of samples for DNA studies as well as of fresh flowers for morphological studies. The cultivation of plants also makes possible the observation and comparison of the vegetative architecture of different species. Another advantage of such complete living collections is the possibility to conduct breeding system studies as well as to observe eventual pollinators, as many bee species occur in the area of the collections. Voucher materials of the individuals sampled are being deposited at the SP and UEC herbaria.

**Morphological features.** Vegetative features are known to present large variation within the Maxillariinae. Plants may or may not bear pseudobulbs and the rhizome, when present, may be long and apparent or extremely short. The number of leaves may vary from one to three in Brazilian species. Flower features are quite conservative. The lip is articulated (rarely fused) to the base of the column. The anther is incumbent and holds a pollinarium with four pollinia. The pollinarium always bears a well-

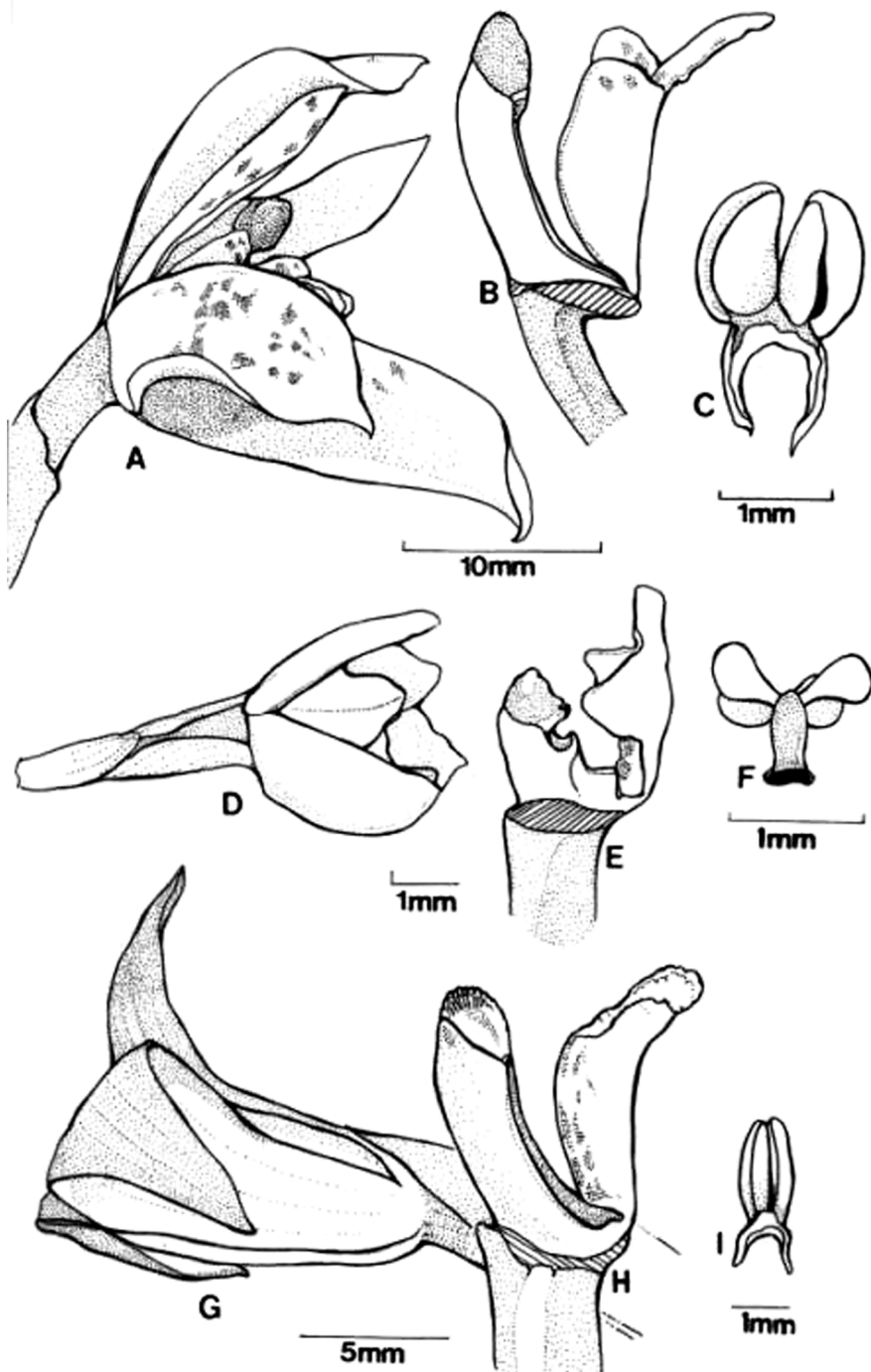


Figure 1. Examples of studied taxa of Maxillariinae. A-C. *Maxillaria picta* Hook. A. Flower in lateral view. B. Column, with lip hinged at its base. C. Pollinarium. D-F. *Maxillaria parviflora* (Poepp. & Endl.) Garay. D. Flower in lateral view. E. Lip and column in lateral view. F. Pollinarium. G-I. *Trigonidium obtusum* Lindl. G. Flower in lateral view. H. Column with lip hinged at its base. I. Pollinarium.

developed viscidium. Pollinium stalks (namely, tegular stipes) may or not be present.

Some vegetative and flower features appeared to be highly conservative within the *Maxillaria* alliances studied. Interestingly, these morphological conservative alliances appeared as monophyletic groups according to preliminary molecular data (M. Whitten, pers. comm.). The '*Maxillaria picta*' alliance comprises species whose pseudobulbs are always bifoliate. Besides, flowers of this orchid assemblage are generally rewardless and present pollinaria devoid of stipes. The '*Maxillaria madida*' alliance possesses a different and remarkable situation. Whereas vegetative features, such as the number and width of the leaves and length of the rhizome, are quite variable, the flowers present an extremely similar morphology. Up to this moment, species from this alliance have shown to be rewardless, the flowers being yellowish, brownish or vinaceous and displaying a shining, smooth labellum. Pollinarium structure is also very conservative within this alliance, with most species bearing a semilunar, often thickened viscidium, attached to large tegular stipes.

Moreover, both the '*Maxillaria discolor*' and the '*Maxillaria valenzuelana*' alliances present rewarding flowers (with trichomes, wax-like or resin-like compounds) and very similar pollinarium structure, since most species show a semilunar viscidium and large tegular stipes. Preliminary molecular data suggest these alliances are close related (M. Whitten, pers. comm.). They include species either with unifoliate pseudobulbs or without pseudobulbs, as *Maxillaria valenzuelana* (A. Rich.) Nash and *M. equitans* (Schltr.) Garay, respectively. Similar vegetative shifts (unifoliate pseudobulbs to pseudobulbless plants) have already been verified in well-supported monophyletic groups of Oncidiinae, namely the *Notylia-Macroclinium* and *Erycina-Psygmorchis* complexes (Williams *et al.* 2001). The loss of the pseudobulb in Maxillariinae may represent a heterochronic shift with retention of seedling morphological features (neoteny), as already suggested for Oncidiinae (Chase 1986).

**Reproductive biology.** Field observations by R.B. Singer indicate that Hymenoptera, especially Meliponinae bees, are the main pollinators of

Brazilian Maxillariinae. Flower, and particularly, the pollinarium structure are well suited for this kind of pollinators. The well-developed semilunar viscidium embraces the scutellum of the Hymenopteran pollinator when the insect retreats the flower. Such pollinarium deposition is ecologically significant, since the scutellum is a difficult place for the insects to clean. Noteworthy, *Maxillaria* species that present round, pad-like viscidia, such as *Maxillaria parviflora* (Poepp. & Endl.) Garay, have pollinaria deposition on the face of their pollinators. To date, we have recorded bumble-bee and Euglossine pollination in *Bifrenaria harrisoniae* (Hook.) Rchb.f., ant and bee (Meliponini) pollination in *M. parviflora*, and Meliponinae and wasp pollination in several species of the '*Maxillaria picta*' alliance. Pollination through pseudocopulation mediated by *Plebeia* (Meliponinae) drones was recently confirmed in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Singer 2002). We also have found nectar in *M. rigida* Barb. Rodr. and *M. parviflora*.

In the past, flower features have been widely used in orchid taxonomy. However, it seems that vegetative features are less subject to homoplasy in the subtribe Maxillariinae and we should pay more attention to these characters in phylogenetic studies. A good example of this is the old concept of *Oncidium* Sw. Until a few years ago, *Oncidium* was a vegetative diverse genus with more than 400 species, composed of plants with more or less similar flowers (predominantly yellow, with some brown spotting, quite often bearing complex elaiophores). Williams *et al.* (2001) have demonstrated that the genus *Oncidium*, as formerly circumscribed, represents a polyphyletic assemblage of plants defined by its morphologically similar flowers which are attractive to similar pollinators (mostly oil-gathering bees of family Apidae). Instead, "*Oncidium*-like" flowers have arisen several times in subtribe Oncidiinae (Williams *et al.* 2001).

**ACKNOWLEDGEMENTS.** Both authors acknowledge their advisor, Maria do Carmo E. Amaral, from the Botany Department of Universidade Estadual de Campinas, Brazil. This contribution was made possible through grants conferred by FAPESP (Fundação ao Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, processes 01/08958-1 and 02/02161-7) for both authors.

## LITERATURE CITED

- Chase, M.W. 1986. A reappraisal of the Oncidioid Orchids. *Syst. Bot.* 11 (3): 477-491.
- Dressler, R.L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press, Oregon.
- Pabst, G. & F. Dungs. 1977. *Orchidaceae Brasilienses* Vol. 2. Hildesheim, Brucke.
- Singer, R.B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): sexual mimicry and trap-flowers. *Ann. Bot. London* 89 (2): 157-163.
- Whitten, W.M., N.H. Williams & M.W. Chase. 2000. Subtribal and generic relationship of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. *Amer. J. Bot.* 87 (12): 1842-1856.
- Williams, N.H., M.W. Chase, T. Fulcher & W.M. Whitten. 2001. Molecular Systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtochylum*, *Erycina*, *Otoglossum* and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16(3): 113-139.

**Rodrigo Singer** is a post-doctoral researcher at the Department of Botany of Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), São Paulo, Brazil. Rodrigo has extensive field experience in Southeastern Brazil as well as with breeding systems and pollination biology studies of several Brazilian orchid groups. His current research activities involve phylogenetic, morphological, breeding systems and pollination biology studies of orchids from the subtribe Maxillariinae.

**Samantha Koehler** is a graduate student at the same institution. She recently completed a phylogenetic study of *Bifrenaria*. Her dissertation involves phylogeny, systematics and diversification of the Brazilian *Maxillaria madida* complex.

## MOLECULAR PHYLOGENETICS AND GENERIC CONCEPTS IN THE MAXILLARIEAE (ORCHIDACEAE)

NORRIS H. WILLIAMS<sup>1</sup> & W. MARK WHITTEN

University of Florida, Florida Museum of Natural History. Gainesville FL 32611-7800. USA.

orchid@flmnh.ufl.edu • whitten@flmnh.ufl.edu

<sup>1</sup>Author for correspondence

Tribe Maxillarieae account for approximately 10% (>2800 species) of Orchidaceae and are a major component of the Neotropical epiphytic flora. Pollination systems include 1) male euglossine-bee fragrance rewards in four subtribes, 2) oil reward systems and mimicry in some groups, 3) nectar rewards in a wide range of taxa, and 4) pseudocopulation in some Maxillariinae and some Oncidiinae. Generic and subtribal limits have been chaotic. Current, ongoing taxonomic treatments offer little hope of stability unless the revisions are based upon well-sampled molecular and morphological cladograms. Several classically defined genera are widely recognized as being polyphyletic. Our delimitations of subtribes and genera in these advanced Neotropical groups are based on well supported cladograms from combined analyses of nuclear (ITS) and plastid (*matK*, *trnL-F* intron-spacer, and the *atpB-rbcL* intergenic spacer) sequences.

We recognize subtribes Coeliopsidinae, Maxillariinae, Oncidiinae, Stanhopeinae, Zygopetalinae, and a monotypic Eriopsidinae sister to these other subtribes. Subtribes Coeliopsidinae and Stanhopeinae are pollinated exclusively by male euglossine bees utilizing many different sites for pollinarium placement; the molecular phylogeny agrees closely with traditional generic limits based on morphology. Maxillariinae, Oncidiinae, and Zygopetalinae have a variety of pollination systems and classifications based on floral morphology disagree with molecular phylogenies, probably because of convergence to pollination-related floral characters. Oncidiinae are one of the most diverse groups in the Orchidaceae in terms of floral diversity and pollination biology, chromosomal numbers, and vegetative morphology. The subtribe has more than 1,000 species (possibly as many as 1,800 species) distributed in over 75 currently recognized genera.

In the Oncidiinae we have sequenced 545 species representing 84 generic concepts for one sequence (ITS) and 240 species for two additional sequences (*matK* and *trnL*). We have also sequenced 114 taxa for the *atpB-rbcL* intergenic spacer. We investigated the usefulness of elongation factor 1-alpha as a potentially useful region for species level questions, but it appears to be a gene family and while it might be useful in understanding intrageneric relationships, it proved to be not useful at the generic level. The external transcribed spacers of *Tolumnia* and *Erycina* were amplified with 26S and 18S primers, followed by cloning of the PCR products and sequencing with the 18S primer (reverse). Technically, the sequences are good, but the variation is too great for alignment at the interspecific level. ETS may be useful at intraspecific levels in *Tolumnia*, but more work is needed.

The formerly recognized subtribes Lockhartiinae, Pachyphyllinae, Ornithocephalinae, and Telipogoninae are all embedded in the Oncidiinae and form a well supported clade.

We have done combined analyses of a four region matrix for the *Oncidium*/*Odontoglossum* complex, and find that by using all four regions combined the support and resolution is greatly increased.

The results confirm the non-monophyletic nature of *Oncidium* and suggest *Chamaeleorchis*, *Cochlioda*, *Collarestuartense*, *Mexicoa*, *Miltonioides*, *Odontoglossum*, *Sigmatostalix*, *Solenidiopsis*, and *Symphyglossum* could be merged into *Oncidium*. However, more extensive work on ITS in this group shows several clades in the *Oncidium*/*Odontoglossum* group:

1. a broad *Oncidium*, including *Miltonioides*, *Mexicoa*, *Sigmatostalix*, one species of *Odontoglossum*, and the majority of *Oncidium* species sampled so far;

2. the *Oncidium obryzatum* (correctly *Oncidium klotzschianum* Rehb.f.) group of three species;
3. *Cochlioda*, *Solenidiopsis* and closely related species of the *Odontoglossum multistellare* group (= *Collarestuartense*);
4. two broad *Odontoglossum* groups of species groups, including *Symphyglossum* and the majority of *Odontoglossum* species sampled so far;
5. a one species clade of *Odontoglossum povedanum*;
6. a two species clade of an undescribed species from Panama (provisionally called *Oncidium zelenkoanum*) and *Oncidium obryzatoides*;
7. a clade of the *Oncidium fuscatum* alliance of six species of *Oncidium* (= *Chamaeleorchis* Senghas & Lückel);
8. a clade of the *Oncidium cheirophorum*/*Oncidium ornithorrhynchum* group of species;
9. the clade of the *Oncidium heteranthum* group of species; and
10. *Oncidium excavatum*, an anomalous species in many respects.

The combined plastid and nuclear data show the best resolution into recognizable groups, although even this demonstrates the necessity of completing the data matrix and filling in missing clades from the larger 545 taxon ITS only matrix. At this stage we foresee the following possibilities: a core *Oncidium* (including *Mexicoa* and *Miltonioides*); *Sigmatostalix*; a new genus for the *Oncidium zelenkoanum* clade;

recognizing *Collarestuartense* for the *Odontoglossum multistellare* clade; a core of two groups in *Odontoglossum* (including *Symphyglossum*); the *Oncidium fuscatum* clade (*Chamaeleorchis*); a new genus for the *Oncidium cheirophorum* clade; a new genus for the *Oncidium heteranthum* group; and probably a monotypic genus for *Oncidium excavatum*.

Based on well supported cladograms, we have made numerous taxonomic changes: 1) the 'mule-ear' (*Lophiaris*) and 'rat-tail' (*Cohniella*) oncidiums were transferred into *Trichocentrum*; 2) *Psymmorhis* and *Oncidium crista-galli* were transferred to *Erycina*; 3) *Oncidium* section *Serpentia* was transferred to *Otoglossum*; 4) *Oncidium* sect. *Cucullata* was transferred to *Caucaea*; 5) *Cyrtochilum* was redefined to include *Dasyglossum*, *Neodryas*, *Rusbyella*, and *Trigonochilum* and is distinct from the core group of *Oncidium*; 6) *Anneliesia* was included in *Miltonia*; 7) *Tolumentia* includes *Braasiella*, *Gudrunia*, *Hispaniella*, and *Olgasis*. On the basis of molecular data for four sequence regions we have segregated three new genera from *Oncidium*: *Chelyorchis*, *Cyrtochiloides*, and *Zelenkoa* for species previously included in *Oncidium*.

With the results we have to date, we feel more comfortable segregating several clades as distinct genera, rather than lumping everything into *Oncidium*. We feel that this approach will be accepted by the public and other workers rather than other possible courses of action.

**Norris H. Williams**, Ph.D., is Curator of Vascular Plants at the University of Florida, Florida Museum of Natural History Herbarium, and has worked on floral fragrances, pollination biology, and the systematics and evolution of orchids. He is currently spending most of his time on studies of the molecular systematics of Neotropical Orchidaceae.

**W. Mark Whitten**, Ph.D., is Senior Biologist at the University of Florida Herbarium and has worked on floral fragrances, pollination biology, and systematics and evolution of orchids. He is also currently spending most of his time on studies of the molecular systematics of Neotropical Orchidaceae.



1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

*Sesión / Session*

**ESTUDIOS DE POBLACIONES**

***POPULATION STUDIES***

## EL ÁREA FOTOSINTÉTICA COMO INDICADOR DE LA PRODUCCIÓN DE FLORES EN *LEPANTHES SANGUINEA*

MARÍA M. AGOSTO PEDROZA & RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1</sup>

Universidad de Puerto Rico – Humacao, Departamento de Biología - 100 carr. 908, Humacao, Puerto Rico 00791.

<sup>1</sup>Autor para correspondencia: raymond@hpcf.upr.edu

En general, la reproducción en las orquídeas está limitada por el acceso a los polinizadores; (Tremblay, Ackerman, Zimmerman & Calvo, en revisión); no obstante, la reproducción en la mayoría de las plantas está limitada por el acceso a recursos. Hay algunos ejemplos de limitación por recursos en orquídeas; así en la orquídea *Myrmecophila tibicinis* las plantas que son “fertilizadas” por desechos de hormigas realizan un mayor esfuerzo reproductivo (Rico-Gray *et al.*, 1989). Además, Mattila (2000) observó que la producción de frutos en *Platanthera bifolia* está limitada por el acceso al agua. Pero, en general, cuando se observa limitación por recursos en orquídeas el efecto no es inmediato, sino a largo plazo (múltiples años). El efecto de reducir los recursos a las plantas es una reducción en producción de frutos, flores y crecimiento en los años subsiguientes, no de inmediato (Montalvo & Ackerman 1987, Zimmerman & Aide 1989, Calvo 1990, Snow & Whigham 1989, Primack & Hall 1990). El acceso a luz para fotosíntesis podría ser uno de los factores limitantes para la reproducción en orquídeas. El área fotosintética puede ser un factor importante en la determinación de la presencia de flores en una planta. En este trabajo determinamos el área fotosintética en treinta plantas de la orquídea *Lepanthes sanguinea* y evaluamos su relación con el esfuerzo reproductivo.

Para esta investigación se utilizaron treinta plantas de *Lepanthes sanguinea* Hook. Ésta se encuentra distribuida desde la Sierra de Cayey hasta las Montañas de Luquillo en Puerto Rico (Ackerman 1995). Las plantas se estudiaron *ex situ* creciendo en invernaderos, donde las temperaturas varían entre 21 y 27 C° y la humedad entre 70% y 95%.

El área fotosintética se midió con un papel milimetrado (mm<sup>2</sup>) en forma de transparencia. A cada planta se le sumó el área fotosintética de todas las hojas para

obtener el área fotosintética total. Por medio de esto pudimos comparar el área fotosintética de las hojas con la producción total de flores de cada planta, para determinar si existe una correlación. Las hojas con evidencia de inflorescencias (verdes o secas) se consideraron como hojas con flores. Para determinar si hay diferencia en el área fotosintética entre hojas con flores y hojas sin flores se utilizó una prueba de t- no pareada (Zar 1999). En esta prueba, el área fotosintética total fue convertida a logaritmo del área para reducir la heterocedasticidad y normalizar los datos. Se hizo una regresión lineal para comprobar si hay una correlación entre el número de hojas con flores y el área total de hojas.

El área fotosintética está directamente relacionada con la producción de flores. El área mínima de hojas con flores es 60.0 mm<sup>2</sup>. Los resultados muestran un área promedio de 2.569 mm<sup>2</sup> para las hojas con flores y de 1.897 mm<sup>2</sup> para las hojas sin flores. El área fotosintética de las hojas con flores es en promedio 35% mayor que el área de las hojas que no producen flores (t-no pareada, p < 0.0001).

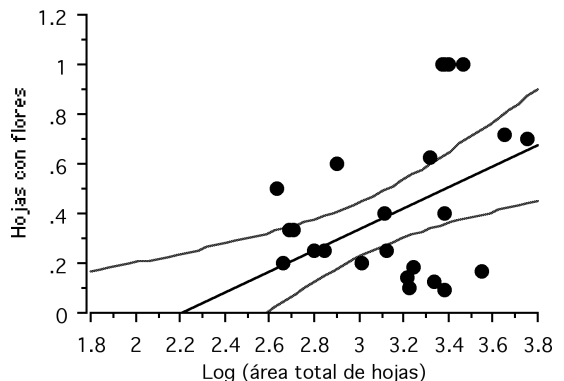


Figura 1. Correlación entre el área fotosintética y el número de flores producidas en *Lepanthes sanguinea*,  $y = -0.939 + 0.425x$ ;  $r^2 = 0.30$ ;  $p < 0.002$ .

La regresión lineal muestra una correlación significativa y positiva entre el área fotosintética total de la planta y el área fotosintética con flores ( $S^2=0.967$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0.002$ ). La regresión lineal explica solamente parte de la varianza ( $r^2 = 0.30$ ). Según estas pruebas, el área fotosintética parece estar directamente relacionada con la presencia de flores y es un buen indicador del esfuerzo reproductivo de la orquídea.

En general, la estructura más importante para la productividad de una planta son las hojas (Ticha 1985). El área fotosintética parece ser un buen indicador de la presencia de flores de *L. sanguinea*. Stephenson (1981) encontró que las plantas con hojas grandes tienen una superficie fotosintética mayor y, por tanto, tienen una gran capacidad de relocalizar energía para la reproducción. En esta investigación pudimos constatar que las plantas con mayor área fotosintética tenían mayor número de flores. Algunas plantas tienen más hojas por área fotosintética que otras; esto puede deberse a diferencias estacionales (Kindlmann & Balounová 1999), estrés ambiental (Primack *et al.* 1994) o a diferencias genéticas. Si el área fotosintética es menor, esto podría causar un efecto en la calidad de las flores y menor duración de vida de hojas o plantas (Primack *et al.* 1994). O sea, la disponibilidad de recursos, en este caso la luz para fotosintetizar y el tamaño de área que la recibe, es uno de los factores que indican que la reproducción está limitada por recursos. En otras especies de *Lepanthes* la producción de frutos y la remoción de polinios en poblaciones naturales está directamente correlacionada con la producción de flores (ver Fernández *et al.* 2003). Esto significa que el tamaño de las hojas no es el único factor indicador de la presencia de flores o de producción de frutos, ya que puede haber otros factores o recursos que afectan la presencia de flores en *Lepanthes sanguinea*, como son nitrógeno y fosfato, dos elementos limitantes en el crecimiento de las plantas.

#### LITERATURA CITADA

Ackerman, J.D. 1995. Orchids of Puerto Rico and the

- Virgin Islands. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- Calvo, R.N. 1990. Inflorescence size and fruit distribution among individuals of three orchid species. *Amer. J. Bot.* 77: 1378-1381.
- Fernández, D. S., R. L. Tremblay, J. D. Ackerman, E. Rodríguez & L.-N. López. 2003. Reproductive potential, growth rate and light environment in *Lepanthes rupestris* Stimson. *Lankesteriana* 7: 73-76.
- Kindlmann, P. & Z. Balounová. 1999. Energy partitioning in terrestrial orchids - a model for assessing their performance. *Ecol. Model.* 119: 167-176.
- Mattila, E. 2000. The effect of water stress and pollen availability on reproductive success of *Platantheris bifolia* (Orchidaceae). *Avhandlingar utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Matematisk-Naturvidenskapelig Klasse* 39: 83-90.
- Montalvo, A.M. & J.D. Ackerman. 1987. Limitation to fruit production in *Ionopsis utricularioides*. *Biotropica* 19: 24-31.
- Primack, R.B. & P. Hall 1990. Cost of reproduction in the Pink Lady's slipper orchid: a four year experimental study. *Amer. Nat.* 136: 638-656.
- Primack, R. B., S.L. Miao & K. R. Becker. 1994. Cost of reproduction in the Pink Lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*): defoliation, increased fruit production and fire. *Amer. J. Bot.* 81: 1083-1090.
- Rico-Gray, V., J.T. Barber, L.B. Thien, E.G. Ellgaard & J.J. Toney. 1989. An unusual animal-plant interaction: feeding of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae) by ants. *Amer. J. Bot.* 76: 603-608.
- Snow, A.A. & D.F. Whigham. 1989. Cost of flower and fruit production in *Tipularia discolor*. *Ecology* 70: 1286-1293.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Ticha, I. 1985. Ontogeny of leaf morphology and anatomy. In Z. Sestak (ed.), *Photosynthesis during leaf development*. W. Junk, Dordrecht. pp. 11-15.
- Zar, J. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Inc. 4th edition, New Jersey.
- Zimmerman, J.K. & T.M. Aide. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Amer. J. Bot.* 76: 67-73.

**María M. Agosto Pedroza** es estudiante de quinto año de Bachillerato en Biología con concentración en Manejo de Vida Silvestre, de la Universidad de Puerto Rico en Humacao. Esta es su primera experiencia en investigación. Sus aspiraciones futuras son continuar estudios graduados en biología, específicamente en el área de conservación.

## EFFECTO DE REMOCIÓN Y RELOCALIZACIÓN DE *LEPANTHES ELTOROENSIS* STIMSON, DESPUÉS DE UN HURACÁN

RAFAEL J. BENÍTEZ JOUBERT & RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1</sup>

Universidad de Puerto Rico – Humacao, Departamento de Biología - 100 carr. 908, Humacao, Puerto Rico 00791

<sup>1</sup>Autor para correspondencia: raymond@hpcf.upr.edu

La creación de un plan de manejo efectivo es de suma importancia para una especie amenazada de extinción. El huracán Georges (18 de septiembre de 1998) causó grandes cambios en la vegetación de la Sierra de Luquillo, Puerto Rico, a su pasaje por la isla. La orquídea *Lepanthes eltoroensis* se encuentra amenazada de extinción y está incluida en la lista federal de especies en peligro de extinción desde el 29 de noviembre de 1991. Uno de los efectos ambientales y estocásticos más sobresalientes de este bosque tropical son los huracanes, que causan defoliación y mortandad de gran número de árboles (Walker 1991). Después del huracán Georges, el servicio forestal deseaba reabrir las veredas, pero se encontró con un gran número de plantas de *L. eltoroensis* creciendo sobre los árboles caídos atravesando los senderos. Aprovechamos esta oportunidad para evaluar el efecto de remoción y relocalización de plantas como una estrategia para el manejo de esta especie en peligro de extinción, para mejorar su supervivencia después de huracanes futuros. El objetivo de la investigación es disminuir el efecto de la perturbación y maximizar la supervivencia y el éxito reproductivo de la orquídea. Las preguntas principales incluyen: ¿Es viable la relocalización de *L. eltoroensis* a otros árboles? ¿Cuál es el mejor lugar para trasplantarlas, árboles ocupados por orquídeas o árboles no ocupados? En otras palabras, ¿se pueden establecer nuevas poblaciones?

*Lepanthes eltoroensis* es una pequeña planta epífita que crece sobre varias especies de árboles y palmas. La tasa de reproducción de esta especie de *Lepanthes* es muy baja (Tremblay 1996, Tremblay & Ackerman 2001), lo cual podría hacer difícil el manejo de la misma. La orquídea está limitada al Bosque Nacional del Caribe conocido localmente como el Yunque, en la Sierra de Luquillo al este de Puerto Rico. La orquídea se encuentra en la asociación de vegetación de bosque enano que está localizada únicamente en las zonas de elevación máxima del bosque (700-1000

m). El área de estudio son las cercanías del Pico El Toro y del Cerro Cacique, en el Bosque Nacional del Caribe. Las poblaciones muestreadas se encuentran a ambos lados a lo largo de aproximadamente 5 km de las veredas de Tradewinds y del Cerro El Toro.

Se comenzó en junio del 2000 con la remoción de las plantas que se encontraban creciendo sobre los árboles caídos en ambas veredas. Las plantas fueron relocalizadas y marcadas con un número único. De cada árbol caído se tomó 50% de las plantas y éstas fueron relocalizadas sobre árboles que tenían una población de *L. eltoroensis*, el otro 50% fue relocalizado sobre árboles que no tuvieran plantas, pero cerca de un árbol ocupado. Cada planta fue marcada y clasificada por el tratamiento al cual era sometida. Además se identificaron sin manipulación todas las plantas encontradas en los árboles ya ocupados. En consecuencia, tenemos un diseño experimental no balanceado con tres tratamientos, un grupo control (plantas no removidas y árboles ocupados) y dos grupos experimentales (plantas removidas y relocalizadas sobre árboles ocupados, plantas removidas y relocalizadas sobre árboles no ocupados).

Se realizaron muestreos mensuales durante los primeros cinco meses, luego se realizaron cada 6 meses, hasta completar dos años de muestreo. Aquí se presentan los análisis del efecto de crecimiento de los dos primeros años en los tres tratamientos. Comparamos el crecimiento poblacional entre el primer muestreo y un año después, y luego entre el primero y el segundo año.

Las plantas fueron clasificadas en tres etapas dependiendo de su desarrollo: 1) plántulas: plantas pequeñas que no presentaban pecíolos, 2) juveniles: plantas que presentaban al menos una membrana leplantiforme en el pecíolo, sin ningún tipo de inflorescencia activa o inactiva, y 3) adultas: plantas bien desarrolladas que mostraban al menos una inflores-

cencia activa o inactiva. Los datos recopilados fueron organizados mediante el uso del programa Stat View 4.5. y Excel 2001. Mediante este programa se realizaron los análisis estadísticos generales.

Se utilizó el método de análisis de matrices poblacionales de Lefkovitch de etapas de vida para determinar si las poblaciones son estables. Se utilizó el programa Ramas Ecolab 2.0 para destacar el crecimiento poblacional intrínseco, la elasticidad y la longevidad de las etapas de vida (Akçakaya *et al.* 1999). El valor instantáneo de crecimiento poblacional,  $\lambda$  (lambda), que se obtiene por el análisis de matriz de Lefkovitch, se interpreta de la siguiente manera: cuando  $\lambda$  es igual a 1.0 la población es estable, cuando  $\lambda$  es mayor o menor que 1.0 la población está creciendo o decreciendo, respectivamente. Se asume que el valor de crecimiento de lambda es determinante y que el efecto estocástico demográfico, ambiental y temporal es mínimo. El análisis de elasticidad es para determinar cuál de los parámetros demográficos tiene un efecto mayor sobre el crecimiento poblacional. Este análisis puede ayudar a determinar una estrategia de manejo del organismo. La proporción de supervivencia, el cambio de etapas y el esfuerzo reproductivo están incluidos en el modelo. El esfuerzo reproductivo (producción de frutos) fue calculado dividiendo el número de frutos producidos cada año entre el número de plantas adultas en el año en curso. Se utilizó el mismo valor reproductivo para todas las poblaciones. Se observó que la supervivencia y el esfuerzo reproductivo están más correlacionados con la etapa de desarrollo de la planta que con su edad (Tremblay 2000, Tremblay & Hutchings 2003).

Se muestreó un total de 23 poblaciones, con 326 plantas en tres grupos: 209 de control (plantas no manipuladas); 51 removidas y trasladadas a árboles ocupados; 66 removidas y trasladadas a árboles no ocupados. Un total de 14 poblaciones corresponde a árboles ya ocupados con plantas, donde las orquídeas fueron relocalizadas, y 9 poblaciones a árboles que no estaban ocupados por la orquídea.

El valor reproductivo de las plantas del primer año es la mitad del valor del segundo año (número de reclutas = plántulas / número de adultos) ( $7/196 = 0.0357$  y  $12/141 = 0.0851$ ). El valor reproductivo es obtenido de forma indirecta, dado que no se atribuye

la producción de plántulas a alguna planta adulta en específico (Caswell 2001).

En el primer año, en las plantas que no fueron removidas se obtuvo una  $\lambda = 0.8942$  (IC 95%; 0.8237 - 0.9647); en el segundo año se obtuvo una  $\lambda = 0.9773$  (IC 95%; 0.9158 - 1.0388). En el grupo control se observó un aumento en la razón de crecimiento y supervivencia. Estos datos demuestran que las poblaciones de esta planta se encuentran en disminución a razón de 10.5% en el primer año y de 2.27% en el segundo año. En consecuencia, hay un cambio ambiental positivo entre el primer año y el segundo que no se debe a la manipulación de las orquídeas.

En cambio, en el tratamiento de plantas removidas y relocalizadas en árboles ocupados se obtuvo una  $\lambda = 0.6899$  (IC 95%; 0.5173-0.8625) en el primer año y una  $\lambda = 0.9232$  (IC 95%; 0.6569-1.1895) en el segundo año. En este tratamiento se observó una disminución de 31% en el primer año y de 7.7% en el segundo año. Finalmente, para las plantas que fueron relocalizadas en árboles que no tenían las orquídeas creciendo, en el primer año se obtuvo una  $\lambda = 0.8407$  (IC 95%; 0.7180-0.9634) y en el segundo año una  $\lambda = 0.9177$  (IC 95%; 0.7761-1.0593). Esto sugiere que las poblaciones de orquídeas relocalizadas en árboles no ocupados tienen una reducción poblacional anual de 16% en el primer año y de 8% en el segundo año.

En los tres tratamientos el valor mayor del intervalo de confianza de lambda supera el 1.0 en el segundo año, mostrando que el crecimiento poblacional podría ser estable. Esto es contrario a los resultados obtenidos en el primer año, cuando el rango del intervalo de confianza fue menor que uno y, en consecuencia, se demuestra que la pérdida de plantas en los tres tratamientos está disminuyendo.

La esperanza de vida varía para plántulas, juveniles y adultos. En general, la vida de las plántulas es de un año, independientemente del tratamiento o del período de muestreo. Los juveniles duran entre 1 y 6 años, y los adultos entre 3 y 15 años, dependiendo del tiempo y del grupo experimental. En consecuencia, la esperanza de vida de una planta es de 5 a 20 años, con un promedio cerca de 10 años.

El crecimiento de las poblaciones es muy sensible a los valores de probabilidad de supervivencia de los adultos, según el análisis de elasticidad. Por esto, es

primordial que se investigue cuáles son los factores ambientales que afectan la supervivencia y la reproducción de los adultos.

Claramente se observa que tanto en el grupo de control como en ambos tratamientos experimentales, las poblaciones aparentan estar alcanzando la estabilidad luego de haber sufrido la perturbación del huracán Georges. El mejoramiento en la supervivencia y la estabilidad poblacional en el segundo año está probablemente asociado con crecimiento del dosel y el aumento de humedad.

Comparando el crecimiento poblacional de los dos tratamientos con el del control es claro que la manipulación de las orquídeas es negativa en el primer año, pero después de dos años se observa un crecimiento poblacional estable y similar al control, sugiriendo que la relocalización de estas plantas es viable como mecanismo para aumentar el tamaño poblacional después de un huracán. Las plantas que se quedan sobre árboles caídos en medio de las veredas tienen poca probabilidad de sobrevivir. Este experimento se inició dos años después del huracán, cuando las plantas todavía vivas sobre los árboles caídos en las veredas eran mayormente adultas grandes o se encontraban en la parte ventral de los árboles, no expuestas al sol ni al viento, pero parecían sufrir de escasez de agua por tener las hojas secas.

Con este experimento se demuestra que el establecimiento de nuevas poblaciones es una estrategia viable para la conservación de esta orquídea. En más de un árbol donde se localizó la orquídea se observaron nuevas plántulas. Éstas pueden provenir de la producción de frutos de las plantas presentes o de

inmigrantes. La dispersión de las pequeñas semillas en general es poco exitosa aun en sitios muy cercanos (Tremblay & Ackerman 2001, Tremblay, Kapan & Ackerman-Mélendez, datos sin publicar). En trabajos futuros será necesario determinar cuál es el efecto directo de un huracán y determinar cuáles son los parámetros ecológicos (ambiente lumínico, humedad, presencia de musgos) que afectan la supervivencia de esta orquídea.

#### LITERATURA CITADA

- Akçakaya, H.R., M.A. Burgman & L.R. Ginzburg. 1999. Applied Population Ecology: Principles and Computer Exercises using Ramas Ecolab 2.0. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Caswell, H. 2001. Matrix Population Models: Construction, Analysis, and Interpretation, 2nd Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Tremblay, R.L. 1996. Sex in small population and evolutionary processes. Ph.D. University of Puerto Rico, Rio Piedras Campus. p. 136.
- Tremblay, R.L. 2000. Plant longevity in four species of *Lepanthes* (Pleurothallidinae: Orchidaceae). *Lindleyana* 15: 257-266
- Tremblay, R.L. & J.D. Ackerman. 2001. Gene flow and effective population size in *Lepanthes* (Orchidaceae): a case for genetic drift. *Biol. J. Linnean Soc.* 72: 47-62.
- Tremblay, R.L. & M.J. Hutchings. 2003. Population dynamics in orchid conservation: A review of analytical methods, based on the rare species *Lepanthes eltoroensis*. In K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett and P.J. Cribb (eds). *Orchid Conservation*. Natural History publications, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- Walker, R.L. 1991. Tree damage and recovery from Hurricane Hugo in Luquillo Experimental Forest, Puerto Rico. *Biotropica* 23: 379-385.

**Rafael J. Benítez Joubert** cursa estudios en la Universidad de Puerto Rico en Humacao, en el Departamento de Biología. Su campo de preparación es la biología con concentración en Manejo de Vida Silvestre. Su vida como estudiante de las ciencias naturales ha sido variada y rica en experiencias que le han ayudado en su formación como futuro científico. También pudo participar en el desarrollo de la propuesta de investigación para la realización de un inventario de las especies de camarones de los ríos del Bosque Estatal de Los Tres Picachos, en el pueblo de Jayuya. Trabajó como intérprete ambiental para el Fideicomiso de Conservación de Puerto Rico. Cada una de estas experiencias lo han ayudado a consolidar su formación como científico. Como planes futuros espera continuar con la ardua e interminable tarea que es la educación en ciencias naturales.

## PHENOTYPIC SELECTION IN *LEPANTHES RUPESTRIS* STIMSON

SOL TAÍNA CINTRÓN BERDECÍA & RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1</sup>

University of Puerto Rico at Humacao Potal station CUH, Department of Biology  
100 carr. 908, Humacao, Puerto Rico 00791

<sup>1</sup>Author for correspondence: raymond@hpcf.upr.edu

Natural selection is defined as a process in which a population has: variation among individuals, a strong relationship between a character and reproductive success (fitness differences) and character heritability (Endler 1986). Phenotypic selection on the phenotypes was estimated using regression techniques and expressed as the selection coefficients (Arnold & Lande 1983). We assume that character differences and phenotypic selection is heritable. The coefficients provide an estimate of direct selection and indirect selection acting through correlated characters, the linear (directional) or non-linear (disrupted and stabilizing) analysis and can be expressed in standard deviations units which can be compared within species and populations (O'Connell & Johnston 1998). The genus *Lepanthes* Sw. is an epiphytic or lithophyte taxon often limited to very small patchily distributed populations (Tremblay 1997a). This genus is distributed from the south of Mexico and the Antilles through the Andes and Bolivia, where a large proportions of the species are local endemics and distributed within very small geographical areas.

*Lepanthes rupestris* is a common lithophyte along rivers of the northwestern slopes of the Luquillo Mountains (Tremblay 1997). Plants have a thin stem, segmented lepanthiform sheaths and a solitary, heart-shaped leaf that bears one or two 5 mm flowers at a time in a sequential inflorescence. The sepals are yellow and the petals creamy yellow with two thin, vertical, crimson stripes at the margins (Morales 1977). The middle lobe of the lip is distinct, short, blunt, pubescent, and seems forked when looked at from the side (Stimson 1969).

Seven populations were sampled from two river basins, Quebrada Sonadora and Quebrada Grande in the Caribbean National Forest. All populations were

visited monthly beginning in July or August 1994 except population one which began in March 1993, all sampling ended in January 1996. Consequently the seven populations were sampled for 34, 19, 18, 19, 19, 19, and 18 months, respectively. Flowers were preserved in a solution of 70% ethanol, 37% formalin and propionic acid in a 90: 5: 5 ratio and morphological characters were measured with Olympus dissecting microscope fitted with a 0.1mm micrometer. To measure phenotypic selection, we measured female and male fitness through the production of the total fruit and pollinia removed of each plant of the seven populations.

Twelve morphological traits were measured on 220 individuals to determinate the morphological variance among individuals; these include length of the column, flower size, width of dorsal sepal, length and width of posterior petal lobe, length and width of anterior petal lobe, length and width of front lip, lip mid lobe length, anther cap opening and the distance between sepals.

To estimate the total strength of selection on a character, indirectly and directly through correlated characters we used coefficients from univariate regression (one character). When expressed in units of standard deviation, univariate regression coefficients are equivalent to selection differentials (Lande & Arnold 1983). Directional ( $\beta'$ ) and non-linear ( $\gamma'$ ) selection differentials and gradients were estimated using the following regression model:

$$w = \alpha + \sum_{i=1}^n \beta'_i z'_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \gamma'_i z_i'^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \gamma'_{ij} z'_i z'_j + \varepsilon$$

where  $w$  is the relative standardized fitness measure,  $\alpha$  is a constant,  $z'$  is the standardized trait value, and  $\varepsilon$  is error. Directional differentials and gradients

were obtained using the first two terms on the right side of the equation, whereas nonlinear coefficients were obtained using the full model (Lande & Arnold 1983). Previous to the regression analysis every absolute female and male success was divided by the population average to calculate the standardized fitness,  $w$ , (O'Connell & Johnston 1998). Traits values before selection were standardized to zero mean and unit standard deviation. These values were squared and entered into the regression model, yielding. All regression coefficients were expressed in units of change in relative fitness per standard deviation, as indicated by the prime symbol, thus facilitating comparison of the selection among traits and between the populations (Lande & Arnold 1983).

In percent term distribution of reproductive success in all populations the individuals are distributed along the extreme intervals (Table 1). We obtained 13.2 % of the individuals with zero pollinia removed and zero fruit produced and a substantial amount of the individuals had a high male (4+) and female fitness (3+) of 17.3%.

Morphological variation is significantly different among measured characters. The largest amount of variation among characters is observed in anther cap opening, lip mid lobe length, distance between sepals, front lip width and width of anterior petal lobe.

**Phenotypic selection.** Fitness based on female and male reproductive success suggests that the length of the column had a positive directional coefficient with  $r^2 = 4\%$ ,  $p = 0.004$  and  $r^2 = 3\%$ ,  $p = 0.015$

respectively. Moreover the female fitness of the length of front lip had a positive directional selection coefficient with  $r^2 = 4\%$ ,  $p = 0.006$ . No significant directional, disruptive and stabilizing selection was detected in any other morphological character.

Phenotypic selection in *Lepanthes rupestris* was absent in almost all measured characters and when observed was of low intensity. The length of the column had a positive directional phenotypic selection for female and male fitness, and the length of the front lip had evidence for positive directional selection through the female fitness variable only. This phenomenon may occur because the potential phenotypic selection could be imposed by biotic agents such as the still undescribed pollinator (Gómez 1993).

In a study of natural selection on floral traits in two species of *Lobelia* a positive directional selection with multivariate analysis on two floral characters was found. Those characters influence the pollen receipt proficiency of the pollinators (Johnston 1991).

We suggest that some biotic agents like pollinators influence the phenotypic selection on the length of the column and the length of front lip in *L. rupestris*. The most probable pollinator of *Lepanthes* are small dipterans, such as *Drosophila* (Tremblay 1997a) or fungus gnats (Blanco & Barboza 2001).

Table 2. Mean (SD) and coefficient of variation of measured morphological characters of *Lepanthes rupestris* (W = width, L = length, post = posterior, ant = anterior).

Traits	Species level variation			
	n	Mean	SD	%CV
L of column	201	41.47	4.60	11.1
Flower size	208	82.37	8.17	9.9
W of sepal dorsal	189	34.38	4.62	13.5
L post lobe petal	187	46.75	5.60	12.0
W post lobe petal	188	30.84	4.35	14.3
L ant lobe petal	189	34.13	4.92	14.4
W ant lobe petal	188	16.76	3.98	23.7
Front lip length	186	46.71	5.49	11.7
Front lip width	186	15.95	3.90	24.5
Mid lobe length	176	5.87	2.01	34.2
Anther cap opening	185	13.56	5.01	37.0
Distance b/w sepals	184	58.44	11.85	20.3

Table 1. Distribution of male and female fitness in *Lepanthes rupestris* as percentage of the total observations (number of plants).

Male Fitness	Female Fitness				Total
	0	1	2	3+	
0	13.2 (29)	3.6 (8)	0.9 (2)	1.4 (3)	19.1
1	9.1 (20)	10 (4.5)	3.2 (7)	2.3 (5)	19.1
2	6.4 (14)	4.1 (9)	1.4 (3)	6.0 (13)	17.7
3	5.4 (12)	2.3 (5)	3.6 (8)	6.4 (14)	17.7
4+	3.6 (8)	2.3 (5)	3.2 (7)	17.3 (38)	26.4
Total	37.7	16.8	12.3	33.2	220



Pollinator limitation may limit reproductive success in this orchid and consequently selection may be temporal, stochastic and or local depending on the availability of the pollinator (Tremblay, Ackerman, Zimmerman & Calvo, unpublished). Resource limitation on female reproduction (fruit and seed production) could also limit selection (Campbell 1989). However orchids are usually pollinator limited and not resource limited (Tremblay, Ackerman, Zimmerman & Calvo, unpublished). We found a positive directional female selection for the length of the column and the front lip and we can infer that this parts of the flowers may play an important role in the pollinator-plant interaction.

An alternative factor that deserves careful thought is sample size and population structure of the present experiment. For selection to be dominant in a population it must be large enough to discount the effect of genetic drift. Our present analysis includes the sum of seven populations, consequently analysis of selection on floral characters at the individual population may suggest different patterns. Selection will occur at the species or the population level depending on the amount of gene flow among populations. If gene flow among populations is low, <1 per generation, then evolution will occur at the population level, if it is larger than 2 migrants per generation, then selection will be at the multi-population level. Present allozyme analysis of gene flow estimate in *Lepanthes rupestris* suggests that individual populations may be acting as individual evolutionary units (Tremblay & Ackerman 2002, Tremblay, Ackerman, Zimmerman & Calvo, unpublished). Consequently future work will evaluate selection at the population level.

#### LITERATURE CITED

- Blanco, M. & G. Barboza. 2001. Polinización en *Lepanthes*: un nuevo caso de pseudocopulación en las orquídeas. San José, 2do Seminario Mesoamericano de Orquideología y Conservación. Programa de Conferencias: Resúmenes. San José, 23-26 de mayo 2001. p. 13.
- Campbell, D.R. 1989. Components of phenotypic selection: pollen export and flower corolla width in *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 45: 1458 – 1467.
- Endler, J.A. 1986. *Natural Selection in the Wild*, Princeton, USA: Princeton University Press.
- Gómez, J.M. 1993. Phenotypic selection on flowering synchrony in a high mountain plant, *Hormathophyla spinosa* (Cruciferae), *J. Ecol.* 81: 605 – 613.
- Johnston, M.O. 1991. Natural selection in two species of *Lobelia* with different pollinators. *Evolution* 45: 1468 – 1479.
- Lande, R. & S.J. Arnold 1983. The measurements of selection on correlated characters, *Evolution* 37: 1210 – 1226.
- Luer, C.A. 1996. *Lepanthes* subgenus of Ecuador. *Icones Pleurothallidarum* 14: 1 – 12.
- Morales, W.R. 1977. The endemic orchid species of Puerto Rico. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 46: 727 – 730.
- O'Connell, L.M. & M.O. Johnston. 1998. Male and female pollination success in a deceptive orchid, a selection study. *Evolution* 79: 1246 – 1260.
- Stimson, W.R. 1969. A revision of Puerto Rican species *Lepanthes* (Orchidaceae). *Brittonia* 21: 332 – 345.
- Tremblay, R.L. 1997a. Distribution and dispersion patterns of individuals in nine species of *Lepanthes* (Orchidaceae). *Biotropica* 29: 38 – 45.
- Tremblay, R.L. 1997b. Morphological variance among populations of three tropical orchids with restricted gene flow. *Plant Sp. Biol.* 12: 85 – 96.
- Tremblay, R.L. 2000. Plant longevity in four species of *Lepanthes* (Pleurothallidinae; Orchidaceae). *Lindleyana* 15: 257 – 266.

**Sol Taína Cintrón Berdecía** es estudiante de Bachillerato en Biología del Programa de Manejo de Vida Silvestre en la Universidad de Puerto Rico en Humacao. Actualmente cursa su cuarto año de estudios. En agosto de 2002 comenzó su primera experiencia en investigación. Tiene como proyecto el tema de la ecología evolutiva de la orquídea *Lepanthes rupestris* con el Dr. Raymond Tremblay. Ella ha presentado conferencias como NCUR en Utah, el Coloquio Nacional de la Mujer y el Simposio de Fauna y Flora del Caribe en la UPR-Humacao. Aspira a lograr un doctorado en una disciplina relacionada con el manejo de vida silvestre y ser profesora de dicha disciplina en Puerto Rico.

## REPRODUCTIVE POTENTIAL, GROWTH RATE AND LIGHT ENVIRONMENT IN *LEPANTHES RUPESTRIS* STIMSON

DENNY S. FERNÁNDEZ<sup>1,3</sup>, RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1</sup>, JAMES D. ACKERMAN<sup>2</sup>,  
EVE NEIDA RODRÍGUEZ<sup>1</sup> & LIZ NELIA LÓPEZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, 100 Carr. 908. University of Puerto Rico Humacao  
Humacao, Puerto Rico, 00791-4300, U.S.A.

<sup>2</sup>Department of Biology, PO Box 23360, University of Puerto Rico Rio Piedras  
San Juan, Puerto Rico, 00931-3360, U.S.A.

<sup>3</sup>Author for correspondence: d\_fernandez@webmail.uprh.edu

Reproductive success in orchids can be pollinator or resource limited (Ackerman & Montalvo 1990). However, orchids are generally pollinator limited (Neiland & Wilcock 1998), while some species have shown to be resource limited as a function of lifetime reproductive success (Whigham & O'Neill 1991, Meléndez-Ackerman *et al.* 2000). Large individuals within a species usually have more flowers, and flower production is frequently correlated with male (pollinaria removal) and female (fruit) reproductive success (Schemske 1980; Montalvo & Ackerman 1987; Aragón & Ackerman 2001, Kull 2002, Schmidt & Zotz 2002). Plant size can affect flower production and accordingly potential reproductive success (Schaffer 1974, Samson & Werk 1986, Kull 2002). Consequently, environmental conditions that modify plant size will likely influence reproductive effort and success. Even though reproductive success in orchids is primarily pollinator limited, individuals with more flowers have a higher probability of male or female reproductive success (Schemske 1980). This pattern may suggest that pollinators focus on inflorescence size (Montalvo & Ackerman 1987; Rodríguez-Robles *et al.* 1992, Aragón & Ackerman 2001, but see Sabat & Ackerman 1996). Zotz (2000) found that the number of fruits produced ( $r^2 = 0.74$ ) and total fruit mass ( $r^2 = 0.72$ ) were positively correlated with plant size in the facultatively self-pollinated *Dimerandra emarginata* (G. Meyer) Hoehne. Moreover, Zotz (2000) found that the smallest plants invested less than 1% of the annual proportion of the biomass to reproduction while the larger plants invested in the range of 12% to reproduction. However, flower production does not necessarily respond linearly to light availability; of the few examples available, *Cypripedium calceolus* is light sensitive, and the relationship between percent flowering shoots

and light penetration coefficient is a quadratic function (Kull 2002). Growth rate in plants is frequently site/year dependent and local conditions can ultimately influence reproductive potential (Schmidt & Zotz 2002). The present information on growth rates of orchids in natural environments and controlled conditions is scarce (Zotz 1999, Schmidt & Zotz 2002, Zimmerman & Aide 1989). Schmidt & Zotz (2002) showed that growth rates in *Aspasia principissa* Rchb.f. was different among *in situ* and greenhouse grown plants, but more or less similar among years. The Neotropical genus *Lepanthes* is a large group of epiphytic and lithophytic orchids growing in a variety of environmental habitats, from complete exposure to very low understory light. For this study we proposed to investigate: 1) the effect of total leaf area on flower production in a controlled setting, 2) the relationship between total flower production and reproductive success in the field, 3) the light environment of the populations, and 4) the effect of light quantity on growth rates of the individuals in natural populations of *Lepanthes rupestris*.

**Plant species.** We evaluated the reproductive potential, growth, and the photosynthetic radiation niche requirement of the epiphytic and lithophytic orchid *L. rupestris*, an endemic of Puerto Rico. The species is mainly limited to the Caribbean National Forest in the subtropical moist forest (Ewel & Whitmore 1973) and is common along rivers on boulders, palms and trees in a riparian environment. The species is hyperdispersed, with many small populations and few large populations (median, mean and s.e. 23;  $45.4 \pm 5.2$  individuals per populations) and these are separated by variable distances, but most frequently nearby (mean and s.e.  $4.8 \pm 1.3$  m., Tremblay 1997).

**Laboratory experiment; Leaf area and flower production.** Two hypotheses were tested with this experiment: can total leaf area and number of leaves per individual predict the long-term flower production? Fourteen individuals of *L. rupestris* were grown in a Wardian case (Orchidarium Inc.) for eight months under growth lights for 14 hours/day. Environmental conditions were held constant with a mean temperature of 23 °C and a 95% relative humidity. Plants were watered when necessary (every two to four days) with distilled water and fertilized every two weeks with a 20-20-20 solution (P-K-N: half a teaspoon per liter; Tropical Fertilizer Corp., Puerto Rico). Data were collected weekly, and all flower production was counted. Total leaf area (A) produced was calculated using a caliper to measure the width and length of each leaf and applying the following formula:  $A = 1.51 + 0.57b$ , where  $b = \text{length} \times \text{width}$ . Leaf area was pooled for each individual. Linear and quadratic regressions were used to test the relationship between number of leaves and leaf area with flower production (StatView, Inc., Abacus Concept Inc., California.). Analysis was performed on the square root of number of flowers and leaf number and on the log transformed leaf area to reduce heterocedasticity.

**Field observation I: Flower production.** Male and female reproductive success in a population of 98 individuals of *Lepanthes rupestris* at Quebrada Grande, Luquillo Mountains, was monitored from July 1993 for a total of 21 months. Plants were surveyed every month; flowers have a survivorship of approximately 1.5 weeks while fruits last about 1.5 months on the plant. Consequently approximately 1/3 of all flowers produced were observed for pollinia removal while all fruits during the period were noted. The relationship between flower production and pollinaria removal and fruit set was analyzed using Spearman Rank correlation (StatView.)

**Field observation II: Diversity of the light environment and its effect on leaf area production.** How variable is the light environment between populations, and how is the temporal distribution of the photosynthetic radiation during the day of the different populations? We tested whether or not variable light environment measured as the daily total radiation affected the production and growth of leaves in individual populations. This field study was conducted at El Verde Field Station in the Luquillo Mountains, a few km from Quebrada Grande. The

populations under study were along Quebrada Sonadora. Twelve sites with one or more populations of *L. rupestris* were located for this study. The sites represent the range of light environments where the orchids are found and these were classified according to the canopy cover, closed (canopy cover above 90 %), medium (between 60 and 90 %), and open (below 60 %). We assume that light was equal for all plants at an individual site. The light environment of each population was measured as photon flux density (PFD 400-700 nm,  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). The photon flux density is the component of the solar spectrum which is most related to photosynthetic activity. We measured PFD with previously calibrated GaAsP photodiodes (G1118, Hamamatsu, Japan); the sensors were connected to a data logger (CR-10, Campbell Scientific, Utah) programmed to take measurements every second, and to total and store data every five minutes, between 6:00 and 18:00 hours of solar time. With the data we calculated instantaneous average values of PFD every five minutes and total daily values ( $\text{mol m}^{-2}$ ). We measured the changes in leaf area that occurred between June 2001 and August 2001. Eleven plants from each of the 12 sites were selected. We expected that too little light would result in poor growth while growth rate should improve and attain a plateau or maximum with increased light. Consequently, we could not assume a specific reaction model of light quantity and growth (linear, quadratic) so we used a non-parametric analysis to study the selection response of light quantity and growth rates. We used the cubic spline technique to graph the reaction response function and its variance (Schluter & Nychka 1994).

## RESULTS

**Flower production and reproductive success.** The total flowers produced by individual plants in the field varied from 4 to 269, (mean and s.d. =  $63.6 \pm 59.8$ ), while the number of pollinaria removal varied from 0 to 23 (mean and s.d. =  $3.03 \pm 4.01$ ) and the number of fruits varied from 0 to 13 (mean and s.d. =  $1.93 \pm 2.52$ ). In all cases variation in reproductive potential among individuals was large. Male reproductive success was positively correlated with flower production (simple linear regression,  $F_{1,97} = 83.50$ ,  $p < 0.0001$ .  $r^2 = 0.46$ ; Fig. 2). While the number of flowers produced was also positively correlated with female reproductive success it explained more of the

variation than male reproductive success (simple linear regression,  $F_{1,97} = 142.65$ ,  $p < 0.0001$ ,  $r^2 = 0.60$ ).

**Correlation between leaf area and flower production.** Flower production is positively and linearly correlated with the leaf area of individuals in the laboratory (linear regression  $F_{1,11} = 24.91$ ,  $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.69$ ; square root of number of flowers =  $-7.436 + 4.409 * \text{logarithm of leaf area}$ ). The quadratic equation explained more of the variance,  $r^2 = 0.80$ , but was not significant (t-value =  $-2.126$ ,  $p = 0.060$ ).

**Correlation between leaf number and flower production.** Flower production is directly correlated with the number of leaves per individual (linear regression  $F_{1,11} = 7.017$ ,  $p = 0.022$ ,  $r^2 = 0.39$ ; square root of number of flowers =  $0.687 + 1.937 * \text{square root of number of leaves}$ ). The quadratic equation explained more of the variance,  $r^2 = 0.58$ , than the linear equation but was not significant (t-value =  $-2.141$ ,  $p = 0.058$ ).

**Description of total PFD received by differing light cover of *Lepanthes rupestris* population.** The amount of light received by populations of *Lepanthes* is expected to vary as a result of canopy cover over the population. The amount of light was significantly different among the three site types. Open canopy populations received more than twice the amount of light as compared to medium covered populations ( $6.77 \pm 2.41 \text{ mol m}^{-2}$  and  $2.89 \pm 0.58 \text{ mol m}^{-2}$ , mean and s.e.), while closed canopy barely received any light ( $0.303 \pm 0.063$  mean and s.e.). Furthermore the amount of light was significantly higher in the afternoon (mean and s.d.: AM:  $1.21 \pm 1.21 \text{ mol m}^{-2}$ ; PM:  $2.62 \pm 3.74 \text{ mol m}^{-2}$ ); however, no interaction was observed between canopy cover and time of day.

**Light quantity and growth rates.** The cubic spline analysis of correlation between amount of light and growth rate was non-linear and suggested that increasing growth rates occurred at irradiation ranging from 1 to  $5 \text{ mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ , while higher total daily PFD resulted in reduced growth rates. The data points are scattered below and above the best non-parametric fitness line suggesting that other environmental variables are likely to influence growth. The squiggled pattern observed was similar when the analyses were done with the rock and tree populations separately.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Field observations showed that an increase in flower production promotes a higher reproductive potential, with both male and female reproductive success correlated with flower production. Flower production measured as inflorescence size has shown to positively correlate with reproductive potential in a number of orchids, such as higher fruit set in *Brassavola nodosa* (Schemske 1980), *Lepanthes wendlandii* (Calvo 1990), *Calopogon tuberosus* (Firmage & Cole 1988), *Ionopsis utricularioides* (Montalvo & Ackerman 1997) and *Aspasia principissa* (Zimmerman & Aide 1989). However some species of orchids have failed to show an increase in fruit set with increased flower production, v.g. *Psychilis krugii* (Ackerman 1989) and *Epidendrum exasperatum* (Calvo 1990). Inflorescences of *Lepanthes* are long lived and most of the time only one or rarely two flowers are open, this different strategy of flowering (sequential vs. synchronous) has been shown to improve male and female reproductive success in *Psychilis monensis* (S. Aragón, unpublished).

As in most plants, plant size distribution was not normally distributed but skewed towards small plants (Weiner & Solbrig 1984, Gregg 1991, Leeson, Haynes & Wells 1991). We would thus expect that flower production be skewed towards few flowers per plant. The controlled conditions experiment showed that the flower production of *L. rupestris* is positively related with the area of the photosynthetic tissue, that is, with the amount of leaf area and the number of leaves, which are also correlated among them. *Lepanthes rupestris* shows a large variation in flower production per individual, thus the factors that control plant size will also limit the flower production.

What limits plant size in natural environment is still poorly studied in orchid in general. An interesting example is shown in *Catasetum viridiflavum* where plant size is dependent on availability of resources and light environment. Plants fully exposed to light are more likely to be large and female, while plants found in the shade are small and produce male flowers; however, plants in a resource rich environment with limited amount of light could be large and female (Zimmerman 1990, 1991). The range of the photosynthetic light environment where *L. rupestris* is found is very broad in terms of the daily totals, and the distribution of PFD through the day is not uni-

form due to the topography and aspect of the area. *Lepanthes rupestris* needs low values of daily total PFD to attain maximum growth in terms of leaf area production. The negative effect on growth of daily total PFD values above 9 moles m<sup>-2</sup> could result from a combination of water stress due to dessication of the microenvironment, and chronic photoinhibition.

In conclusion, reproductive success in *L. rupestris* is directly related with flower production and flower production is directly related to plant size, but the relationship between vegetative growth and the photosynthetic light environment is less evident, probably because it is mediated by other factors that affect orchid physiology, especially carbon gain.

#### LITERATURE CITED

- Ackerman, J.D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Syst. Bot.* 14: 101-109.
- Aragón, S. & J.D. Ackerman. 2001. Density effects on the reproductive success and herbivory of *Malaxis massonii* (Ridley) Kuntze. *Lindleyana* 16: 3-12.
- Calvo, R.N. 1990. Inflorescence size and fruit distribution among individuals of three orchid species. *Amer. J. Bot.* 77: 1378-1381.
- Firmage, D.H. & F. R. Cole. 1988. Reproductive success and inflorescence size of *Calopogon tuberosus* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 75: 1371-1377.
- Gregg, K.B. 1991. Reproductive strategy of *Cleistes divaricata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 78: 350-360.
- Kull, T. 2002. Population dynamics of North Temperate Orchids. In: J. Arditti (ed.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*, VIII. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Leeson, K., C. Haynes & T.C.E. Wells. 1991. Studies of the phenology and dry matter allocation of *Dactylophiza fuchsii*. In: Wells, T. C. E. & J. H. Willems (eds.), *Population Ecology of Terrestrial Orchids*. SPB Academic Publishing, The Hague. p. 125-138.
- Meléndez-Ackerman, E.J., J.D. Ackerman & J.A. Rodríguez-Robles. 2000. Reproduction in an orchid is resource limited over its lifetime. *Biotropica* 32: 282-290.
- Montalvo, A.M. & J.D. Ackerman. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides*. *Biotropica* 19: 24-31.
- Neiland, M.R. & C.C. Wilcock. 1998. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. *Amer. J. Bot.* 85: 1657-1671.
- Sabat, A.M. & J.D. Ackerman. 1996. Fruit set in a deceptive orchid: The effect of flowering phenology, display size, and local floral abundance. *Amer. J. Bot.* 83: 1181-1186.
- Samson, D.A. & K.S. Werk. 1986. Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. *Amer. Nat.* 127: 667-680.
- Schaffer, W.M. 1974. Optimal reproductive effort in fluctuating environment. *Amer. Nat.* 108: 783-790.
- Schemske, D. W. 1980. Evolution of floral display in the orchid *Brassavola nodosa*. *Evolution* 34: 489-493.
- Schluter, D. and D. Nychka. 1994. Exploring fitness surfaces. *Amer. Nat.* 143: 597-616.
- Schmidt, G. & G. Zotz. 2002. Inherently slow growth in two Caribbean epiphytic species: a demographic approach. *J. Veg. Sci.* 13: 527-534
- Tremblay, R.L. 1997. Distribution and dispersion pattern of individuals in nine species of *Lepanthes* (Orchidaceae). *Biotropica* 29: 38-45.
- Weiner J. & O. T Solbrig. 1984. The meaning and measurement of size hierarchies in plant populations. *Oecologia* (Berlin) 61: 1237-1241.
- Whigham, D. F. & J. O'Neill. 1991. The dynamics of flowering and fruit production in two eastern North American terrestrial orchids, *Tipularia discolor* and *Liparis lilifolia*. In T.C.E. Wells and J.H. Willems (eds.), *Population ecology of terrestrial orchids*. SPB Academic Publishing, The Hague, pp. 89-101.
- Zimmerman, J.K. 1990. Role of pseudobulbs in growth and flowering of *Catasetum viridiflavum* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 533-542.
- Zimmerman, J.K. 1991. Ecological correlates of labile sex expression in the orchid *Catasetum viridiflavum*. *Ecology* 72: 597-608.
- Zimmerman, J.K. & T.M. Aide. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Amer. J. Bot.* 76: 67-73.
- Zotz, G. 1999. What are backshoots good for? Seasonal changes in mineral, carbohydrate and water content of different organs of the epiphytic orchid, *Dimerandra emarginata*. *Ann. Bot.* 84: 791-798.
- Zotz, G. 2000. Size dependence in the reproductive allocation of *Dimerandra emarginata*, an epiphytic orchid. *Ecotropica* 6: 95-98.

**Denny S. Fernández** is an Associate Professor of Biology at University of Puerto Rico in Humacao, Puerto Rico. He obtained a B. S. degree in Biology from Simón Bolívar University in Caracas, Venezuela; a M. Sc. in Agronomy from Central University of Venezuela in Maracay, and a Ph. D. in Biology from University of Puerto Rico in Río Piedras, Puerto Rico. His main research areas are plant ecophysiology, microenvironment and stress physiology, he has special interest in spatial patterns analysis and modeling of terrestrial ecosystems. At present his investigations include the study of mangrove communities, dry forests, and epiphytic (and lithophytic) species.

## IRREGULAR FLOWERING REGIMES IN ORCHIDS

PAVEL KINDLMANN

Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, Branisovska 31  
370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic, and  
CNRS, UMR ECOBIO, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France

Many orchids are characterised by their so-called irregular flowering regime, which is an irregular sequence of flowering, dormant and sterile stages during the life of one individual (Curtis & Green 1953, Tamm 1956, 1972, 1991, Wells 1967, 1981, 1994, Hutchings 1987, Firmage & Cole 1988, Inghe & Tamm 1988, Wells & Cox 1991, Willems & Bik 1991, Whigham & O'Neill 1991, Jones 1998, Hutchings *et al.* 1998, Willems & Melsers 1998, Kindlmann 1999, Kindlmann & Balounová 1999a, 2001, Kindlmann *et al.* 2002). Here I would like to review alternative hypotheses that aim to explain this phenomenon.

**Stochasticity.** The transition probabilities from one stage in a particular year to another stage the next year (e.g., flowering one year - dormant the next year etc.) lead to matrix models (Gregg 1991, Waite & Hutchings 1991). Being stochastic, they - by definition - lead to a seemingly "chaotic" behaviour. Can there, however, be predicted anything more than a probability of flowering, being sterile or dormant, if there are other predictable patterns in orchid behaviour?

**Possible artefacts of data collection.** A plant that initiated an inflorescence might subsequently, but before the observation has been done, have been grazed completely and thus considered as being absent. As shown in Kindlmann & Balounová (1999a), however, there is almost no difference between the results for one and multiple observations per year. Thus, for observations of transitions between individual life stages one observation per year would suffice.

**Inghe's hypothesis.** Inghe (1990) tried to explain irregular flowering patterns by means of computer simulations of difference equations. Assuming a

deterministic (exponential or logistic) growth of the vegetative dry weight and a deterministic relationship between vegetative and reproductive dry weight, he concluded that the irregular flowering patterns within one plant might be partly explained by the chaotic behaviour of the corresponding difference equations. Kindlmann (1999) has shown that the irregular flowering pattern in *Epipactis albensis* cannot be explained by Inghe's (1990) hypothesis. Shoot height in sterile plants is always small, but sterility or dormancy cannot be predicted from shoot height and number of flowers in the preceding year.

**Stochasticity of the environment.** The decision on whether the plant will flower, be sterile or remain dormant, is made early in the season or late in the preceding season (Leeson *et al.* 1991). Reserve size is one factor in this decision and microhabitat environmental conditions at this time are probably the other. The latter assumption cannot be applied to global environmental conditions, as it would lead to the same strategy in different plants with the same history and this is not supported by empirical data. There is no reason for not believing that evolution shaped the plant strategies in the direction of optimisation of their energy budget. Therefore, optimum energy-partitioning models (e.g., Kindlmann & Balounová 1999b), should be able to explain the irregular flowering pattern.

It is well known and strongly supported by Tamm (1972) and others that there are certain "orchid years" in which most of them flower, while in other years, almost no plants flower. Wells *et al.* (1998) have shown that weather is a major factor causing whole populations not to flower.

**Grazing.** Whigham (1990) has reported a negative effect of defoliation on the belowground corms. Kindlmann & Balounová (1999a), however, claim

that in most cases grazing does not seem to account for the “not explained” cases in populations of *Dactylorhiza majalis*.

This discrepancy may be explained as follows: Defoliation, which imitates insect feeding, leaf diseases etc., lowers assimilation and therefore the size of overwintering storage organs (next year tuber), which may then become of subcritical size and cause sterility the next year. Grazing by large mammals like deer, however, is not selective and in most cases both leaves and inflorescence are grazed. Thus, although in this case assimilation is lowered, too, the plant “saves” energy by not spending it on costly reproduction and in many cases the resulting storage size is not affected. It would be nice to test this hypothesis experimentally.

The effect of grazing on orchid populations also probably depends on its timing and intensity: Wells (pers. comm.) reports that grazing by large mammals (e.g., sheep, cattle) can have a devastating effect on orchid populations and can have a major effect on flowering. Grazing by rabbits both destroys the habitat and also results in severe defoliation of certain species (Wells, pers. comm.). On the other hand, a good sheep grazing management can maintain thriving orchid populations for years and cause them to significantly increase in numbers, as is the case of the populations in South Limburg (Willems, 1989, Willems and Lahtinen 1997). Therefore, the effect of grazing is ambiguous and would deserve further studies.

**Cost of reproduction.** The negative effect of a large investment into reproduction that leads to sterility or dormancy the next year has been reported by Whigham & O'Neill (1991). However, there might be a difference with respect to this between deceptive orchid species (species which do not produce any nectar, therefore “deceit” the pollinators and rely on naïve ones, which pollinate them by mistake) and rewarding ones (nectar producing, offering reward to pollinators) for the following reason:

The reproductive success (RS) of rewarding species is mostly close to 100%, thus – more importantly – variation in RS is low. Thus evolution might have adjusted the dependence of the number of flowers produced on storage size. As a consequence, storage

size is not significantly affected by the small variation in RS and once attained the above-critical size for flowering, this size will be kept for years.

In deceptive species, on the other hand, variation in RS is extreme (Jersáková & Kindlmann 1998) and therefore evolution had to adjust the dependence of the number of flowers produced on storage size with respect to the expectation of some average RS. Thus the size of overwintering storage organs strongly depends on RS in the preceding season, which – because of deceptivity - varies dramatically. In plants which happened to have an above-average RS in some season it may happen that storage which was of above-critical size the previous year becomes sub-critical the next year.

**Habitat deterioration.** Kindlmann & Balounová (1999a) suggested that the observed irregular flowering regimes should be typical for sites with declining populations - either because of unsuitable habitat, deteriorating management or for unsuitable weather conditions in a particular year.

If correct, the hypothesis that irregular flowering regimes are characteristic for sites with temporarily or steadily declining populations and not usually present in prosperous ones could account for the controversy between predictions of theoretical models and empirical observations, at least in some species. If both climatic and habitat conditions are good, irregular flowering should not be the case. If either of these conditions gets worse, transitions from flowering to sterility or absence may become more frequent and lead eventually to extinction of the population.

**Conclusions.** The irregular flowering patterns in orchids are neither an artefact of the way the data were collected, nor a result of chaotic behaviour of mathematical equations. The literature reviewed here shows that they are caused by a complex of biotic and abiotic factors, which can act both ways and it depends on the site and species, which one is the most important. These factors include: 1) weather; 2) grazing by mammals, by insects and underground grazing of storage organs; 3) leaf diseases; 4) cost of reproduction in species, in which reproductive success varies substantially; 5) habitat management and 6) habitat deterioration.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the grants No. MSM 123100004 of the Czech Ministry of Education and K6005114 of the Czech Academy of Sciences.

## LITERATURE CITED

- Curtis, J.T. and H. Green. 1953. Population changes in some native orchids of southern Wisconsin, especially in the University of Wisconsin Arboretum. *Orchid Journal* 2: 152-155.
- Firmage, D.H. and F.R. Cole. 1988. Reproductive success and inflorescence size of *Calopogon tuberosus* (Orchidaceae) *Am. J. Bot.* 75: 1371-1377.
- Gregg, K.B. 1991. Variation in behaviour of four populations of the orchid *Cleistes divaricata*, an assessment using transition matrix models. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population ecology of terrestrial orchids.* SPB Acad. Publ. bv, The Hague, pp. 139-159.
- Hutchings, M.J. 1987. The population biology of the early spider orchid, *Ophrys sphegodes* Mill. I. A Demographic study from 1975 to 1984. *J. Ecol.* 75: 711-727.
- Hutchings, M.J., A. Mendoza and W. Havers. (1998) Demographic properties of an outlier population of *Orchis militaris* L. (Orchidaceae) in England. *Bot. J. Linn. Soc.* 126: 95-107.
- Inghe, O. 1990. Computer simulations of flowering rhythms in perennials - is there a new area to explore in the quests for chaos? *J. Theor. Biol.* 147: 449-469.
- Inghe, O. and C.O. Tamm. 1988. Survival and flowering of perennial herbs. V. Patterns of flowering. *Oikos* 51: 203-219.
- Jersáková, J. and P. Kindlmann. 1998. Patterns of pollinator-generated fruit set in *Orchis morio* (Orchidaceae). *Folia Geobot.* 33: 377-390
- Jones, P.S. 1998. Aspects of the population biology of *Liparis loeselii* (L.) Rich. var. *ovata* Ridd.ex Godfrey (Orchidaceae) in the dune slacks of South Wales, UK. *Bot. J. Linn. Soc.* 126: 123-139.
- Kindlmann, P. 1999. Are orchid life histories really irregular? The case of *Epipactis albensis*. *Oikos* 85: 265-270.
- Kindlmann P. and Z. Balounová. 1999a. Flowering regimes of terrestrial orchids: chaos or regularity? *J. Veg. Sci.* 10: 269-273.
- Kindlmann P. and Z. Balounová. 1999b. Energy partitioning in terrestrial orchids - a model for assessing their performance. *Ecol. Modelling* 119: 167-176.
- Kindlmann, P. and Z. Balounová. 2001. Irregular flowering patterns in terrestrial orchids: theories vs. empirical data. *Web Ecol.* 2: 75-82.
- Kindlmann P., J.H. Willems and D.F. Whigham (eds.). 2002. Trends and fluctuations and underlying mechanisms in terrestrial orchid populations. Backhuys, The Netherlands.
- Leeson, E., Haynes, C., Wells, T.C.E. 1991. Studies of the phenology and dry matter allocation of *Dactylorhiza fuchsii*. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population ecology of terrestrial orchids.* SPB Acad. Publ. bv, The Hague, pp. 125-138.
- Tamm, C.O. 1956. Further observations on the survival and flowering of some perennial herbs. *Oikos* 7: 274-292.
- Tamm, C.O. 1972. Survival and flowering of some perennial herbs. II. The behaviour of some orchids on permanent plots. *Oikos* 23: 23-28.
- Tamm, C.O. 1991. Behaviour of some orchid populations in a changing environment: Observations on permanent plots, 1943-1990. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population Ecology of Terrestrial Orchids.* SBP Academic Publishing, The Hague, pp. 1-13.
- Waite, S. and M.J. Hutchings. 1991. The effects of different management regimes on the population dynamics of *Ophrys sphegodes*: analysis and description using matrix models. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population ecology of terrestrial orchids.* SPB Acad. Publ. bv, The Hague, pp. 161-175.
- Wells, T.C.E. 1967. Changes in a population of *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. at Knocking Hoe National Nature Reserve, Bedfordshire, 1962-65. *J. Ecol.* 55: 83-99.
- Wells, T.C.E. 1981. Population ecology of terrestrial orchids. *In: Syngé, H. (ed.), The biological aspects of rare plant conservation, Huntingdon, England,* pp. 281-295.
- Wells, T.C. E. 1994. Population ecology of British terrestrial orchids. *In: Pridgeon, A. M. (ed.) Proceedings of the 14th World Orchid Conference, HMSO, Edinburgh, UK,* pp. 170-175.
- Wells, T.C.E., Cox, R. 1991. Demographic and biological studies on *Ophrys apifera*: some results from a 10 year study. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population ecology of terrestrial orchids.* SPB Acad. Publ. bv, The Hague, pp. 47-61.
- Wells, T.C.E., P. Rothery, R. Cox and S. Bamford. 1998. Flowering dynamics of *Orchis morio* L. and *Herminium monorchis* (L.) R.Br. at two sites in eastern England. *Bot. J. Linn. Soc.* 126: 39-48.
- Whigham, D.F. 1990. The effect of experimental defoliation on the growth and reproduction of a woodland orchid, *Tipularia discolor*. *Can. J. Bot.* 68: 1812-1816.
- Whigham, D.F., O'Neill, J. 1991. The dynamics of flowering and fruit production in two eastern North American terrestrial orchids, *Tipularia discolor* and *Liparis lilifolia*. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population ecology of terrestrial orchids.* SPB Acad. Publ. bv, The Hague, pp. 89-101.
- Willems, J.H. 1989. Population dynamics of *Spiranthes spiralis* in South-Limburg, The Netherlands. *Mém. Soc. Roy. Bot. Belg.* 11: 115-121.
- Willems, J.H. and L. Bik. 1991. Long-term dynamics in a population of *Orchis simia* in the Netherlands. *In: Wells, T.C.E. and J.H. Willems (eds.), Population Ecology of*



- Terrestrial Orchids, pp. 33-45 SBP Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.
- Willems J.H. and M.L. Lahtinen. 1997. Impact of pollination and resource limitation on seed production in a border population of *Spiranthes spiralis* (Orchidaceae). Acta Bot. Neerl. 46: 365-375.
- Willems, J.H., Melser, C. 1998. Population dynamics and life-history of *Coeloglossum viride* (L.) Hartm.: an endangered orchid species in The Netherlands. Bot. J. Linn. Soc. 126: 83-93.

Prof. **Pavel Kindlmann** works on modeling of population dynamics and of pollination strategies of terrestrial orchids.

## BREEDING SYSTEMS, GENE FLOW AND LEVEL OF GENETIC DIFFERENTIATION IN PLANT POPULATIONS

OSCAR J. ROCHA

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica  
Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", San Pedro, San José, Costa Rica

Genetic variation and its distribution among plant populations are primarily determined by their breeding system and the level of gene flow among them (Bawa *et al.* 1985, Bawa *et al.* 1990, Rocha & Aguilar 2001b). It is well known that mating systems influence the amount, as well as the distribution of the genetic variation within and among populations (Wright 1921, Stebbins 1950, 1957, Hamrick *et al.* 1991). The net result of the operation of the various breeding systems is the regulation of the outcrossing rates, which may vary among populations and among geographical regions (Bateman 1956, Grant 1958, Rocha & Aguilar 2001a). Therefore, the study of plant breeding systems, and their effect on the genetic structure of populations is of fundamental importance for the study of plant evolution and population genetics (Richards 1986).

Plants show extensive variation in their sexual expression (Willson 1983, Richards 1986). The vast majority of flowering plants are hermaphrodites; i.e., they bear both male and female functional parts in the same flower, and are capable of contributing genes to the next generation through both functions. Other forms of sex expression, such as monoecy and dioecy, are also common in plants. Monoecious plants also bear both male and female functional parts, but they are borne on different flowers. In a broad sense, monoecious plants are also hermaphrodites. In contrast, only one sex function is present in dioecious plants. Other forms of sex expression result from the combination of different the sex types on flowers of the same individual.

The reproductive biology of tropical forest plants has been studied by several authors (Bawa & Hadley 1990). Bawa *et al.* (1985) studied the sexual systems of tropical rain forest trees in Costa Rica. They reported that most trees are hermaphrodites and found

no significant difference between canopy and sub-canopy habitats in the distribution of the various sexual systems (Table 1). More recently, Kress & Beach (1994) examined the sexual systems in 507 species from the lowland rain forest of La Selva, Costa Rica. They reported that 70% of species were hermaphrodites, 12.4% were monoecious, and 17.4% were dioecious (Table 2). Similarly, in the premontane rain forest of Costa Rica, most of the 501 species examined are hermaphrodites (69.7%). Only about 11% of the species are dioecious and 9% are monoecious (Ferrufino & Rocha, unpublished) (Fig. 1). Among trees, the proportion of species with different sexual systems found in the premontane forest is similar to that described by Bawa *et al.* (1985) and Kress & Beach (1994) in the lowland rain forest; 64.1% are hermaphrodites, 9.6% are monoecious and 18.6% are dioecious.

The relationship between sexual systems and breeding systems is not always clear (Table 3). Hermaphroditic plants may be capable of selfing; but many species exhibit mechanisms to avoid self-fertilization. Reducing the level of selfing, in turn, enhances the movement of genes within and between populations (Willson 1983, Richards 1986). For example, in some species, plants change from one sex to the other once or more during their lifetime. Typically, plants initiate sexual reproduction producing only male flowers, and later stop producing male flowers and begin to produce only female flowers. This phenomenon is known as sequential hermaphroditism, and occurs when the fitness gain of each sexual role changes with age or size of the individual.

Self-incompatibility systems are mechanisms to avoid self-fertilization (Nettancourt 1977). These mechanisms usually ensure obligate outbreeding, and result from failure of self-pollen to adhere to, or ger-

Table 1: Floral sexuality and canopy position in 333 lowland tropical rain forest tree from Costa Rica (Taken from Bawa *et al.* 1985).

Flower sexuality	% species in		
	Canopy	Sub-canopy	% species overall
Hermaphroditic (N=218)	63.2	66.4	65.5
Monoecious (N=38)	9.5	12.2	11.4
Dioecious (N=77)	27.4	21.4	23.1

Table 2: Sexual systems of flowering plants in the lowland rainforest at La Selva, Costa Rica (taken from Kress & Beach 1994).

	Forest stratum						All strata	
	Understory		Sub-canopy		Canopy			
	N	%	N	%	N	%	N	%
Hermaphroditic	168	74.7	124	67.4	64	65.3	356	70.2
Monoecious	35	15.5	18	9.8	10	10.2	63	12.4
Dioecious	22	9.8	42	22.8	24	24.5	88	17.4
Total species	225	100	184	100	98	100	507	100

minate on the stigma, or the failure of self-pollen to penetrate the stigma, or to grow down the style (Richards 1986). Two major mechanisms of self-incompatibility systems have been studied in detail, and they operate before fertilization: gametophytic (GSI) and sporophytic (SSI) self-incompatibility. Gametophytic self-incompatibility results from the expression of genes in the haploid male gametophyte, the pollen grain. In sporophytic self-incompatibility, pollen failure is determined by the expression of genes in the diploid sporophytic producer of pollen. Bawa *et al.* (1985) showed that 24 out of 28 lowland

rain forest species subjected to controlled pollination showed the presence of self-incompatibility. More recently, Kress & Beach (1994) showed that 16 out of 19 canopy and sub-canopy taxa (84.2%) in the lowland rain forest of La Selva are self-incompatible. They also showed that 13 out of 38 understory taxa (34.2%) are self-incompatible.

The amount of selfing also depends on the degree of separation that occurs between male and female parts in time (dichogamy) and space (herkogamy) within the flowers. Sometimes, flowers are functionally male after anthesis, and later shift to be functionally female (protandry). In such species, the rate of selfing is explained by the amount of time occurring between anther dehiscence and the start of stigma receptivity within the flower (Schoen 1982a, 1982b). In contrast, in other species flowers are functionally female after anthesis, and later shift to be functionally male (protogyny). The rate of selfing may also be determined by the distance between the male and the female parts within the flower. For example, in many species of orchids the pollinium release occurs before the stigmatic cavity is receptive (protandry). In addition, the stigmatic cavity is usually hidden with respect to the pollinia in such a way that within flower pollination is impossible (herkogamy).

Sexual systems

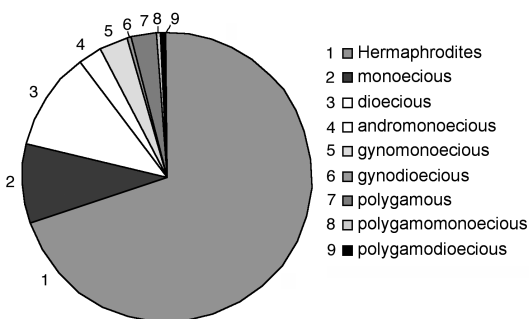


Figure 1: Percentage of species by sexual system in a premontane rain forest of Costa Rica.

Table 3: Relationship between sexual systems and breeding systems (modified from Richards 1986, and Willson 1982). CX= male-female, C=female only, X= male only

Sexual system	Distribution of sex parts		Breeding system
	Within a flower	Within a plant	
Hermaphrodites	CX	CX	From full selfing to full outcrossing
Monoecy	C or X	CX	Enhances outcrossing
Dioecy	C or X	C or X	Enforces outcrossing
Gynomonoecy	CX or C	CX	Enhances outcrossing, but allows selfing
Gynodioecy	CX, C or X	CX or C	Enhances outcrossing
Andromonoecy	CX or X	CX	Enhances outcrossing, but allows selfing
Androdioecy	CX, C or X	CX or X	Not enough information
Polygamy	CX or C or X	CX, or C or X	Enhances outcrossing, allows some geitonogamy and some autogamy

Overall, there is little information available about these mechanisms in tropical plants.

The majority of tropical rain forest species investigated so far appeared to be outcrossers with extensive gene flow (Ashton 1969, Bawa *et al.* 1985, Hamrick & Murawski 1991, Hamrick *et al.* 1991, Hall *et al.* 1994a, Hallet *et al.* 1996, Doligez & Joly 1997). Isozyme studies conducted to determine the mating system of these species further support the predominance of outcrossing among tropical rain forest trees (O' Malley & Bawa 1987, O'Malley *et al.* 1988, Doliguez & Joly 1997, Nason & Hamrick 1997, James *et al.* 1998). Doliguez & Joly (1997) and Nason & Hamrick (1997) reviewed the outcrossing rates reported for 28 and 36 species of tropical forest trees in natural populations, respectively. They found that most of these species have estimates of outcrossing rates higher than 0.80. Therefore, the outcrossing rates could be used to explain the levels of genetic variation and differentiation between populations.

Few studies have examined the variation in the outcrossing rates of tropical plants (Murawski & Hamrick 1990, 1991, 1992, Escalante *et al.* 1994, Pascarella 1997, James *et al.* 1998, Rocha & Aguilar 2001a). For example, it has been reported that the outcrossing rate did not vary significantly among wild and cultivated populations of *Phaseolus coccineus* in Mexico (Escalante *et al.* 1994). However, the same study also revealed great variation in the

outcrossing rates among families within each population. In contrast, Pascarella (1997) showed that outcrossing rates varied significantly among four populations of the tropical shrub *Ardisia escallonioides* in south Florida. He also showed that outcrossing rates were not correlated with the number of flowering plants within a population. His finding contrasted with those of Murawski & Hamrick (1991) who reported a significant decrease in the outcrossing rates of *Cavanillesia platanifolia* as the density of flowering trees declined.

Spatial and temporal variation in the outcrossing rates of tropical rain forest trees has been examined by Murawski & Hamrick (1991, 1992), Hallet *et al.* (1994), Hall *et al.* (1996) and Murawski *et al.* (1994). For example, it has been reported that the outcrossing rates of two populations of *Cavanillesia platanifolia* in Panama were different (Murawski & Hamrick 1992). In addition, this species also showed significant variation in the outcrossing rates in two consecutive years in the population on Barro Colorado Island (Murawski & Hamrick 1991). They found that the outcrossing rate was directly correlated to the density of flowering trees (Murawski & Hamrick 1991, 1992). In contrast, Hall *et al.* (1994b) did not find differences in the outcrossing rates among nine populations of *Carapa guianensis* in Costa Rica. They concluded that the high population density and synchronous flowering contributed to the high outcrossing

rates. The difference between these two studies could be due to the fact that one species (*C. platanifolia*) is self-compatible while *C. guianensis* is self-incompatible (J.L. Hamrick, pers. comm.). Because of that, the later would be expected to have much less flexibility in the amount of outcrossing/selfing.

In another study, Hall *et al.* (1996) reported that outcrossing rates for *Pithecellobium elegans* did not differ across two consecutive years, while the proportion of flowering trees was significantly different between years. Similar findings were also obtained for *Shorea trapezifolia* in Sri Lanka, in two consecutive years the estimates of outcrossing rates only varied from 54 to 62 % (Murawski *et al.* 1994). The authors argued that the variation in outcrossing rates among individual trees suggested that the rate of self-incompatibility in this species is also variable. Rocha & Aguilar (2001a, 2001b) showed little variation in the outcrossing rate of *Enterolobium cyclocarpum* in Costa Rica. However, they also showed significant variation in the mean number of trees that father the seed crop in trees from different populations, and from one year to the next within a given population.

The genetic structure of tropical plants has been examined using genetic markers (Buckley *et al.* 1983; Hamrick & Loveless 1989, Hamrick 1993). Most of these studies revealed that trees and shrubs usually have high levels of genetic variation, most of which is within populations, and subsequently there is little genetic differentiation within populations (Heywood & Fleming 1986, Murawski & Hamrick 1990, 1991, Pérez-Nasser *et al.* 1991, Hamrick 1993, Chase *et al.* 1995). For example, there is little genetic differentiation between five populations of *Enterolobium cyclocarpum*, the guanacaste tree, where only 3.9% of the genetic variation was found between populations (Rocha & Lobo 1996). Rocha & Aguilar (2001a, 2001b) have shown that guanacaste tree is a predominantly outcrossing species with extensive gene flow. In contrast, Hall *et al.* (1994a) examined the distribution of the genetic variation for *Pentaclethra macroloba* in Costa Rica. They reported that genetic differentiation between populations accounted for 21.9% of the total genetic variation. Similar findings were

obtained by Moran *et al.* (1989a, 1989b) for three tropical species of *Acacia* from natural riverine forest and open savannas in Australia and New Guinea. They found also found low levels of genetic diversity and high levels of population differentiation.

Maquet *et al.* (1996) studied the genetic structure in wild populations of the short lived perennial predominantly inbreeder lima bean, *Phaseolus lunatus*. They found that a significant proportion of the genetic variation is found between populations of this vine. They argue that such level of genetic differentiation between populations is due to the high rates of self-fertilization and biparental inbreeding that result in low rates of gene flow. Similarly, Murillo & Rocha (1999) studied the levels of genetic differentiation between 17 populations of *Alnus acuminata*, a monoecious wind pollinated tree species, in Costa Rica and Panama. They found levels of population differentiation that ranged between 0.14 and 0.28, and found some evidence of isolation by distance and weak gene flow between populations from different geographical regions. In addition, the same authors also found that this is a predominantly outcrossing species; but their data revealed that most of the seed crop of each tree is sired by one or two pollen donor trees (Murillo & Rocha, unpubl.).

In summary, sexual systems have an important role in determining the rate of outcrossing. Self-compatibility in hermaphrodite flowers may have been originally advantageous to assure reproduction. When reproductive assurance improved, outcrossing may have become selectively advantageous, and led to the evolution of different sexual systems. In addition, new features, such as dichogamy, herkogamy, and self-incompatibility system, which promote outcrossing may have also been favored by natural selection. Selection for genetic recombination may be strong in environments where biotic interaction with competitors, pathogens, parasites and predators are intense (Bawa *et al.* 1985). Overall, an increase in the level of outcrossing increases genetic diversity, and it might also enhance gene flow counteracting genetic differentiation between populations (Hartl 1980).

## LITERATURE CITED

- Ashton, P.S. 1969. Speciation among tropical forest trees: some deductions in the light of recent evidence. *Biol. J. Linn. Soc.* 1:155-196.
- Bawa, K.S., D.R. Perry & J.H. Beach. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. *Amer. J. Bot.* 72: 331-345.
- Bawa, K.S., P.S. Ashton & S.M. Nor. 1990. Reproductive ecology of tropical plants: management issues. In K.S. Bawa & M. Hadley (eds.), *Reproductive ecology of tropical plants*. The Parthenon Publ. Group, Carnforth, Great Britain. p. 3-162.
- Bawa, K.S. & M. Hadley (eds.). 1990. *Reproductive ecology of tropical plants*. The Parthenon Publ. Group, Carnforth, Great Britain.
- Bateman, A.J. 1956. Cryptic self-incompatibility in the wall-flower: *Cheiranthus cheiri* L. *Heredity* 10: 257-261.
- Buckley, D.P., D.M. O'Malley, V. Apsit, G.T. Prance & K.S. Bawa. 1988. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). 1. Genetic variation in natural populations. *Theor. Appl. Genetics* 76:923-928.
- Chase M.R., D.H. Boshier, & K.S. Bawa. 1995. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 1. Genetic variation in natural populations. *Amer. J. Bot.* 82: 468-475.
- Doliguez, A. & H.I. Joly. 1997. Mating system of *Carapa procera* (Meliaceae) in French Guiana tropical forest. *Amer. J. Bot.* 84: 461-470.
- Escalante, A.M., G. Coello, L.E. Eguiarte & D. Piñero. 1994. Genetic structure and mating systems in wild and cultivated populations of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 1096-1103.
- Grant, V. 1958. The regulation of recombination in plants. Cold Spring Harbor Symposium in Quantitative Biology 23: 337-363.
- Hall, P., M.R. Chase & K.S. Bawa. 1994a. Low genetic variation but high population differentiation in a common tropical forest tree species. *Conserv. Biol.* 8:471-482.
- Hall P., L.C. Orrell & K.S. Bawa. 1994b. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 1104-1111.
- Hamrick, & M.D. Loveless. 1989. The genetic structure of tropical tree populations: associations with reproductive biology. In J.H. Bock & Y.B. Linhart (eds.), *The evolutionary ecology*.
- Hamrick, J.L., M.J.W. Godt, D.A. Murawski & M.D. Loveless. 1991. Correlation between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. In D.A. Falk & K.E. Holsinger (eds.), *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, New York, pp. 75-86.
- Hamrick, J.L., & D. Murawski. 1991. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. *J. Trop. Ecol.* 7: 395-399.
- Heywood, J.L. & T.H. Fleming. 1986. Patterns of allozyme variation in three Neotropical species of *Piper*. *Biotropica* 18: 208-399.
- Hartl, D. 1980. *Principles of population genetics*. Sinauer Assoc., Massachusetts.
- James, T., S. Vege, P. Aldrich & J.L. Hamrick. 1998. Mating systems of three dry forest tree species. *Biotropica* 30: 587-594.
- Kress, W. J. & J.H. Beach. 1994. Flowering plants reproductive systems. In L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide & G.S. Hartshorn (eds.), *La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*. p. 161-182.
- Maquet, A., Zoro Bi Irie, O.J. Rocha & J.P. Baudoin. 1996. Case studies on breeding systems and its consequences for germplasm conservation. 1. Isozyme diversity in wild lima bean population in central Costa Rica. *Gen. Resources Crop Evol.* 43: 309-318.
- Moran C.F., O. Mouna & J.C. Bell. 1989a. *Acacia mangium*: a tropical forest tree of the coastal lowlands with low levels of genetic diversity. *Evolution* 43: 231-235.
- Moran, C.F., O. Mouna & J.C. Bell. 1989b. Breeding systems and genetic diversity in *Acacia auriculiformis* and *A. crassicaarpa*. *Biotropica* 21: 250-256.
- Murawski, D.A. and J.L. Hamrick. 1990. The breeding structure of tropical tree populations. *Pl. Sp. Biol.* 5: 157-167.
- Murawski, D.A. & J.L. Hamrick. 1991. The effects of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity* 67: 167-174.
- Murawski, D.A. & J.L. Hamrick. 1992. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. *Biotropica* 24: 99-101.
- Murawski, D.A., B. Dayanandan & K.S. Bawa. 1994. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forests. *Biotropica* 26: 23-29.
- Nettancourt, D. de, 1977. *Incompatibility in angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- Murillo, O & O.J. Rocha. 1999. Gene flow and geographical variation in natural populations of *Alnus acuminata* ssp. *arguta* (Fagales: Betulaceae) in Costa Rica and Panama. *Rev. Biol. Trop.* 47: 739-753.
- Nason, J.D. & J.L. Hamrick. 1997. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. *J. Heredity* 88: 264-276.
- O'Malley, D.M. & K.S. Bawa. 1987. Mating systems of a tropical rain forest tree species. *Amer. J. Bot.* 82: 501-506.
- O'Malley, D.M., D.P. Buckley, G.T. Prance & K.S. Bawa. 1988. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae) 2. Mating system.

- Theor. Appl. Genetics 76: 929-932.
- Pascarella, J.B. 1997. The mating system of the tropical understory shrub *Ardisia escalloniodes* (Myrsinaceae). *Amer. J. Bot.* 84: 456-460.
- Pérez-Nasser, N., L.E. Eguiarte & D. Piñero. 1993. Mating systems and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). *Amer. J. Bot.* 80: 45-52.
- Richards A.J. 1986. Plant breeding systems. 2nd Ed. Chapman & Hall, Cambridge, Great Britain.
- Rocha, O.J. & J.A. Lobo. 1996. Genetic variation and differentiation among five populations of the Guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.) in Costa Rica. *Int. J. Pl. Sc.* 157: 234-239.
- Rocha, O.J. & G. Aguilar. 2001b. Variation in the breeding behavior of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between trees left in pastures and trees in continuous forest. *Amer. J. Bot.* 88: 1600-1606.
- Rocha, O.J. & G. Aguilar. 2001a. Reproductive biology of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between trees left in pastures and trees in continuous forest. *Amer. J. Bot.* 88: 1607-1614.
- Schoen, D.J. 1982a. The breeding system of *Gilia achilleifolia*: variation in floral characteristics and outcrossing rate. *Evolution* 36: 352-360.
- Schoen, D.J. 1982b. Genetic variation and breeding systems of *Gilia achilleifolia*. *Evolution* 36: 361-370.
- Stebbins, G.L. 1950. Variation and evolution in plants. Columbia University Press, New York, USA.
- Stebbins, G.L. 1957. Self fertilization and plant variability in higher plants. *Amer. Natur.* 91: 337-354.
- Willson, M.F. 1983. Plant reproductive ecology. John Wiley and Sons, USA.
- Wright, S. 1921. Systems of mating. *Genetics* 6:111-178.

**Oscar J. Rocha** is a population biologist interested in a diverse range of topics related to conservation of biological diversity in the Neotropics. Particularly, he is interested in the reproductive biology of tropical plants and the impact of man-made disturbances, such as habitat fragmentation and degradation, and overexploitation, on breeding systems and genetic diversity. He is currently a professor of Biology at the Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

## THE GENETIC STRUCTURE OF ORCHID POPULATIONS AND ITS EVOLUTIONARY IMPORTANCE

RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1,3</sup> & JAMES D. ACKERMAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Puerto Rico – Humacao, Department of Biology, Humacao, Puerto Rico, 00791, U.S.A.

<sup>2</sup>University of Puerto Rico – Río Piedras, Department of Biology  
P.O. Box 23360, San Juan, Puerto Rico, 00931-3360, U.S.A.

<sup>3</sup>Author for correspondence: raymond@hpcf.upr.edu

Evolution through either natural selection or genetic drift is dependent on variation at the genetic and morphological levels. Processes that influence the genetic structure of populations include mating systems, effective population size, mutation rates and gene flow among populations. We investigated the patterns of population genetic structure of orchids and evaluated if evolutionary processes are more likely at the individual population level than at the multipopulation/species level. We hypothesized that because orchid populations are frequently small and reproductive success is often skewed, we should observe many orchids with high population genetic substructure suggesting limited gene flow among populations. If limited gene flow among populations is a common pattern in orchids, then it may well be an important component that affects the likelihood of genetic drift and selection at the local population level. Such changes may lead to differentiation and evolutionary diversification.

A main component in evolutionary processes is the necessary condition of isolation. The amount of gene flow among local populations will determine whether or not individual populations (demes) can evolve independently which may lead to cladogenesis. Usually one migrant per generation is sufficient to prevent populations from evolving independently from other populations when effective population sizes are large. Theoretically, if the gene flow rate,  $Nm$  (the effective number of migrants per generation;  $N$  = effective population size,  $m$  = migration rate), is larger than two individuals per generation, then it is sufficient to prevent local adaptation while gene flow less than one per generation will likely result in population differentiation by selection or genetic drift (Merrell 1981, Roughgarden 1996). If  $Nm$  lies between one and two, there will be considerable variation in gene frequencies among populations (Merrell 1981). Consequently,

populations will have similar genetic structure as if mating were panmictic ( $Nm > 2$ ). Alternatively, if gene flow is low ( $Nm < 1$ ), populations will have different genetic structures that may result in evolutionary change through either adaptation to the local environments via natural selection or through random effects such as genetic drift.

Direct observation of gene flow can be viewed by the use of mark and recapture studies (for mobile organisms, or stained pollen) or tracking marker alleles (paternity analysis) over a short number of generations. Few orchid studies have attempted to directly observe gene flow and thus far only staining or micro-tagging pollinaria have been used (Peakall 1989, Nilsson *et al.* 1992, Folsom 1994, Tremblay 1994, Salguero-Farías & Ackerman 1999). All these studies examined gene flow only within populations.

Indirect methods for detecting gene flow are obtained from allele frequencies and are an estimate of the average long-term effect of genetic differentiation by genetic drift. The alleles are assumed to be neutral so that genetic differentiation based on these markers would be a consequence of drift rather than natural selection. Bohomak (1999) concluded that simple population genetic statistics are robust for inferring gene flow among groups of individuals.

The most common approach is the degree of population differentiation at the genetic level using Wright's  $F$  estimates on data obtained through protein electrophoresis or various PCR type approaches. The  $F$  statistics separate the amount of genetic variation which can be attributed to inbreeding among closely related individuals in a population:  $FIS$  is the inbreeding coefficient within individuals;  $FIT$  is the result of non random mating within a population and the effect of population subdivision; and a third statistic,  $FST$ , is the fixation index due to random genetic drift and the lack of panmixia among populations (Wright 1978).



Table 1. Estimates of gene flow in orchids. Nm(W) = gene flow estimates based on Wright's statistics; Gst coefficient of genic differentiation among populations. <sup>1</sup> Nm calculated by the present authors from Gst or Fst using formula on p. 320 of Hartl & Clark (1989). <sup>2</sup> Recalculated using previous formula, original Nm value 3.70. <sup>3</sup> Calculated from RAPD markers. <sup>4</sup> Calculated from cpDNA. <sup>5</sup> No genetic differentiation found among populations. <sup>6</sup> Calculated according to Weir and Cockerham's statistics. <sup>7</sup> Estimated using RAPD's and AMOVA.

Species	References	Nm(W)	Gst
<i>Calypso bulbosa</i> (L.) Oakes	Alexandersson & Ågren 2000	3.20	0.072
<i>Caladenia tentaculata</i> Tate	Peakall & Beattie 1996	7.10 <sup>1</sup>	0.0346
<i>Cephalanthera damasonium</i> (Mill.) Druce	Scacchi, De Angelis & Corbo 1991	--5	--5
<i>Cephalanthera longifolia</i> (L.) Fritsch	Scacchi, De Angelis & Corbo 1991	2.15 <sup>1</sup>	0.104
<i>Cephalanthera rubra</i> (L.) Rich.	Scacchi, De Angelis & Corbo 1991	0.76 <sup>1</sup>	0.247
<i>Cymbidium goeringii</i> Rchb. f.	Chung & Chung 1999	2.30	0.098
<i>Cypripedium acaule</i> Ait.	Case 1994	1.27 <sup>1</sup>	0.164
<i>Cypripedium calceolus</i> L.	Case 1993, 1994	1.63 <sup>1</sup>	0.196
<i>Cypripedium candidum</i> Muhl. ex Willd.	Case 1994	3.37 <sup>1</sup>	0.069
<i>Cypripedium fasciculatum</i> Kellogg ex S. Watson	Aagaard, Harrod & Shea 1999	6.00	0.04
<i>Cypripedium kentuckiense</i> C. F. Reed	Case <i>et al.</i> 1998	1.12 <sup>2</sup>	0.182
<i>Cypripedium parviflorum</i> Salisb.			
var. <i>pubescens</i> (Willd.) O. W. Knight	Case <i>et al.</i> 1998	1.28 <sup>1</sup>	0.163
Southern populations	Wallace & Case 2000	0.94	0.209
Northern populations		1.57	0.137
var. <i>makasin</i> (Farw.) Sheviak		1.00	0.199
var. <i>parviflorum</i>		1.43	0.149
species level		0.83	0.232
<i>Cypripedium reginae</i> Walter	Case 1994	0.47 <sup>1</sup>	0.349
<i>Dactylorhiza romana</i> (Sebastiani) Soó	Bullini <i>et al.</i> 2001	3.32 <sup>1</sup>	0.07
<i>Dactylorhiza sambucina</i> (L.) Soó	Bullini <i>et al.</i> 2001	1.31 <sup>1</sup>	0.16
<i>Epidendrum conopseum</i> R. Br.	Bush, Kutz & Anderton 1999	1.43 <sup>3</sup>	0.149
<i>Epipactis helleborine</i> (L.) Crantz	Scacchi, Lanzara & De Angelis 1987	7.3 <sup>1</sup>	0.033
European populations	Squirrell <i>et al.</i> , 2001	1.00 <sup>1</sup>	0.200
North American	Hollingsworth & Dickson 1997	0.24 <sup>1,4</sup>	0.506 <sup>4</sup>
		2.53 <sup>1</sup>	0.240
		0.791	
<i>Epipactis youngiana</i> Richards & Porter	Harris & Abbott 1997	2.431	0.093
<i>Eulophia sinensis</i> Miq.	Sun & Wong 2001	---	0.0
		0.133 <sup>1,3</sup>	0.653 <sup>3</sup>
<i>Gooyera procera</i> Ker-Gawl.	Wong & Sun 1999	0.221 <sup>1</sup>	0.523
		0.397 <sup>1,3</sup>	0.386 <sup>3</sup>
<i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) R. Br.	Scacchi & De Angelis 1990	0.2801	0.471
<i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) R. Br. <i>conopsea</i>	Soliva & Widmer 1999	2.96	0.078
<i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) R. Br.			
subsp. <i>densiflora</i> (Wahl) E.G. Camus & A. Camus	Soliva & Widmer 1999	0.39	0.391
<i>Lepanthes caritensis</i> Tremblay & Ackerman	Carronero, Tremblay & Ackerman (unpublished)	1.30	0.167
<i>Lepanthes rupestris</i> Stimson	Tremblay & Ackerman 2001	1.84	0.170
<i>Lepanthes rubripetala</i> Stimson	Tremblay & Ackerman 2001	0.62	0.270
<i>Lepanthes eltoroensis</i> Stimson	Tremblay & Ackerman 2001	0.89	0.220
<i>Lepanthes sanguinea</i> Hook.	Carronero, Tremblay & Ackerman (unpublished)	1.45	0.144

Species	References	Nm(W)	Gst
<i>Lepanthes woodburyana</i> Stimson	Carronero, Tremblay & Ackerman (unpublished)	7.5	0.032
<i>Nigritella rhellicani</i> Teppner & Klein	Hedrén, Klein & Teppner 2000	1.381	0.153
<i>Orchis laxiflora</i> Lam.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	2.85 <sup>1</sup>	0.08
	Arduino <i>et al.</i> 1996	1.97 <sup>1</sup>	0.116
<i>Orchis longicornu</i> Poir.	Corrias <i>et al.</i> 1991	12.25 <sup>2</sup>	0.02
<i>Orchis mascula</i> (L.) L.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	2.761	0.083
<i>Orchis morio</i> L.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	3.66 <sup>1</sup>	0.064
	Rossi <i>et al.</i> 1992	4.75 <sup>1</sup>	0.05
<i>Orchis papilionacea</i> L.	Scacchi, De Angelis & Lanzara, 1990	6.33 <sup>1</sup>	0.038
<i>Orchis palustris</i> Jacq.	Arduino <i>et al.</i> 1996	0.31 <sup>1</sup>	0.448
<i>Orchis pauciflora</i> Ten.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	6.00 <sup>1</sup>	0.040
<i>Orchis provincialis</i> Balb.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	10.62 <sup>1</sup>	0.023
<i>Orchis purpurea</i> Huds.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	5.70 <sup>1</sup>	0.042
<i>Orchis tridentata</i> Scop.	Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990	6.16 <sup>1</sup>	0.039
<i>Paphiopedilum micranthum</i> T. Tang & F. T. Wang	Li, Luo & Ge 2002	0.06 <sup>1</sup>	0.797 <sup>7</sup>
<i>Platanthera leucopaea</i> (Nutt.) Lindl.	Wallace 2002	0.08 <sup>1</sup>	0.754
		0.71 <sup>1</sup>	0.26 <sup>3</sup>
<i>Pterostylis</i> aff. <i>alata</i> (Labill.) Rchb.f.	Sharma <i>et al.</i> 2001	0.81 <sup>1</sup>	0.235
<i>Pterostylis angusta</i> A.S. George	Sharma <i>et al.</i> 2001	1.30 <sup>1</sup>	0.161
<i>Pterostylis aspera</i> D. L. Jones & M. A. Clem.	Sharma <i>et al.</i> 2001	1.01 <sup>1</sup>	0.198
<i>Pterostylis gibbosa</i> R. Br.	Sharma, Clements & Jones 2000	1.42	0.15
<i>Pterostylis hamiltonii</i> Nicholls	Sharma <i>et al.</i> 2001	0.86 <sup>1</sup>	0.225
<i>Pterostylis rogersii</i> E. Coleman	Sharma <i>et al.</i> 2001	1.10 <sup>1</sup>	0.186
<i>Pterostylis scabra</i> Lindl.	Sharma <i>et al.</i> 2001	0.83 <sup>1</sup>	0.232
<i>Spiranthes diluvialis</i> Sheviak	Arft & Ranker 1998	5.44	0.044
<i>Spiranthes sinensis</i> (Pers.) Ames	Sun 1996	1.19	0.174
<i>Spiranthes hongkongensis</i> S. H. Hu & Barretto	Sun 1996	-- <sup>5</sup>	-- <sup>5</sup>
<i>Tipularia discolor</i> (Pursh) Nutt.	Smith, Hunter & Hunter 2002	0.35 <sup>7</sup>	0.415
<i>Tolumnia variegata</i> (Sw.) Braem	Ackerman & Ward 1999	2.50	0.09
<i>Vanilla claviculata</i> (W. Wright) Sw.	Nielsen & Siegismund 1999	1.33	0.158
<i>Vanilla barbellata</i> Rchb. f.	Nielsen & Siegismund 1999	1.78	0.123
<i>Zeuxine gracilis</i> Blume	Sun & Wong 2001	0.500 <sup>1</sup>	0.333
		0.214 <sup>1</sup>	0.539 <sup>3</sup>
<i>Zeuxine strateumatica</i> Schltr.	Sun & Wong 2001	0.021 <sup>3</sup>	0.924 <sup>3</sup>

Consequently, if we make the assumption that the genetic markers sampled are neutral or nearly neutral and that the observed level of  $F_{ST}$  is a measure of the current gene flow among populations (rather than a historical remnant), then we can evaluate the likelihood that populations are effectively isolated. The scale of  $F_{ST}$  is from 0 (no population subdivision) to 1.0 (complete genetic differentiation among populations).

We gathered population genetic data for 58 species of terrestrial and epiphytic orchids from temperate and tropical species. The data are biased toward terrestrial/temperate species ( $N = 44$ ). We found only

three studies of terrestrial/tropical species and ten epiphytic/tropical. There is also a bias toward certain taxa: *Orchis*, *Cyripedium*, *Pterostylis* and *Lepanthes* account for nearly half (30) of the 61 records (Table 1), 10 species of *Orchis*, 7 species each of *Cyripedium* and *Pterostylis*, 6 species of *Lepanthes*, 3 species of *Spiranthes*, *Epipactis*, *Cephalanthera* and *Gymnadenia*, 2 species of *Dactylorhiza*, *Epipactis*, *Vanilla* and *Zeuxine*, and one species each of *Caladenia*, *Calypso*, *Cymbidium*, *Epidendrum*, *Eulophia*, *Goodyera*, *Nigritella*, *Paphiopedilum*, *Platanthera*, *Tipularia*, and *Tolumnia*.

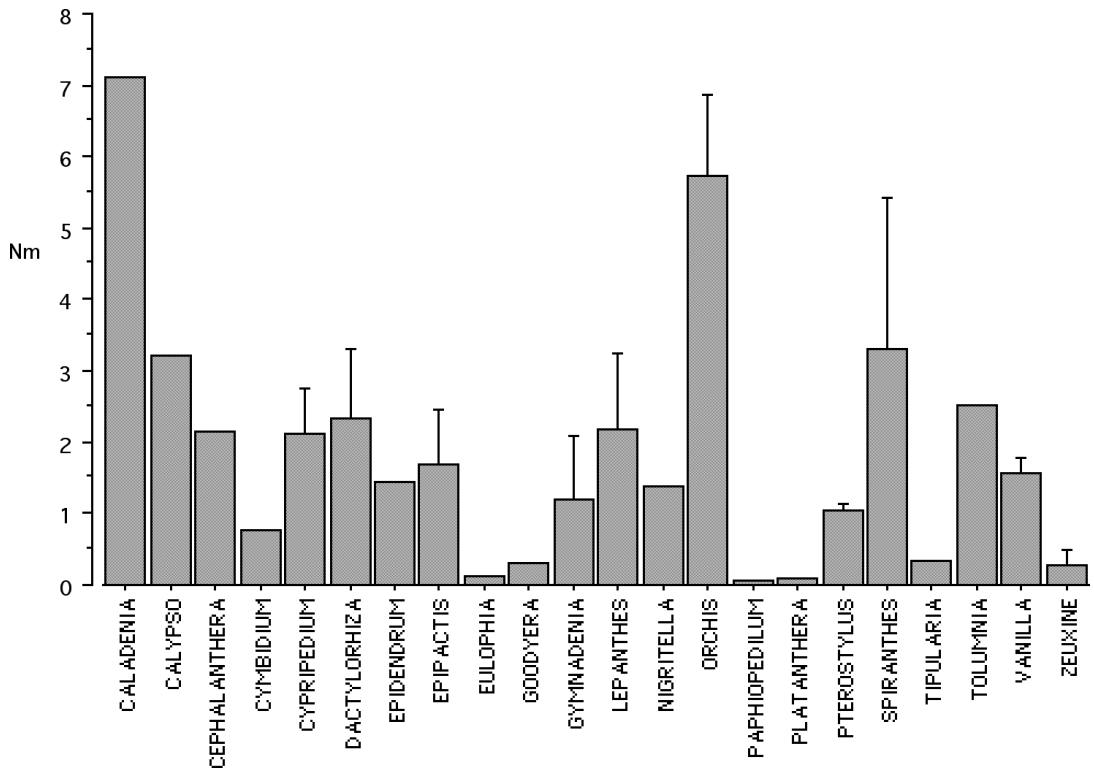


Figure 1: Distribution of mean (s.e.) gene flow (Nm) among genera of Orchids. Bars without error bars of single data points.

Gene flow among populations varies among species ranging from a high of 12 effective migrants per generation in *Orchis longicornu* (Corrias *et al.* 1991) to lows of less than 0.2 in *Zeuxine strateumatica* (Sun & Wong 2001). Assembling the species in groups based on their estimates of gene flow, we note that 18 species have less than one migrant per generation, while 19 species have more than two migrants per generation, and 17 of the species have a migration rates between one and two. No genetic differentiation was found among populations for *Cephalanthera damasonium* (Scacchi, De Angelis & Corbo 1991) and *Spiranthes hongkongensis* (Sun 1996). Consequently these two species are excluded from further analysis.

*Orchis* species typically have high estimates of gene flow among populations (Scacchi, De Angelis & Lanzara 1990, Corrias *et al.* 1991, Rossi *et al.* 1992) whereas *Lepanthes* and *Pterostylis* species have much lower gene flow estimates (Tremblay & Ackerman 2001, Sharma, Clements & Jones 2000; Sharma *et al.*

2001). However even within a genus variation in gene flow can be extensive (Table 1).

Are there phylogenetic associations with gene flow? The data for *Orchis* (mean Nm = 5.7), *Lepanthes* (mean Nm = 2.1) and *Pterostylis* (mean Nm = 1.0) are suggestive, but much more extensive sampling is needed for both temperate and tropical species. Curiously, *Lepanthes* and *Orchis* have very different population genetic parameters yet both are species-rich genera and are likely in a state of evolutionary flux. It seems to us that orchids have taken more than one expressway to diversification. For the group of species which has more than 2 migrants per generation local populations will not evolve independently, but as a group, consequently local morphological and genetic differences among groups will be wiped out, and populations will become homogeneous if gene flow continues at the level. When gene flow is high, selection studies from different populations should be evaluated together (Fig. 1).

For populations that have less than one migrant per

generation, local populations can evolve independently, and evolutionary studies should be done at the local level. In small populations, we may expect genetic drift to be present and selection coefficients should be high to counteract the effects of drift.

For species with intermediate gene flow it is probably wise to evaluate evolutionary processes at the local and multi-population/species level. We expect variance in migration rates to be large because of the skewed reproductive success among individuals, time periods and populations. Consequently, the outcome of the evolutionary process will likely depend on the amount and variation of the migration events and consistency in migration rates in time. If variance in gene flow through space and time is small, then the genetic differentiation will be more or less stable. But, for example, if variance in gene flow is high, with some periods having high gene flow followed by little or no gene flow for an extended period of time, it is possible that through natural selection and genetic drift local populations might differentiate sufficiently for cladogenesis during the period of reduced immigration.

Species with less than one migrant per population are basically unique evolutionary units evolving independently from other local populations. In populations with large  $N_e$  ( $> 50$ ), it is likely that natural selection will dominate evolutionary processes while if  $N_e$  is small ( $< 50$ ) genetic drift and selection can both be responsible for evolution. Consequently for these species, local adaptation to specific environmental conditions is possible.

This survey of population genetics studies of orchids shows that multiple evolutionary processes have likely been responsible for the remarkable diversification in orchids.

#### LITERATURE CITED

- Aagaard J.E., R.J. Harrod & K.L. Shea. 1999. Genetic variation among populations of the rare clustered lady-slipper orchid (*Cypripedium fasciculatum*) from Washington State, USA. *Nat. Areas J.* 19: 234-238
- Ackerman J.D. & S. Ward. 1999. Genetic variation in a widespread epiphytic orchid: where is the evolutionary potential? *Syst. Bot.* 24: 282-291.
- Alexandersson, R. & J. Ågren. 2000. Genetic structure of the nonrewarding bumblebee pollinated *Calypso bulbosa*. *Heredity* 85: 401-409
- Arduino, P., F. Verra, R. Cianchi, W. Rossi, B. Corrias, & L. Bullini. 1996. Genetic variation and natural hybridization between *Orchis laxiflora* and *Orchis palustris* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 202: 87-109.
- Arft, A.M. & T.A. Ranker. 1998. Allopolyploid origin and population genetics of the rare orchid *Spiranthes diluvialis*. *Am. J. Bot.* 85: 110-122.
- Bohomak, A.J. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *Quart. Rev. Biol.* 74: 21-45.
- Bullini, L., R. Cianchi, P. Arduino, L. De Bonis, M. C. Mosco, A. Verdi, D. Porretta, B. Corrias & W. Rossi. 2001. Molecular evidence for allopolyploid speciation and a single origin of the western Mediterranean orchid *Dactylorhiza insularis* (Orchidaceae). *Biol. J. Lin. Soc.* 72: 193-201.
- Bush, S.T., W.E. Kutz & J.M. Anderton. 1999. RAPD variation in temperate populations of epiphytic orchid *Epidendrum conopseum* and the epiphytic fern *Pleopeltis polypodioides*. *Selbyana* 20: 120-124.
- Case, M.A. 1993. High levels of allozyme variation within *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) and low levels of divergence among its varieties. *Syst. Bot.* 18: 663-677.
- Case, M.A. 1994. Extensive variation in the levels of genetic diversity and degree of relatedness among five species of *Cypripedium* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 175-184.
- Case, M.A., H.T. Mlodozienec, L.E. Wallace & T.W. Weldy. 1998. Conservation genetics and taxonomic status of the rare Kentucky Lady's slipper: *Cypripedium kentuckiense* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 85: 1779-1779.
- Chung, M.Y. & M.G. Chung. 1999. Allozyme diversity and population structure in Korean populations of *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *J. Pl. Res.* 112: 139-144.
- Corrias, B., W. Rossi, P. Arduino, R. Cianchi & L. Bullini. 1991. *Orchis longicornu* Poiret in Sardinia: genetic, morphological and chronological data. *Webbia* 45: 71-101.
- Folsom, J.P. 1994. Pollination of a fragrant orchid. *Orch. Dig.* 58: 83-99.
- Harris, S.A. & R. J. Abbott. 1997. Isozyme analysis of the reported origin of a new hybrid orchid species, *Epipactis youngiana* (Young's helleborine), in the British Isles. *Heredity* 79: 402-407.
- Hedrén, M., E. Klein & H. Teppner. 2000. Evolution of polyploids in the European orchid genus *Nigritella*: Evidence from allozyme data. *Phyton* 40: 239-275.
- Hollingsworth, P.M. & J.H. Dickson. 1997. Genetic variation in rural and urban populations of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. (Orchidaceae) in Britain. *Bot. J. Linn. Soc.* 123: 321-331.
- Li, A, Y., B. Luo & S. Ge. 2002. A preliminary study on conservation genetics of an endangered orchid (*Paphiopedilum micranthum*) from Southwestern China. *Bioch. Gen.* 40: 195-201.
- Merrell, D.J. 1981. *Ecological Genetics*. University of Minnesota Press, Minneapolis, Minnesota.
- Nielsen, L.R. & H.R. Siegismund. 2000. Interspecific differentiation and hybridization in *Vanilla* species (Orchidaceae). *Heredity* 83: 560-567.

- Nilsson, L.A., E. Rabakonandrianina & B. Pettersson. 1992. Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. *Nature* 360: 666-667.
- Peakall, R. 1989. A new technique for monitoring pollen flow in orchids. *Oecologia* 79: 361-365.
- Peakall, R. & A. J. Beattie. 1996. Ecological and genetic consequences of pollination by sexual deception in the orchid *Caladenia tentaculata*. *Ecology* 50: 2207-2220.
- Rossi, W., B. Corrias, P. Arduino, R. Cianchi & L. Bullini L. 1992. Gene variation and gene flow in *Orchis morio* (Orchidaceae) from Italy. *Pl. Syst. Evol.* 179: 43-58.
- Roughgarden, J. 1996. Theory of population genetics and evolutionary ecology: An Introduction. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.
- Salguero-Faría, J.A. & J.D. Ackerman. 1999. A nectar reward: is more better? *Biotropica* 31: 303-311.
- Scacchi, R., G. De Angelis & R.M. Corbo. 1991. Effect of the breeding system on the genetic structure in *Cephalanthera* spp. (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 176: 53-61.
- Scacchi, R., G. De Angelis & P. Lanzara. 1990. Allozyme variation among and within eleven *Orchis* species (fam. Orchidaceae), with special reference to hybridizing aptitude. *Genetica* 81: 143-150.
- Scacchi, R. and G. De Angelis. 1990. Isoenzyme polymorphisms in *Gymnaedenia* [sic] *conopsea* and its inferences for systematics within this species. *Bioch. Syst. Ecol.* 17: 25-33.
- Scacchi, R., P. Lanzara & G. De Angelis. 1987. Study of electrophoretic variability in *Epipactis heleborine* (L.) Crantz, *E. palustris* (L.) Crantz and *E. microphylla* (Ehrh.) Swartz (fam. Orchidaceae). *Genetica* 72: 217-224.
- Sharma, I.K., M.A. Clements & D.L. Jones. 2000. Observations of high genetic variability in the endangered Australian terrestrial orchid *Pterostylis gibbosa* R. Br. (Orchidaceae). *Bioch. Syst. Ecol.* 28: 651-663.
- Sharma, I.K., D.L. Jones, A.G. Young & C.J. French. 2001. Genetic diversity and phylogenetic relatedness among six endemic *Pterostylis* species (Orchidaceae; series *Grandiflorae*) of Western Australia, as revealed by allozyme polymorphisms. *Bioch. Syst. Ecol.* 29: 697-710.
- Smith, J.L., K.L. Hunter & R.B. Hunter. 2002. Genetic variation in the terrestrial orchid *Tipularia discolor*. *Southeastern Nat.* 1: 17-26
- Soliva, M. & A. Widmer A. 1999. Genetic and floral divergence among sympatric populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchidaceae) with different flowering phenology. *Int. J. Pl. Sci.* 160: 897-905.
- Squirrel, J., P.M. Hollingsworth, R.M. Bateman, J.H. Dickson, M.H.S. Light, M. MacConaill & M.C. Tebbitt. 2001. Partitioning and diversity of nuclear and organelle markers in native and introduced populations of *Epipactis helleborine* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 88: 1409-1418.
- Sun, M. 1996. Effects of Population size, mating system, and evolution origin on genetic diversity in *Spiranthes sinensis* and *S. hongkongensis*. *Cons. Biol.* 10: 785-795.
- Sun, M. & K.C. Wong. 2001. Genetic structure of three orchid species with contrasting breeding system using RAPD and allozyme markers. *Amer. J. Bot.* 88: 2180-2188.
- Tremblay, R.L. 1994. Frequency and consequences of multi-parental pollinations in a population of *Cypripedium calceolus* L. var. *pubescens* (Orchidaceae). *Lindleyana* 9: 161-167.
- Tremblay, R.L. & J.D. Ackerman. 2001. Gene flow and effective population size in *Lepanthes* (Orchidaceae): a case for genetic drift. *Biol. J. Linn. Soc.* 72: 47-62.
- Wallace, L.A. 2002. Examining the effects of fragmentation on genetic variation in *Platanthera leucophaea* (Orchidaceae): Inferences from allozyme and random amplified polymorphic DNA markers. *Pl. Sp. Biol* 17: 37-39.
- Wallace, L.A. & M. A. Case. 2000. Contrasting diversity between Northern and Southern populations of *Cypripedium parviflorum* (Orchidaceae): Implications for Pleistocene refugia and taxonomic boundaries. *Syst. Bot.* 25: 281-296.
- Wong, K.C. & M. Sun. 1999. Reproductive biology and conservation genetics of *Goodyera procera* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 86: 1406-1413.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. Chicago, The University of Chicago Press.

**Raymond L. Tremblay** is an associate professor at the University of Puerto Rico in Humacao and graduate faculty at UPR- Río Piedras. He obtained his B.Sc. with Honours at Carleton University, Ottawa, Canada in 1990 and his Ph.D. at the University of Puerto Rico in Río Piedras in 1996. He is presently the chairman of the *In situ* Orchid Conservation Committee of the Orchid Specialist Group. He is interested in evolutionary and conservation biology of small populations. Presently his interest revolves in determining the life history characters that limit population growth rate in orchids and evaluating probability of extinction of small orchid populations.

**James D. Ackerman**, Ph.D., is Senior Professor of Biology at the University of Puerto Rico, Río Piedras. He is an orchidologist, studying pollination and systematics.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

Sesión / *Session*

**BIOLOGÍA DE LA POLINIZACIÓN**  
***POLLINATION BIOLOGY***

## RESUPINATION

JOSEPH ARDITTI

Professor Emeritus

Department of Developmental and Cell Biology, University of California  
Irvine, CA 92697-2300, U. S. A.

In the great majority of orchids buds are positioned with the labella uppermost and the gynostemium below them. However, flowers are borne with gynostemium above the labella which are lowermost. This reversal of positions occurs as a result of a process called resupination which takes place as buds open. In most species the buds turn only to the extent necessary to place the labellum lowermost which is usually 180°, but depending on the position of the inflorescence the turning can be more or less than that. Some species do not resupinate at all and their flowers are often described as being borne upside down. And, the buds of a few species turn 360° ending up as they started, with the labella uppermost.

The earliest illustrations of resupination were made around 1550 by the Swiss naturalist Conrad Gesner (1516-1565), but his *Opera Botanica* which contains them was not published until 1751. Georgius Everhardus Rumphius (1627-1702) was the second to illustrate the process in his drawing of an Ambonese orchid. His *Herbarium Amboinense* was published in 1741 (i. e., 10 years before *Opera Botanica* which means that the second illustrations to be made were published before the first). A drawing by Marcello Malpighi (1628-1694) of an orchid he refers to as *Palma Christi* shows spiral grooves which are indicative of resupination on the ovary. This is the third or perhaps second illustration of the process to be made, but it was the very first to be published (1675). What may well be the first illustrations of resupination by American orchids were prepared ca. 1760 by the artists of an expedition to New Grenada led by Jose Celestino Mutis (1732-1808). Publication of these illustrations started in 1963 (for reviews see Ernst & Arditti 1994; Wehner, Zierau & Arditti, 2002).

Resupination usually occurs just prior to or shortly after anthesis. Once flowers are fully open, they can no longer resupinate. However, the flowers of some

species deresupinate following pollination. Another interesting characteristic of resupination is that in some species and hybrids the buds alternate in resupinating clock (CL)- and counter clock (CO)-wise. In other orchids the flowers may resupinate in one direction (CL or CO) only.

Surgical experiments by Noes Soediono (owner of Flora Sari Orchids in Jakarta, Indonesia), the late Dr. Leslie P. Nyman (my postdoctoral fellow at the time) and myself showed that removal of gynostemium tips, pollinia or stigmas prevent or inhibit resupination. Since orchid pollinia contain large amounts of indoleacetic acid (IAA) these experiments suggested that resupination may be controlled by auxin. This possibility was explored by Professor Helen Nair (Botany Department, University of Malaya, now retired) and myself (while on sabbatical leave with her). We found that resupination of *Aranda Kooi* Choo buds whose gynostemium were excised can be restored by applications of IAA and naphthaleneacetic acid (NAA). The synthetic cytokinin benzyladenine (BA) can also reestablish resupination to some extent, but it probably acts through its auxin sparing effect. These findings suggested that resupination is a gravitropic phenomenon which conforms to the Cholodny-Went hypothesis. Confirmation of this assumption on the role of auxin was obtained by Prof. Nair and myself in experiments with auxin transport inhibitors, an antiauxin and a calcium chelator (for a review see Ernst & Arditti, 1994).

Darwin suggested that resupination facilitates pollination because "the labellum assumes the position of a lower petal, so that insects can easily visit the flower." Perhaps, but according to the literature *Euglossa cordata* pollinates both resupinate and non resupinate flowers. Another possibility is that resupination positions flowers in a manner which exposes them to light in a way that emphasizes pat-

terns and nectar guides. Sunlight can also raise the temperature of flowers and volatilize scents. Resupination may also provide flowers with space to open because in many orchids the buds are arranged tightly on the developing inflorescence.

Finally it is interesting to note that even if not limited to orchids, resupination is viewed by some as a “trademark” characteristic of the Orchidaceae. Regardless of whether it is or is not a specific characteristic of orchids, resupination does provide orchids with a survival advantage.

#### LITERATURE CITED

- Ernst, R. and J. Arditti. 1994. Resupination. Pages 135-188 in J. Arditti (ed.), *Orchid biology, reviews and perspectives VI*. John Wiley and Sons, New York.
- Wehner, U., W. Zierau, and J. Arditti. 2002. Plinius Germanicus and Plinius Indicus: Sixteenth and seventeenth century descriptions and illustrations of orchid “trash baskets,” resupination, seeds, floral segments and flower senescence in the European botanical literature. Pages 1-81 in T. Kull and J. Arditti (ed.), *Orchid biology, reviews and perspectives VII*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

**Joseph Arditti** received his doctorate from the University of Southern California in Los Angeles in 1965. One year after he was appointed Assistant Professor at the University of California, Irvine (UCI). He remained at UCI for his entire career doing research on orchid physiology and development, advanced to the rank of Professor and retired in 2001 becoming Professor Emeritus. Professor Arditti also spent time doing research and teaching at the Bogor Botanical Gardens in Indonesia (with the late Dr. Djunaedi Gaqndawijaja), University of Malaya in Malaysia (with Professor Helen Nair) and the National University of Singapore which he considers his second academic home (with Professors P. N. ‘Danny’ Avadhani, Choi Sin Hew and A. N. Rao). He is the author, coauthor and editor of several hundred research papers and articles, and fourteen books. Dr. Arditti lives in Irvine, California with his son Jonathan.



# POLINIZACIÓN DE ORQUÍDEAS EN GUATEMALA: LOS POLINIZADORES, EL ESTADO NATURAL DE SUS POBLACIONES Y LAS IMPLICACIONES PARA LAS ESPECIES POLINIZADAS

MARGARET A. DIX & MICHAEL W. DIX

Universidad del Valle de Guatemala  
Apartado Postal 82, Guatemala, Guatemala 01901. mdix@uvg.edu.gu

Se ha logrado identificar por observación directa a los polinizadores de 118 especies de orquídeas, que representan el 16% de los 734 taxa confirmados en Guatemala. Respecto a otras 233 especies (32%), la literatura nos permite sugerir las categorías representadas por los polinizadores. Los órdenes de mayor importancia en la polinización, según nuestros conocimientos hasta la fecha, son Himenóptera, responsable de la polinización de 46% de las especies

(Euglossini 16%), y Díptera, que poliniza un 28%. Solamente 8 % de las especies de orquídeas son capaces de autofecundarse.

Se presenta un análisis de las especies identificadas como polinizadores hasta la fecha. Se discute el estado de sus poblaciones en la naturaleza y las posibles consecuencias para las especies silvestres de orquídeas que dependen de los polinizadores para su reproducción.

**Margaret Dix** es investigadora en la Universidad del Valle de Guatemala. Es Doctora en Biología y durante 30 años ha sido catedrática e investigadora en Guatemala. Ella realiza proyectos de investigación sobre ríos y lagos (manejo de cuencas, monitoreo, calidad de agua), control biológico de zancudos, taxonomía y ecología de la familia Orchidaceae, en especial *Lycaste* en Guatemala.

**Michael Dix** es investigador y catedrático del Instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala, con Ph.D. de Harvard University y con 36 años de docencia universitaria e investigación. Ha estudiado ecosistemas tropicales con énfasis en distribución de epífitas, especialmente orquídeas y bromelias, y reproducción *ex situ* de epífitas.

## ***RHYNCHOSTELE BICTONIENSIS*: CAMBIOS EN ABUNDANCIA Y ÉXITO DE POLINIZACIÓN ENTRE 1992 Y 2002**

MICHAEL W. DIX & MARGARET A. DIX

Universidad del Valle de Guatemala  
Apartado Postal 82, Guatemala, Guatemala 01901. mdix@uvg.edu.gu

La orquídea *Rhynchosele bictoniensis* ha sido estudiada por más de 25 años en las cercanías de la ciudad de Guatemala. Aunque el área se ha protegido, la población de esta especie ha ido progresivamente reduciéndose desde 1992. Una comparación entre los años 1990-1991 y 2001-2002 demuestra una reducción de 30% en el tamaño de la población y una reducción de 70% en el número de flores producidas. Solamente 2% de las flores fueron visitadas en el año 2001, comparado con 16% en el año 1990. En este año 9% de las flores fueron fecundadas, comparado

con 0.25% en 2001. Aunque por lo menos 15% de las cápsulas produjeron semillas en 1990, en 2001 ninguna llegó a la madurez. No existen plantas juveniles ni protocormos en el bosque. La abeja *Bombus* spp. tenía solamente una colonia conocida cercana al área de estudio en 2001, comparado con seis encontradas en 1990.

Se analizan los factores ambientales posiblemente responsables de estas diferencias y se discute la importancia relativa de los cambios climáticos observados.

**Michael Dix** es investigador y catedrático del Instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala, con Ph.D. de Harvard University y con 36 años de docencia universitaria e investigación. Ha estudiado ecosistemas tropicales con énfasis en distribución de epífitas, especialmente orquídeas y bromelias, y reproducción *ex situ* de epífitas.

**Margaret Dix** es investigadora en la Universidad del Valle de Guatemala. Es Doctora en Biología y durante 30 años ha sido catedrática e investigadora en Guatemala. Ella realiza proyectos de investigación sobre ríos y lagos (manejo de cuencas, monitoreo, calidad de agua), control biológico de zancudos, taxonomía y ecología de la familia Orchidaceae, en especial *Lycaste* en Guatemala.

## WHY ARE THERE SO MANY ORCHID SPECIES?

CALAWAY H. DODSON

Missouri Botanical Garden; Marie Selby Botanical Gardens; Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales  
Mailing address: 1550 Eastbrook Drive, Sarasota, FL, 34231, U.S.A. dodsonch@worldnet.att.net

At the present time we have cataloged 3,784 species of orchid naturally occurring in Ecuador, the smallest country in Andean South America. When one considers the size of the country of Ecuador, in comparison with that of Brazil or Colombia, the total numbers seem to express an error on the part of the counter. Brazil had an estimated total of 2,600 species in 1994. Colombia had, according to Father Ortiz, 3,264 species as of the year 2000. Colombia is a much larger country than Ecuador but with similar topography. In any case, we are left wondering why Ecuador is so surprisingly blessed (table 1).

One frequently hears that intensive work on the flora of Colombia has declined dramatically over the last 30 or so years due to guerrilla activity, the devastation to botanical research wrought by CITES

Table 1. Some large orchid genera in Ecuador: Note that of the 13 largest genera of orchids in the Ecuador flora, seven are members of the pleurothallid alliance. The members of the pleurothallid alliance, with a total of more than 1,650 species in Ecuador, make up more than 44% of the total number of orchid species reported to occur in Ecuador.

Genus	Approximate Total Species	Species in Ecuador
<i>Pleurothallis</i>	1,300	473
<i>Epidendrum</i>	1,200	452
<i>Lepanthes</i>	700	336
<i>Maxillaria</i>	650	200
<i>Stelis</i>	600	258
<i>Masdevallia</i>	500	208
<i>Oncidium</i>	500	97
<i>Telipogon</i>	135	50
<i>Dracula</i>	105	50
<i>Platystele</i>	85	52
<i>Cyrtorchilum</i>	65	36
<i>Cranichis</i>	62	24
<i>Brachionidium</i>	50	23

(ostensibly designed to control trade in native species but applied heavily to legitimate biological research), and legal and political barriers. That is all true. Collecting and taxonomic work in Ecuador, on the contrary, expanded just as dramatically with the efforts of the Scandinavian botanists in conjunction with botanists of the Catholic University of Quito, and the Missouri Botanical Garden botanists working with the Ecuadorian National Herbarium. Ecuador has had a relatively benign CITES authority, no guerrilla activity, and political problems that did not affect plant taxonomy. The orchid collections in the Ecuadorian herbaria now surpass other herbaria in the world with more than 12,000 specimens of native Ecuadorian orchids. More than 20% of the vascular plants that have been recorded from Ecuador are orchids. Consequently one may attribute the large number of orchids documented to occur in Ecuador to greater collecting effort. That still begs the question; why are there so many species of orchids in Ecuador?

We believe that there are several reasons, often working together, that might explain why orchid speciation has been so explosive in the neotropics (see Gentry & Dodson 1987, for a more extensive discussion).

### A. PHYSICAL FACTORS

#### 1. Characteristics of orchids that lend to rapid adaptive radiation:

A. *Epiphytism*. The majority of the orchid genera that have had an extremely high level of speciation grow normally as epiphytes. The epiphytic habit allows for adaptation to divergent locations in trees.

B. *Wind borne seed dissemination*. Orchid seed is extremely small with an undeveloped mass of cells surrounded by a papery chaff that can be easily

transported by wind for substantial distances. Invasion by micorhizal fungi provides the initial nutrition that makes possible the development of a protocorm from the undeveloped cell mass.

*C. Extremely numerous seed production from a single pollination event.* A single deposition of a pollinarium on the stigma of a compatible flower can lead to production of literally millions of viable seeds. Flowers of the majority of flowering plant families produce fewer than 100 seed per pollination. Therefore, with the production of millions of seed an orchid flower may produce a substantial number of viable progeny with mutations. Some of those mutations may be beneficial and result in new avenues of species development.

*D. Preadapted pollinators.* Orchids have had a tendency to adapt to limited numbers of pollinators (often a single species of pollinator for a single species of orchid) so that pollinator specificity plays an important role in reproductive isolation of species. Potential but unused pollinators commonly are available in the habitat as a result of similar explosive speciation by insects, comparable to that of the orchids.

*E. Pollinator specificity through deception.* Numerous examples of mimicry in orchid flowers have been published, ranging from food mimicry, pseudocopulation, pseudoantagonism, to pseudo-prey.

*F. Potential genetic flexibility.* The genetic controls that tend to maintain the nature of a species and reduce variability can be broken. For example, African Violets had very little variability prior to the 1920's when selection of variants and interbreeding resulted in the incredible variety that we know today. Orchids may pass naturally through similar phenomena.

The characteristics of the orchids mentioned above are true of orchids in any part of the world. Those features predispose the orchids in the Andes, and other mountainous regions, to be able to adapt to the shifting nature of the habitats in those regions. In areas such as Amazonia with tall tree forests and homogeneous habitats seldom does one find more than 100 species of orchid in a given locality. From one locality to another the orchid flora will differ

slightly but the number of species stays about the same. In the Andes, however, localities are known with more than 300 species of orchid. In addition, the species diversity is extremely high between habitats so that very similar appearing habitats on the eastern side of the Andes in Ecuador, at the same elevation and with similar rainfall, that are 100 km apart may have only 10% commonality of species (Gentry & Dodson 1987).

## 2. Geography and Climatology:

During the past several thousand years the tectonic plates that form the Andes have constantly clashed resulting in uplifting of the mountains and the continued production of volcanic activity. The uplifting, the volcanic activity, and the constant wearing away of the mountains produces new habitats. The position of Ecuador in reference to the ocean currents adds another factor. The cold Humboldt current colliding with the warm California current at the midpoint of western Ecuador produced by the annual wobble of the earth makes remarkable change in climate for a tropical region located on the equator.

Historically, the climate of Ecuador has gone through striking change with advancing and receding glacial periods and consequent change in temperatures. Only ten thousand years ago the region came out of a glacial period where the average temperatures in the Andes and Amazonia were 5 degrees centigrade lower than those of present day Ecuador (Colinvaux 1987). That difference in temperatures from present day resulted in permafrost in the area above Quito (the present capital city of Ecuador at 2750 m elevation) and the upper Amazon region was clothed with coniferous forests. Clearly, the orchid populations were not where they are now. It is estimated that they would have had to recede to a position at least 1000 meters lower than they are now in order to survive. Some refugia may have occurred at higher elevations. A lesser glacial period occurred about 3000 years ago. The orchid populations surely must have changed position many times over geological history.

Volcano's have erupted constantly over the past millennia and in fact are erupting now. The conse-

quent deposition of lava, lajars and volcanic ash, sometimes to considerable depths over broad areas, has a devastating effect on the local floras. The often-extensive areas that are inundated in volcanic debris quickly kill the existing plant cover and provide new habitat for invasion by all manner of plants. Orchids are among the first pioneers and can travel long distances.

Features of the climatology of Ecuador:

A. The equatorial position of Ecuador means that the sun is nearly directly overhead all year long. In fact, it passes over the equator twice each year at the spring and autumnal equinoxes. The climate tends to be benign and the annual fluctuations are minimal. Plants that occur on north or south facing slopes will get their share of sunlight.

B. The coastal region has a pronounced seasonal character based on rainfall affected by the annual movement of the offshore Humboldt and California currents. The southern half of the coastal region has cool dry conditions for half the year. This is due to overcast clouds (without rain) produced by the cold Humboldt Current and lasting from May to November. In December the warm California current moves sufficiently south to cause heavy rainfall and warm temperatures in the southern half of coastal Ecuador.

C. The Amazon region has a fairly constant climate with the winds blowing east to west and depositing heavy rain on the eastern slopes of the Andes from April to October. There is a drier season from November to March.

D. The western slope of the western range of the Andes is very abrupt while the eastern slope of the eastern range is more gently sloped. This is due to the uplifting created by the west to east sliding of the tectonic plates. Between the western and eastern ranges an interandean depression exists that is mostly deforested now.

E. Rainfall and temperatures are affected by elevation. Even in the coastal plain elevations of more than 400 meters have humid forests due to the nocturnal deposition of mist from overhanging clouds. From mid Ecuador south along the western slope of the Andes a band of humid forest exists (existed?) corresponding to the position of the overhang-

ing clouds. The band is several hundred meters wide in mid Ecuador but only a few meters wide in southern Ecuador.

F. North- and south-facing slopes have substantially different climatic conditions from north- and south-running ridgelines.

Given the nature of the orchids (subject to long range dispersal, potential of beneficial mutations resulting from high numbers of seed per pollination, strong pollinator specificity resulting in effective reproductive isolation, etc.) and the changing geology and microclimates of Ecuador, rapid change in the genetic nature of populations leading to explosive speciation is possible.

To provide an idea of the extent of the devastation caused by geological activity a few examples can suffice. In 1987 an earthquake of a 7.2 magnitude on the Richter scale struck north-central Ecuador with the epicenter near Volcán Reventador, about 40 miles northeast of Quito in a direct line. Damage to buildings in Quito was extensive but not catastrophic. On the face of Volcán Reventador a landslide occurred that was 40,000 hectares in area. The slide caused a temporary dam on the Rio Napo that broke after a couple of days. The ensuing wall of water that came down the Rio Napo devastated indigenous communities all the way to the Amazon River and the death toll was incalculable. The bald area is now recovering. Eighty thousand years ago the Volcán Chalupas exploded leaving a crater 40 km in diameter and a baby volcano appeared in the crater that we now call Volcán Cotopaxi. The explosion covered with ash what we now know as 5 provinces of central Ecuador to a depth of 30 m. The Volcán Tungurahua, which now has 12 species of *Telipogon* occurring on its slopes, is only 3,000 years old. An eruption of Volcán Pululagua 3,500 years ago left the province of Pichincha covered in 1.5 m of ash. Volcán Pululagua is about 20 km northwest of Quito.

A potential example of a group that may owe its diversity to macro devastation of habitat and changing temperatures is that of the genus *Telipogon*. The genus consists of something over 135 species. It occurs from Costa Rica to Venezuela and south along the Andes from Colombia to Bolivia. None of the

Central American species occur in South America. Fewer than 4 species are widespread in distribution, e.g., Venezuela to Peru. Most species are local endemics. Fifty of the 135 species are known from Ecuador. Populations frequently have high numbers of species occurring sympatrically (15 species in the Nudo de Pasto in Colombia just north of the border with Ecuador and 12 species in the Nudo de Sabanilla in southern Ecuador). The genus is characterized by having the appearance of an insect in the center of the usually roundish flower. The column is usually provided with spine-like hairs in clusters or covering the whole upper surface. A few species have columns that are bald. Many of the species have protruding calli under the column that are covered in shorter, spiny hairs. Many species are brightly colored with yellow, brown and red spots, blotches, vein-lining and reticulations.

*Telipogon* belongs to the Subtribe Telipogoninae with 3 other genera. *Stellilabium* has about 25 species, some of which have flowers so insect-like that the natives call them "La Mosca" ('the fly' in Spanish). The species tend to be distributed at slightly lower elevations than *Telipogon* and are known from Mexico to Bolivia. The genus only differs from *Telipogon* by smaller flowers. *Trichoceros* is a genus of 4 or 5 species distributed from central Ecuador to Bolivia. All of its species have obvious pseudobulbs with elongate rhizomes between the pseudobulbs so that the plants are subviney. The flowers are very insect-like. *Hofmeisterella* is a monotypic genus occurring in the Andes from Venezuela to Bolivia. Its flowers are bald and only in recent years has been recognized that the genus belongs to the Telipogoninae. All species of the Subtribe have a viscidium that is hook-shaped to catch on the legs of the pollinator.

All species of *Telipogon* appear to be pollinated by flies of the family Tachinidae. Tachinid flies are nearly universal in the tropics, it being one of the largest fly families. Many species are usually present in any habitat. The flies are of varying size and most of them have spines on their dorsal abdomen (similar to those of the column or callus of many species of *Telipogon*). The flies are characterized by males that

establish territories, spend the day patrolling their territory, and attack and drive away any other insects that fly through. The females encounter the males in their territories and copulation takes place at the site. Female flies are also parasitic on other insects, grabbing and laying an egg on the prey while in flight. The hatching larva consumes the tissues of the prey as it develops.

Members of the genus *Telipogon* and its allies occur at upper elevations of cloud forest rarely lower than 1500 m with some species reaching páramo at 3600 m. Populations are usually small with few individuals spread over restricted areas. Curiously, distribution can be spotty. For example, *T. vieirae* (the only *Telipogon* with an obviously winged column) has a population east of Medellín at La Union in Colombia and another at La Planada on the Colombia/Ecuador border. No specimens have been collected in the intervening 800 km. Some species are strictly terrestrial in habit and occur in páramo (e.g., *T. boisserianus*, *T. ionopogon*, *T. nervosus*, and *T. venustus*) but most are epiphytic. Even though several species may occur together in a particular habitat, no natural hybrids have been reported. Clearly reproductive isolation by way of adaptation to specific pollinators has been very effective.

The evidence seems fairly clear that none of the species of *Telipogon* would have been able to occupy their present day range during the glacial periods. Surviving populations would have occurred below 1500 meters during the cold periods. They probably formed small populations in refugia at the lower edge of the much lower páramo. As the glaciers receded vast areas would have been available for migration of the pioneering survivors. Due to the fractured nature of the montane habitat the survivors would probably have constituted small populations, had built-in pollinator specificity, and thus strong reproductive isolation. Due to the S.Wright (1977) effect, small interbreeding populations promote gene fixation (Terborg & Winter 1982). Any mutants with preadaptive selection of existing pollinators would have become quickly fixed and will have developed into new species very rapidly. Fixing of variants would have led to the explosive speciation that we

see today. It seems likely that many of the species that we find now have developed since the last major glaciation period.

#### LITERATURE CITED

- Colinvaux, P.A. 1987. Amazon diversity in light of the paleoecological record. *Quarterly Science Reviews* 6: 93-114..
- Gentry, A. and C.H. Dodson. 1987. Diversity and biogeography of Neotropical vascular epiphytes. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 74: 205-233.
- Terborg, S. and B.Winter. 1982. Evolutionary circumstance of species with small ranges. *In* G.T. Prance (ed.), *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia Univ. Press, New York.p.587-600.
- Wright, S. 1977. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 3. *Experimental Results and Evolutionary Deductions*. Univ. Chicago Press, Chicago.

**Calaway H. Dodson**, Ph.D., received his Doctorate in 1959 from the Rancho Santa Ana Botanic Garden after doing graduate work at the Missouri Botanical Garden. He immediately took a teaching and research position at the University of Guayaquil and established the Instituto Botanico there. In 1960, he returned to the Missouri Botanical Garden as Curator of Living Plants. In 1964 he took a position as Professor of Botany at the University of Miami, Coral Gables Florida, where he was a pioneer in the development of chemical analysis of floral fragrances of orchids. In 1973, he left the University of Miami to take the position of founding director of the Marie Selby Botanical Garden in Sarasota, Florida. After 10 years at Selby Gardens he returned to the Missouri Botanical Garden as a research scientist stationed in Ecuador. The overwhelming number and diversity of orchids led to the development of a computerized database to organize the massive quantity of information. For this reason, he prepared a data set containing 35,000 records of orchid specimens located in herbaria of the world that were collected in Ecuador.

## LA SUBTRIBU STANHOPEINAE: SUS NOTABLES MECANISMOS DE POLINIZACIÓN, LA QUÍMICA DE SUS AROMAS FLORALES E IMPLICACIONES EN SISTEMÁTICA Y TAXONOMÍA

GÜNTER GERLACH

Botanischer Garten München-Nymphenburg, Menzinger Str. 65, 80638 München, Alemania  
gerlach@botanik.biologie.uni-muenchen.de

Las flores de las especies de la subtribu Stanhopeinae pertenecen a las más fascinantes y extravagantes de todas las orquídeas. No son de las más bellas, pero debido a su polinización tan particular a veces han creado flores bizarras con mecanismos de polinización muy extraños. Charles Darwin, el fundador de la teoría de la evolución de las especies en el siglo antepasado, se dedicó mucho a la polinización de flores y supo también de la polinización de orquídeas por abejas euglósidas, pero sin saber qué beneficios sacan estas abejas tan particulares de las flores. Con su trabajo pionero el biólogo Stefan Vogel en los años 60 del siglo 20 descubrió el verdadero atrayente de estas flores. Se trata de perfumes, sustancias químicas que son colectadas por los machos euglósidos.

Únicamente en el neotrópico se originó el síndrome de flores con perfumes. Se trata de plantas que ofrecen en abundancia perfumes en su flores, y son solamente los aromas florales los que sirven para atraer y recompensar a los polinizadores. Es interesante que aunque los machos juegan un papel importante en la polinización, normalmente las hembras son más importantes en este proceso, porque son más constantes en su visita de flores y además no colectan solamente para sí mismas, sino también para sus crías. Al lado de algunas orquídeas [en total: Stanhopeinae, Coeliopsidinae, Catasetinae, en parte: Lycastinae (*Anguloa*), Oncidiinae (*Notylia*) y Zygopetalinae (*Dichaea*)] las familias Solanaceae (*Solanum* grupo *Cyphomandra*), Euphorbiaceae (algunas especies de *Dalechampia*), Gesneriaceae (*Gloxinia perennis* y algunas otras) y Araceae (*Spathiphyllum*, algunas especies de *Anthurium*) están incluidas en este síndrome floral de perfumes. Todas las plantas mencionadas son polinizadas exclusivamente por machos

euglósidos que buscan y recolectan perfumes en estas flores. Hasta ahora no sabemos para qué los machos colectan y guardan estos perfumes; puesto que no sirven para nutrición ni protección tienen que tener algo que ver con los ritos en la vida sexual de los insectos.

La manera de colectar estos perfumes es siempre muy parecida. El macho se acerca a la fuente del aroma, el osmóforo; normalmente se posa sobre el labelo y empieza a colectar con sus patas delanteras las sustancias responsables del aroma. En la mayoría de casos son líquidos; en algunas especies en forma cristalina. Si son sólidos, el macho los disuelve primero con secreciones de sus glándulas labiales. Con pelos largos y densos en las patas delanteras, el macho absorbe el líquido presente en el labelo. Si este órgano está saturado de los componentes aromáticos, la abeja sale de la flor para transferir los aromas con la ayuda de las patas medias a cavidades que se encuentran en las patas traseras. En el interior de estas cavidades las sustancias pueden ser guardadas por mucho tiempo.

Normalmente las orquídeas son fáciles de hibridar artificialmente: hasta híbridos entre cinco géneros son conocidos, pero híbridos naturales entre especies de un género de Stanhopeinae son raros en la naturaleza. Nunca se han hallado híbridos entre géneros en la selva, aunque son fáciles de obtener artificialmente. Una barrera mecánica evita la hibridación en los géneros. Robert Dressler se dedicó mucho tiempo al estudio de la polinización de orquídeas pertenecientes al síndrome floral de perfumes. Él describió las diversas formas en que distintos géneros de orquídeas pegan los polinarios a diferentes partes del cuerpo de los polinizadores.

Los machos no colectan cualquier perfume, sino sustancias particulares. Fue Calaway Dodson quien



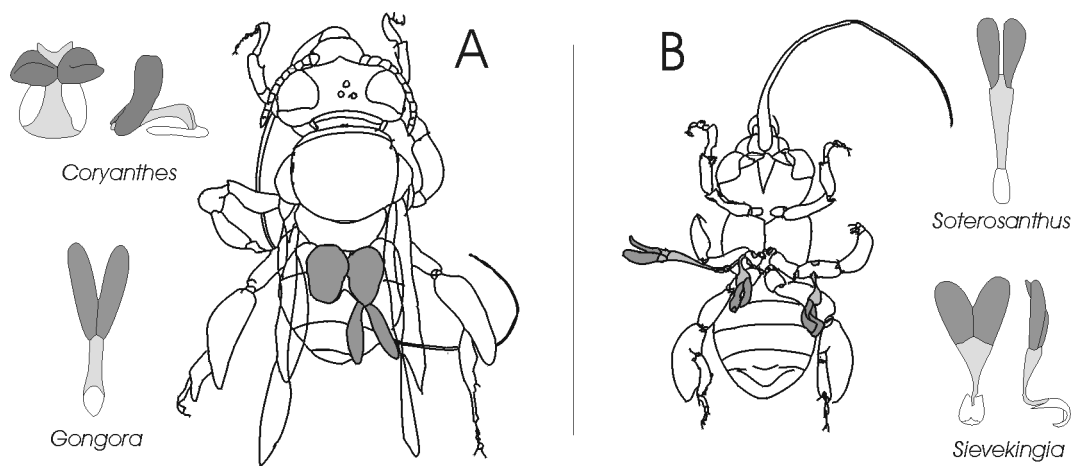


Fig. 1. A – *Euglossa imperialis* con polinarios de *Gongora* sp. y *Coryanthes mastersiana*; abeja vista desde arriba. B – *Euglossa crassipunctata* con polinarios de *Soterosanthus shephardii* (enroscados, así se encuentran debajo del cuerpo) y *Sievekingia* sp. (tieso, así orientado hacia afuera del cuerpo); abeja vista desde abajo. Ilustración: Corina Gerlach.

sentó las bases de la investigación sobre orquídeas polinizadas por machos euglósidos que buscan y recolectan perfume en las flores. La barrera entre las especies de un género generalmente es, entonces, química. Finalmente fueron Mark Whitten y Norris Williams quienes establecieron el análisis de los aromas de las flores por cromatografía de gases. Hoy día existen muchas investigaciones respecto a la composición química de varias especies de géneros con el síndrome de perfumes (tal vez la mitad sin publicar), pero todavía falta información de aproximadamente una tercera parte de las Stanhopeinae. Se puede decir que el aroma floral da más información sobre la integridad de una especie que su morfología. Para la taxonomía, el análisis de aromas florales no es muy útil, porque casi todas las descripciones antiguas carecen de descripciones de aromas y en los herbarios éstos no se conservan. Además, nosotros no estamos entrenados para distinguir los aromas y entender sus descripciones. Por otro lado, la composición química es muy útil para caracterizar una especie en las Stanhopeinae (pero este método no se puede aplicar a todas las orquídeas!) y los resultados de esta investigación pueden ser usados en su taxonomía (quimiotaxonomía).

Raramente se encuentran en colecciones euglósidos que tienen pegados polinarios de dos géneros de Stanhopeinae. De la costa Pacífica de Colombia tengo

un ejemplar que tiene un polinario de *Coryanthes* y otro de *Gongora* (Fig. 1 A). Así, este macho fue atraído por el aroma de ambas plantas. Puede ser que ambas tienen el mismo aroma, un fenómeno conocido en muchos géneros de las Stanhopeinae. Hemos detectado algunos patrones en la composición química del aroma floral que se repiten en diferentes géneros, pero nunca entre las especies de un género. De todos modos, este macho visitó la segunda orquídea sin perder un polinio en el estigma. Eso muestra muy bien cuán efectiva es la barrera entre los géneros, que funciona como una llave en la cerradura.

De la misma región de Colombia vi abejas con polinarios de los géneros *Soterosanthus* y *Sievekingia* (Fig. 1 B). Ambos géneros adhieren los polinarios a las patas del polinizador. Lo que me extrañaba era que solamente *Euglossa crassipunctata* llevaba estos polinarios. El colmo fue que un día un estudiante me trajo una abeja con polinarios de ambos géneros. ¿Cómo puede ser que dos géneros de orquídeas usen la misma parte del cuerpo del polinizador sin que ocurra hibridación? La explicación es la siguiente: en *Sievekingia* el estípite se encorva un poco para que los polinios se acomoden después debajo del cuerpo de la abeja, mientras que en *Soterosanthus* el estípite permanece recto, orientando los polinios hacia fuera del cuerpo de la abeja. Lo curioso en esta historia es que el género

monotípico *Soterosanthus* primero fue descrito como *Sievekingia*, pero hoy día sabemos que no tiene nada que ver con la última.

Las respuestas que da la biología de polinización a la filogenia y a la sistemática no son muy valiosas. Si dijésemos, por ejemplo, que la evolución de un viscidio en forma de garfio ocurrió en una forma ancestral (carácter monofilético), la investigación molecular moderna nos muestra todo lo contrario. Existen cuatro géneros de las Stanhopeinae que tienen viscidios en forma de garfio (*Trevoria*, *Sievekingia*, *Soterosanthus* y *Cirrhaea*), adaptados a pegar sus polinarios en patas de abejas. Según Whitten *et al.* (2000) existen 6 grupos naturales en la subtribu. Es muy interesante que los cuatro géneros mencionados, se dispersaron en 4 de estos 6 grupos, mostrando que el viscidio en garfio no tiene ningún significado para la filogenia. La presión evolutiva aquí es tan fuerte que no sirve como carácter para la investigación de la filogenia. Los caracteres vegetativos de las plantas son más útiles, porque se han preservado más. Por otro lado, la investigación de la polinización de las Stanhopeinae, integrando el conocimiento del aroma floral y del polinizador, nos muestra claramente cuándo se trata de una especie y cuándo no. Ojalá que, finalmente, con la ayuda del análisis del aroma floral y el conocimiento de la biología de la polinización podamos resolver los problemas de géneros como *Gongora* y *Stanhopea*. Muchas de sus especies son

muy difíciles de distinguir y hasta hoy no son claramente entendidas. Sin embargo, cada vez con más amplios conocimientos y la contribución de muchas personas involucradas en estas investigaciones, el nudo gorgónico se disuelve poquito a poco.

#### REFERENCIAS

- Dodson, C.H. 1970. The Role of the Chemical Attractants in Orchid Pollination. In: Biochemical Coevolution, K.L. Chambers, ed. Oregon State University Press, Corvallis 83-107.
- Dressler, R.L. 1968. Observations on Orchids and Euglossine Bees in Panama and Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 15(1): 143-183.
- Gerlach, G. 1999. *Sievekingia* y *Soterosanthus*: parientes, pero diferentes. *Sievekingia* and *Soterosanthus*: related but different. *Orquideología* 21(2): 214-227.
- Gerlach, G. 1999. 80. Subtribus: Stanhopeinae. In: Schlechter: Die Orchideen III / A, Berlin 2315-2435.
- Vogel, S. 1963. Das sexuelle Anlockungsprinzip der Catasetinen- und Stanhopeen-Blüten und die wahre Funktion ihres sogenannten Futtergewebes. *Oesterr. Bot. Z.* 100: 308-337.
- Williams, N.H. & Whitten, W.M. 1983. Orchid Floral Fragrances and the Male Euglossine Bees: methods and advances. *Biol. Bull.* 164: 355-395.
- Whitten, W.M. & Williams, N.H. 1992. Floral Fragrances of *Stanhopea* (Orchidaceae). *Lindleyana* 7(3): 130-153.
- Whitten, W.M., Williams, N.H. & Chase, M.W. 2000. Subtribal and Generic Relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with Emphasis on Stanhopeinae: Combined Molecular Evidence. *Amer. J. Bot.* 87(12): 1842-1856.

**Günter Gerlach** es curador del Jardín Botánico de Múnich en Alemania, donde, aparte de otras colecciones de plantas, él es responsable de la colección de orquídeas. Él empezó como jardinero de orquídeas en el Jardín Botánico de Heidelberg (Alemania), donde se graduó estudiando orquídeas. Él ha publicado varios artículos sobre plantas neotropicales, especialmente orquídeas. Su monografía sobre el género *Coryanthes* es bien conocida. Actualmente se dedica más al estudio de la composición de aromas florales de Stanhopeinae y otras plantas que exhiben el síndrome de flores con perfume y analiza las implicaciones de este fenómeno en la sistemática y la taxonomía.

## EFFECTS OF FLOWER AGE ON POLLINATION SUCCESS IN *LEPANTHES SANGUINEA*

EDWIN GUEVARA RAMOS, MARÍA M. AGOSTO PEDROZA & RAYMOND L. TREMBLAY<sup>1</sup>

University of Puerto Rico - Humacao, Biology Department, Humacao, Puerto Rico, 00791-4300, U.S.A.

<sup>1</sup>Author for correspondence: raymond@hpcf.upr.edu

The effect of flower age on pollination has been shown to be important in promoting cross pollination when the sexual expression of flowers is age dependent (Ackerman 1975, Singer & Koehler 2002). Fruit set in species with protandry or protogyny will frequently be reduced because of the dual sexual characters of the flowers. In protandrous flowers the anthers are mature before the stigma is receptive, and in protogynous plants the stigma is receptive before the anthers mature. In many orchids fruit set is high when hand cross pollinations are performed and this phenomenon could be attributed to a lack of an elaborate mechanism to prevent self pollination (Dressler 1981). Mechanisms for preventing self-pollination could include sequential flowering (*Psychilis* spp., Ackerman 1989; *Malaxis massonii*, Aragón & Ackerman 2001) and dichogamy /protandry (*Goodyera oblongifolia*, Ackerman 1975; *Spiranthes*, Catling 1983; *Prescottia stachyodes*, Singer & Sazima 2001a; *Erythrodes arietina*, Singer & Sazima 2001b; *Sauroglossum elatum*, Singer 2002; *Mesadenella cuspidata*, Singer 2002; *Notylia nemorosa*, Singer & Koehler 2002).

*Lepanthes sanguinea* Hook. is an epiphytic and lithophytic orchid found in Puerto Rico and Jamaica. It is distributed in the Sierra de Cayey and the Luquillo Mountains, Puerto Rico, and flowers throughout the year (Ackerman 1995). Breeding system and pollinators are unknown as to yet; however, fruit set near Mt. Britton was 5.9% (Ackerman 1995) suggesting that this plant's reproduction depends on pollinators and is not autogamous. Recent work by Blanco & Barboza (2001) reports pollination in *Lepanthes gliscensteinii* which was observed to be pollinated by fungus gnats (*Bradysia* sp., Sciaridae) and possibly through pseudocopulation. We investigated fruit set by cross-pollination of young and old flowers in

*Lepanthes sanguinea* to determine if this species may be expressing protandrous behaviour.

Thirty orchids were grown in a Wardian case that maintains humidity and temperature at a more or less stable condition. Maximum mean temperature (SE) was 27 °C ± 0.2 and the minimum mean temperature (SE) was 21 °C ± 0.2. The maximum mean humidity (SE) was 91 % ± 0.1, and the minimum humidity mean was 77 % ± 0.5. Pollinia were removed with a toothpick from flowers and utilized immediately for pollination or kept within the Wardian case until pollination was performed. Water and plant food were administered frequently to ensure the plant's nutrition. The pollinated flowers age ranged from one to eight days after blossom beginning.

The mean lifespan of un-manipulated flowers and pollinated flowers was not significantly different [mean (s.d.) = 4.6 (1.6) days; 5.1 (1.5) days, respectively, unpaired t-test  $t_{27,77} = 1.648$ ,  $p = 0.10$ ]. The mean (se) lifespan of fruits was 44.2 ± 7.1 (N= 6) days.

Fruit set was low, only six fruits were produced from 77 pollinations. Flowers of one and two days treatment were not more likely to produce fruits than flowers of more than 3 days (1-2 day old flowers, fruit set 3; no fruits 12; 3+ day old flowers, fruit set 3, no fruits 59; Fisher's Exact test,  $p = 0.08$ ).

In *L. sanguinea* hand pollination resulted in a 7.8% fruit set which compared to data collected by Ackerman (1995) is equal to natural fruit set (5.9%). We expected a much higher fruit set by hand-pollination as in most orchids fruit set can be elevated by hand cross pollination. In general, naturally pollinated orchids have a mean fruit set of 27.5% while hand pollinated orchids are much higher (82.0%;

Tremblay, Ackerman, Zimmerman & Calvo, submitted).

Six fruits are not sufficient data points to make a conclusive analysis after five months of intensive pollinations. Furthermore, *L. sanguinea* plants have not been as productive as other species (*L. rupestris*, *L. woodburyana* and *L. rubripetala*; Méndez, Pomales, & Tremblay, unpublished). The difference in fruit set may be related to resource availability. In a related orchid, *L. eltoroensis*, flower production is halted while fruits are developing. At least with these preliminary results protandry in this orchid has not been detected.

#### LITERATURE CITED

- Ackerman, J.D. 1975. Reproductive Biology of *Goodyera oblongifolia* (Orchidaceae). *Madroño* 23: 191-198.
- Ackerman, J.D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Syst. Bot.* 14: 101-109.
- Ackerman, J.D. 1995. An orchid flora of Puerto Rico and the Virgin islands. *Mem. New York Bot. Gard.* 73: 1-203.
- Aragón, S. & J.D. Ackerman. 2001. Density effect on the reproductive success and herbivory of *Malaxis massonii*. *Lindleyana* 16: 3-12.
- Blanco, M. & G. Barboza. 2001. Polinización en *Lepanthes*: un nuevo caso de pseudocopulación en las orquídeas. San José, 2do Seminario Mesoamericano de Orquideología y Conservación. Programa de Conferencias: Resúmenes. San José, 23-26 de mayo 2001. p. 13.
- Catling, P.M. 1983. Pollination of northeast North American *Spiranthes* (Orchidaceae). *Can. J. Bot.* 61: 1080-1093.
- Dressler, R.L. 1981. *The Orchids: Natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge.
- Meléndez-Ackerman, E.J., J.D. Ackerman & J.A. Rodríguez-Robles. 2000. Reproduction in an Orchid can be resource-limited over its lifetime. *Biotropica* 32: 282-290.
- Singer, R.B. 2002. The pollination biology of *Sauroglossum elatum* Lindl. (Orchidaceae: Spiranthinae): moth-pollination and protandry in neotropical Spiranthinae. *Bot. J. Linn. Soc.* 138: 9-16.
- Singer, R.B. & S. Koehler. 2002. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): do pollinators necessarily promote cross pollination? *J. Plant. Res* - Abstract.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 2001a. The pollination mechanism of three sympatric *Prescottia* (Orchidaceae: Prescottinae) species in southeastern Brazil. *Ann. Bot.* 88: 999-1005.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 2001b. Flower morphology and pollination mechanism in three sympatric Goodyerinae orchids from southeastern Brazil. *Ann. Bot.* 88: 989-997.

**Edwin Guevara** studies at the University of Puerto Rico at Humacao. He is in the Bachelors Program in Biology with a concentration in wildlife management. He was born in Pennsylvania and currently lives in Puerto Rico. This is his fourth year at Humacao and the investigation on *Lepanthes sanguinea* that he has done with Dr. R.L. Tremblay has been his first research experience. As for his aspirations as a scientist and biologist, he hopes to get a master's degree in either vertebrate biology or environmental science.

## FLORAL MIMICRY IN ONCIDIROID ORCHIDS

MARTYN P. POWELL<sup>1,2,4</sup>, FRANCO PUPULIN<sup>3</sup>, JORGE WARNER<sup>3</sup>, MARK W. CHASE<sup>1</sup>  
and VINCENT SAVOLAINEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3DS, U.K.

<sup>2</sup>Centre for Plant Diversity & Systematics, School of Plant Sciences, University of Reading, RG6 6AS, U.K.

<sup>3</sup>Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica. P.O. Box 1031-7050 Cartago, Costa Rica

<sup>4</sup>Author for correspondence: m.powell@kew.org

**Background.** Extensive radiation in oncidoid orchids (subtribe Oncidiinae) has resulted in over 1,700 species in tropical America in some 70 genera. They exhibit a wide range of habitats, occurring terrestrially or, more commonly, epiphytically and can be found from sea level to the Andean paramós and from deserts to rainforests. Their morphological diversity is also particularly broad, ranging from minute (<2 mm twig epiphytes) to large (15 cm) flowers. They are pollinated primarily by bees, although the majority offers no floral reward and therefore rely upon some form of deception to secure pollination. One such form of deception is floral mimicry, which can occur either through general mimicry where the orchid converges on a pool of sympatric plant species, or specific mimicry where the orchid converges on the visual signal emitted from a particular model species (Fig. 1), possibly oil-producing Malpighiaceae.

**Bee vision and plant community evolutionary ecology.** Plant community ecology offers tools to study floral colours. For example, the influence of floral colour as a driving force of evolution was addressed by Gumbert *et al.* (1999, Proc. R. Soc. Lond. B, 266: 1711-1716), who evaluated colour distribution within plant communities. They discovered that rare plants tended to be more distinguishable from the rest of the community than common plants by hymenopteran pollinators, and this would help to secure pollination. We adopted here a similar approach to the case of orchid mimicry.

Twenty 500 m<sup>2</sup> study sites were selected in Costa Rica, encompassing as wide a range of habitats as possible, where an oncidoid orchid was central to the site. A representative of every species flowering sym-

patrically within the site was collected and floral reflectance was measured (Fig. 2) using a miniature spectrophotometer and a light source ranging from 300-700nm, as most potential pollinators' spectral perception extends from the UV through to red.

Principal Components Analysis (PCA) was performed on the averaged values to give a distance measure between the reflectance profile of different species. The closer two points appear in the PCA plot

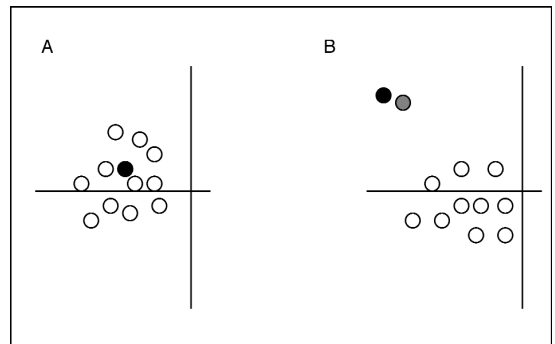


Figure 1. Hypothetical PCA plots representing cases of general (A) and specific (B) mimicry: showing the orchid (black), other species within the community (white) and potential model species (grey).

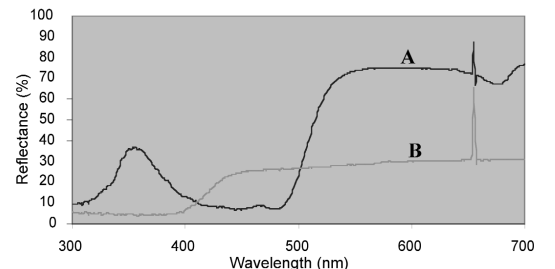


Figure 2. Floral reflectance profiles of *Oncidium stenotis* (A) and *Oncidium cariniferum* (B). Note that the peak seen at 660nm is artefactual.

the more similar they will be to a potential pollinator and likewise the further apart they are in the plot the more distinguishable they will be.

Ultimately it is intended to plot the colour loci into a model of bee colour space, which allows for a more precise graphical representation of a bee's colour perception and subsequent similarity of floral colour. Like with the PCA plot, the closer two points appear in the colour space the more similar they are to a pollinator and vice versa, and such models are more effective as they take into account background

reflectance and the relative spectral sensitivity of the three insect photoreceptors.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Hilda León-Páez, Carlos O. Morales and many other field guides for their help in plant collection and identification, Lars Chittka and Andreas Gumbert for assistance with the model of bee vision, and Norris H. Williams and W. Mark Whitten for their advice on orchid pollination.

**Martyn Powell** is doing his PhD at the Royal Botanic Gardens, Kew, on the radiation of oncidoid orchids.

**Franco Pupulin** is a specialist in the systematics and evolution of advanced orchid groups. He works at Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica.

**Jorge Warner**, director of Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica, is a specialist in the biology and conservation of Costa Rican epiphytes.

**Mark W. Chase** is expert in angiosperm phylogeny and orchid biology at the Royal Botanic Gardens, Kew.

**Vincent Savolainen** is expert in molecular evolutionary biology at the Royal Botanic Gardens, Kew.

## ORCHID POLLINATION: RECENT DEVELOPMENTS FROM BRAZIL

RODRIGO B. SINGER

Depto Botânica, IB, Unicamp  
Campinas, SP, Brasil, 13083-970

Because of their remarkable flower morphology, orchids are particularly interesting objects of study. Most orchid species hold their pollen in discrete packs, so-called pollinia (singular; pollinium). These pollinia, together with other pollinium stalks, form more or less complex translatory units, so-called pollinaria (singular: pollinarium). During their visits to the flowers, orchid pollinators dislodge these pollinaria and deposit their pollen content during successive flower visits. Pollinators may be attracted to the flowers in many ways. Many orchids offer flower parts or secretions (nectar, trichomes, wax-like or resin-like compounds, aromatic compounds, oils, etc.) that can be gathered/foraged by their pollinators. Yet, many orchids “deceive” their pollinators and offer no flower reward. Many orchids are merely “food-frauds”, displaying a set of flower features (colors, fragrances) that apparently elicit the attraction of food-seeking animals. A much more sophisticated kind of deception involves the so-called “pseudocopulation”. In this kind of pollination strategy, flower features (mainly flower fragrance, but also coloration and – when applicable - indument or pilosity) mimic these of some female insects (mostly Hymenoptera). Pollination is achieved when male insects attempt copulation with these “dummy females”.

Since the times of Darwin, the pollination biology of the orchids has received the attention of both, lay persons and scientists. The combination of their remarkable flower structure plus their often bizarre pollination strategies has played a major role in the understanding of evolution, morphology and pollination biology as a whole.

Orchid pollination studies in the Neotropics experienced a boost in the sixties (Van der Pijl & Dodson 1966, and literature therein) with the understanding of Euglossini behaviour. The males of these bees gather fragrances (aromatics, terpenes, sesquiterpenes, etc.) at specialized parts of the lip of many orchid species from different neotropical subtribes (specially Catasetinae, Stanhopeinae and some Zygopetalinae) and perform the pollination during successive flower

visits. The reasons why Euglossini males collect these compounds are still a matter of speculation (see Singer & Koehler 2003 for a brief discussion of the theories). Yet, it is possible that these compounds are somehow used during courtship. In the last six years, a number of contributions on orchid pollination have been made by Brazilian or Brazilian-based researchers. The purpose of this contribution is to give a brief review of these papers and to communicate some – in my opinion - remarkable findings which are part of ongoing projects. I have chosen to describe the findings by taxonomic groups.

**Subfamily Orchidoideae** (including Spiranthoideae, sensu Dressler 1993). Studied species in this subfamily have been shown to be self-compatible, but pollinator-dependent. Automatic self-pollination – when present - is associated with rostellum narrowing, thus the stigmatic secretion passively contacts the pollinia. Bee pollination was recorded for some species of the genera of the so-called “*Pelexia* alliance” (Spiranthinae: *Cyclopogon*, *Pelexia* and *Sarcoglottis*) (Singer & Sazima 1999). Hummingbird pollination was demonstrated in *Stenorrhynchos lanceolatum* (Spiranthinae) (fig. 1B) (Singer & Sazima 2000). Moth pollination and protandry was recorded in *Sauroglossum elatum* (Spiranthinae) (Singer 2002b) and *Prescottia stachyodes* (Prescottinae) (Singer & Sazima 2001b). Bee and moth pollination, in absence of protandry has been recorded in *Prescottia densiflora* and *P. rodeiensis*, respectively (Singer & Cocucci 1999, Singer & Sazima 2001b). Bee pollination was recorded in two Goodyeriinae orchids: the protandrous *Erythrodes arietina* and the non-protandrous *Aspidogyne longicornu* (Singer & Sazima 2001a). Mixed moth and crane-fly (Tipulidae) pollination was documented in *Habenaria parviflora* (Habenariinae) (fig. 1A) (Singer 2001). Protandry was traditionally associated with Bumble-bee pollination. Now, it is clear that this flower feature appears in orchids with other kinds of flower vectors. Since protandry in Orchidoideae has been recorded in species of the closely related subtribes Goodyeriinae, Spiranthinae

and Prescottiinae, it has been suggested that this flower feature arose early in the tribe Cranichideae (where the aforementioned subtribes belong) and was lost many times, independently (Singer 2002b).

**Subtribe Pleurothallidinae:** Pollination by Calliphorid flies was recorded in *Pleurothallis luteola*, from Southern Brazil (Singer & Cocucci 1999c). More recently, Borba & Semir (2001) and Borba *et al.* (2001) described with great detail the pollination biology and breeding system of several rupicolous *Pleurothallis* species from southeastern and northeastern Brazil. The pollinators of these orchids are quite specific and these plants apparently perform inbreeding depression.

**Subtribe Sobraliinae:** Ongoing research has shown that at least *Elleanthus brasiliensis* is protandrous (fig. 1C-D). To my knowledge, protandry is herein reported for the first time in subtribe Sobraliinae. I have briefly observed the hermit *Phaethornis petrei* (Trochilidae: Phaethorninae) pollinating this orchid in southeastern Brazil. Yet, this orchid may be pollinated by many different hummingbirds, as additional observations will surely reveal. In Colombia, María Argenis Bonilla (UNAL) and her students have also observed several hummingbird species pollinating some Andean *Elleanthus* spp. (A. Bonilla, pers. comm.). Preliminary evidence indicates that *E. brasiliensis* is self-compatible, but pollinator-dependent.

**Subtribe Bulbophyllinae:** Borba & Semir (1999) and Borba *et al.* (1999) have described in detail fly-pollination in several rupicolous *Bulbophyllum* species from southeastern Brazil. In these orchid species, pollination is wind-assisted. The lip is hinged to the base of the lip and vibrates with the slightest breeze. The fly pollinator adequately positioned in the lip surface is pushed against the column and adheres the pollinarium on the scutellum. In order to be deposited on the stigmatic surface, the pollinia have to dehydrate considerably (Borba & Semir 1999), a fact that prevents self-pollination.

**Subtribe Angraecinae:** *Campylocentrum aromaticum*, from southern Brazil was recorded as mainly bee-pollinated (mostly by Halictidae bees) (fig. 1E). Yet, a few bug and fly species are able to dislodge pollinaria and, perhaps, can act as accessory pollinators (Singer & Cocucci 1999a). Meliponini bees were recorded as the pollinators of the leafless *Campylocentrum burchellii* (Singer & Cocucci 1999a).

**Subtribe Maxillariinae:** Meliponini bees of the genus *Trigona* were recorded as the pollinators of the rewardless, honey-scented *Maxillaria picta* flowers in southern Brazil (Singer & Cocucci 1999b). Further observations have confirmed that *Trigona* bees are also the pollinators of several other bifoliate Maxillarias of the '*Maxillaria picta*' complex (fig. 1F). *Trigona* bees have also been recorded as pollinators of *Maxillaria brasiliensis*. The bees dislodge and deposit the pollinaria while gathering portions of the wax-like lip callum (actually made-up by many tightly packed laminar, unicellular trichomes) (Singer 2002). Pollination through "pseudocopulation" mediated by *Plebeia* (Meliponini) drones was recently demonstrated for *Trigonidium obtusum* (Singer 2002a) (fig. 1G). Cultivated plants of the nectar-secreting *Maxillaria parviflora* have been observed being pollinated by small Meliponini bees and Ponerinae ants as well (R. B. Singer, unpublished) (fig. 1H).

**Subtribe Oncidiinae:** In the past, it was postulated that many "*Oncidium*" species (here used in its wider sense) were mimics of Malpighiaceae plants (Van der Pijl & Dodson 1966). It was postulated that these species of Malpighiaceae offered nectar and the pollinators of Oncidiinae orchids pollinated these flowers by mistake. So, plants and pollinators should be involved in mimicry complexes (Van der Pijl & Dodson 1966). However, there is increasing evidence that both, Malpighiaceae plants and many Oncidiinae orchids produce oils, which are gathered by females of several bee genera of family Apidae (these genera were formerly included in the no longer accepted family Antophoridae) (Singer & Cocucci 1999b, Reis *et al.* 2000 and literature therein). Therefore, it seems safer to assume that both, orchids and Malpighiaceae are part of a guild of plants pollinated by these oil-gathering bees, rather than pieces of a mimicry complex.

Pollination by oil-collecting *Tetrapedia* bees was documented for *Oncidium paranaense* (Singer & Cocucci 1999b). A female of *Tetrapedia* was captured when pollinating flowers of *Oncidium pubes* (R. B. Singer, unpublished). The bee dislodged a pollinarium when collecting the oil secreted in a superficial, lamellar elaiophore, at the lip surface. Vespidae wasps were recorded as the pollinators of *Capanemia thereziae* (Singer & Cocucci 1999b). The wasps adhere and deposit pollinaria while licking nectar secreted in a shallow nectary, on the surface of the lip.

Recently (Singer & Koehler 2003), some aspects of



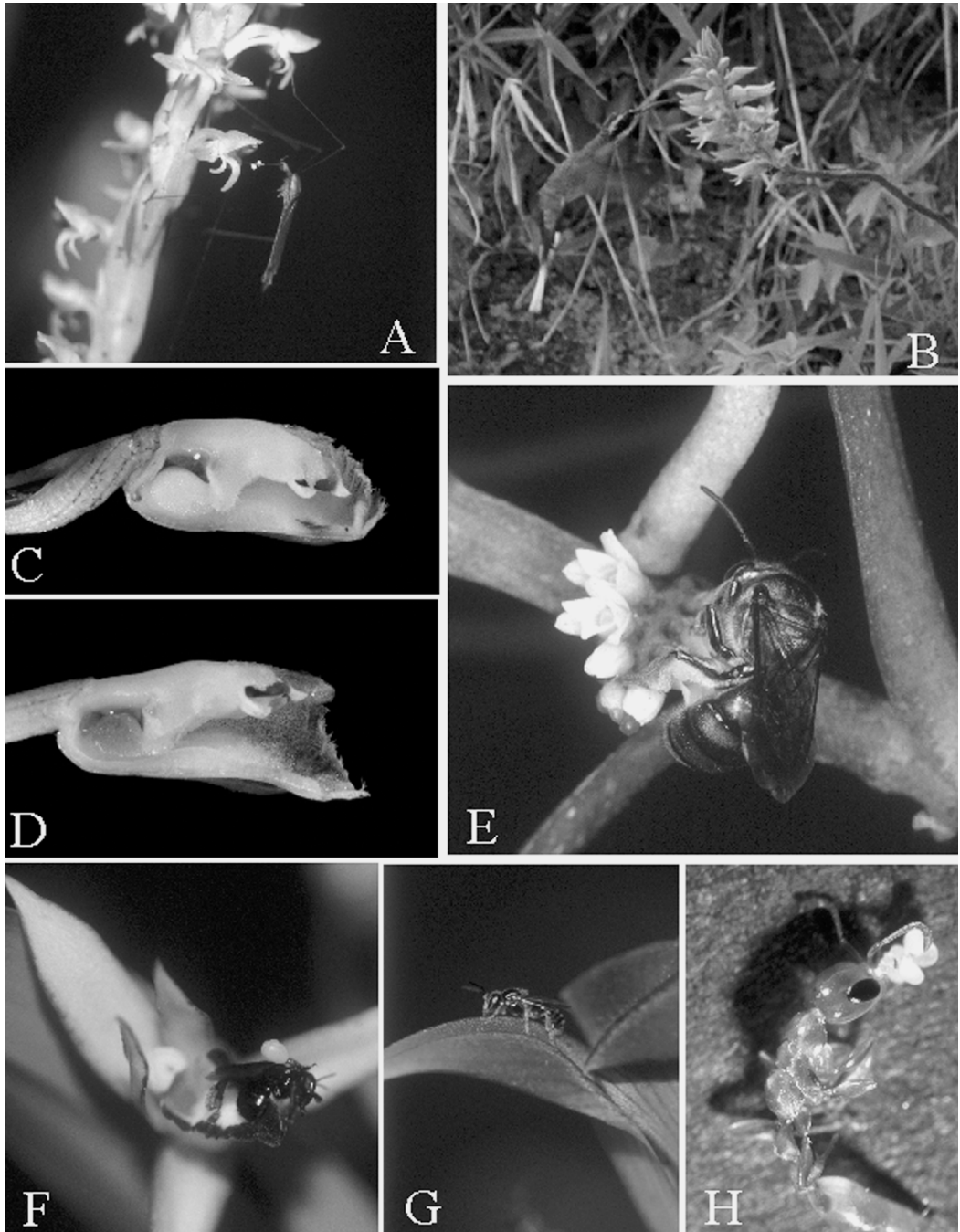


Figure 1. A. *Habenaria parviflora* (Orchidoideae: Habenariinae) being pollinated by a Tipulidae crane-fly. B. *Phaethornis eurynome* (Trochilidae) pollinating *Stenorrhynchos lanceolatum* (Orchidoideae: Spiranthinae). C-D. Protandry in *Elleanthus brasiliensis* (Sobraliinae). C: Male phase. D: Female phase. Notice the different column position in the two phases. E. *Campylocentrum aromaticum* (Angraecinae) being pollinated by a sweat-bee (Halictidae). F. *Trigona* (Meliponini) worker dislodging a pollinarium of *Maxillaria marginata* (Maxillariinae). G. *Plebeia* (Meliponini) drone attempting copulation with the dorsal sepal of *Trigonidium obtusum* (Maxillariinae). H. Ponerinae ant with a pollinarium of *Maxillaria parviflora* on its head.

the pollination of *Notylia nemorosa* have been highlighted. This orchid is protandrous and mostly self-incompatible. Pollinators are males of *Eulaema* and *Euglossa* that gather aromatic compounds at the lip surface. These bees tend to visit all available flowers in each inflorescence, a behavior that promotes some degree of geitonogamy (and abortion), since flowers in male and female phase may coexist in the inflorescence. It was suggested that the combination of self-incompatibility and this kind of pollinator behavior may be responsible for the rarity of fruits in several rewarding neotropical Orchidaceae (Singer & Koehler 2003).

With the advent of molecular tools, a new era has started for orchid pollination studies. It is hoped that once robust phylogenies are available, the evolution of some pollination-related traits could be traced and plotted in the cladograms. Thus, researchers could obtain reliable scenarios for the evolution of breeding systems and flower features. For instance, if we consider "protandry" as a character, it is clear that it evolved many times within Orchidaceae. Yet, a closer analysis indicates that (for example), the protandry of *Mormodes* (Catasetinae) is not comparable with that of the Cranichideae orchids. Oils are now known to occur in many Oncidiinae orchids. Still, these oils may be qualitatively different in different Oncidiinae groups (Reis et al. 2000). Briefing, it is hoped that a re-evaluation of pollination-related characters and their phylogenetic significance will happen. If so, exciting times may be going to come.

ACKNOWLEDGEMENTS: The author wishes to thank his advisor M.C.E. Amaral (Unicamp) and S. Koehler for assistance in many ways. This study was possible through a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, process: 01/08958-1) grant, which is greatly acknowledged.

#### LITERATURE CITED

- Borba E.L. & J. Semir. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Plant Syst. Evol.* 217 (3-4): 197-204.
- Borba E.L. & J. Semir. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: A multiple population approach. *Ann Bot.-London* 88 (1): 75-88.
- Borba E.L., J. Semir & G.J. Shepherd. 1999. Reproductive systems and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian 'campo rupestre' vegetation. *Plant Syst. Evol.* 217 (3-4): 205-214.
- Borba, E.L., J. Semir & G.J. Shepherd. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Ann Bot.-London* 88 (1): 89-99.
- van der Pijil, L. & C.H. Dodson. 1966. *Orchid Flowers: their pollination and evolution*. Corals Gables, University of Miami Press.
- Reis, M.G., A.D. de Faria & V. Bittrich. 2000. The chemistry of flower rewards - *Oncidium* (Orchidaceae). *J. Brazil Chem. Soc.* 11 (6): 600-608.
- Singer, R.B. 2001. Pollination biology of *Habenaria parviflora* (Orchidaceae: Habenariinae) in Southeastern Brazil. *Darwiniana* 39 (3-4): 201-207.
- Singer, R.B. 2002a. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl (Orchidaceae: Maxillariinae): Sexual mimicry and trap-flowers. *Ann Bot.-London* 89 (2): 157-163
- Singer, R.B. 2002b. The pollination biology of *Sauroglossum elatum* Lindl. (Orchidaceae: Spiranthinae): moth-pollination and protandry in neotropical Spiranthinae. *Bot. J. Linn. Soc.* 138 (1): 9-16 .
- Singer, R.B. & A.A. Cocucci. 1999a. Pollination mechanism in southern Brazilian orchids which are exclusively or mainly pollinated by halictid bees. *Plant Syst. Evol.* 217 (1-2): 101-117.
- Singer, R.B. & A.A. Cocucci. 1999b. Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14: 47-56.
- Singer, R.B. & S. Koehler. 2003. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae: Oncidiinae): do pollinators necessarily promote cross-pollination? *J. Plant Res.-Japan* 116: 19-25.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 1999. The pollination mechanism in the 'Pelexia alliance' (Orchidaceae: Spiranthinae). *Bot. J. Linn. Soc.* 131 (3): 249-262.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 2000. The pollination of *Stenorrhynchos lanceolatus* (Aublet) L. C. Rich. (Orchidaceae : Spiranthinae) by hummingbirds in southeastern Brazil. *Plant Syst. Evol.* 223 (3-4): 221-227.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 2001a. Flower morphology and pollination mechanism in three sympatric Goodyerinae orchids from southeastern Brazil. *Ann Bot.-London* 88 (6): 989-997.
- Singer, R.B. & M. Sazima. 2001b. The pollination mechanism of three sympatric *Prescottia* (Orchidaceae: Prescottinae) species in southeastern Brazil. *Ann Bot.-London* 88 (6): 999-1005, Dec. 2001.
- Rodrigo B. Singer** was born in Córdoba, Argentina in 1970. He lives in Brazil since 1995 and obtained his Ph. D. in Botany at the Campinas University, São Paulo. His current research lines (in collaboration with several Brazilian and foreign researchers) involve phylogeny, pollination biology and reproductive systems in several neotropical orchid groups. He lives in Campinas with his wife Rosana.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

Sesión / *Session*

**EDUCACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN**  
***EDUCATION FOR CONSERVATION***

## ORQUÍDEAS DEL VALLE ESCONDIDO

JORGE ARTURO CAMPOS

Reserva Valle Escondido, San Lorenzo de San Ramón, Costa Rica

**Perfil de la Reserva Valle Escondido.** La Reserva Valle Escondido se encuentra ubicada a sólo 90 km de la ciudad de San José, camino a la Fortuna - Volcán Arenal, exactamente a 32 km de la ciudad de San Ramón de Alajuela. Tiene un área aproximada de 120 hectáreas, cubiertas en su mayoría por bosque secundario maduro y parches de bosque primario del tipo premontano húmedo. El ámbito altitudinal de la reserva varía entre 300 m s.n.m. en las riberas del Río Balsa y 550 m en las partes más altas. La topografía es variada, con abundantes fuentes de agua, entre las que destaca el Río Balsa. Por su ubicación, la reserva es afectada por las situaciones climáticas del atlántico. En consecuencia su clima es variado y poco determinado, nuboso, lluvioso o soleado, con intervalos inesperados y con una humedad relativa normalmente muy elevada. Actualmente hay allí un proyecto ecoturístico, que permite durante todo el año a los amantes del turismo ecológico disfrutar de la rica biodiversidad de la reserva: observación de aves, mamíferos y diferentes especies de plantas.

**Flórula de orquídeas de la Reserva Valle Escondido.** En el año 1991 se creó esta reserva privada, con el fin de conservar 120 hectáreas ubicadas en San Lorenzo de San Ramón. El proyecto "Flórula de orquídeas de la Reserva Valle Escondido" se inició en el año 2000 con la idea de *cuantificar, estudiar y proteger* las especies de orquídeas de la reserva.

### Metodología.

a) *Ubicación de un área determinada para ser sometida a estudio.* Para este fin se seleccionaron las 120 hectáreas de bosque primario y secundario ubicadas en las márgenes del Río Balsa, San Lorenzo, San Ramón de Alajuela, donde se ubica un proyecto de turismo ecológico, el Hotel Valle Escondido.

b) *Trabajo de campo.* Incluye la observación y anotación de datos relativos a las especies de orquídeas en su estado natural.

c) *Libro de campo.* Las colectas son debidamente registradas tomando en cuenta:

- nombre de la especie
- ubicación geográfica
- altitud sobre el nivel del mar
- fecha de recolecta
- número de plantas recolectadas (máximo dos plantas por especie)
- observaciones hechas en el momento de la recolecta (ej. floración, producción de frutos, etc.)

d) *Mantenimiento de testigos vivos.* Las plantas recolectadas se mantienen en un invernadero diseñado para tal uso, para poder seguir siendo estudiadas.

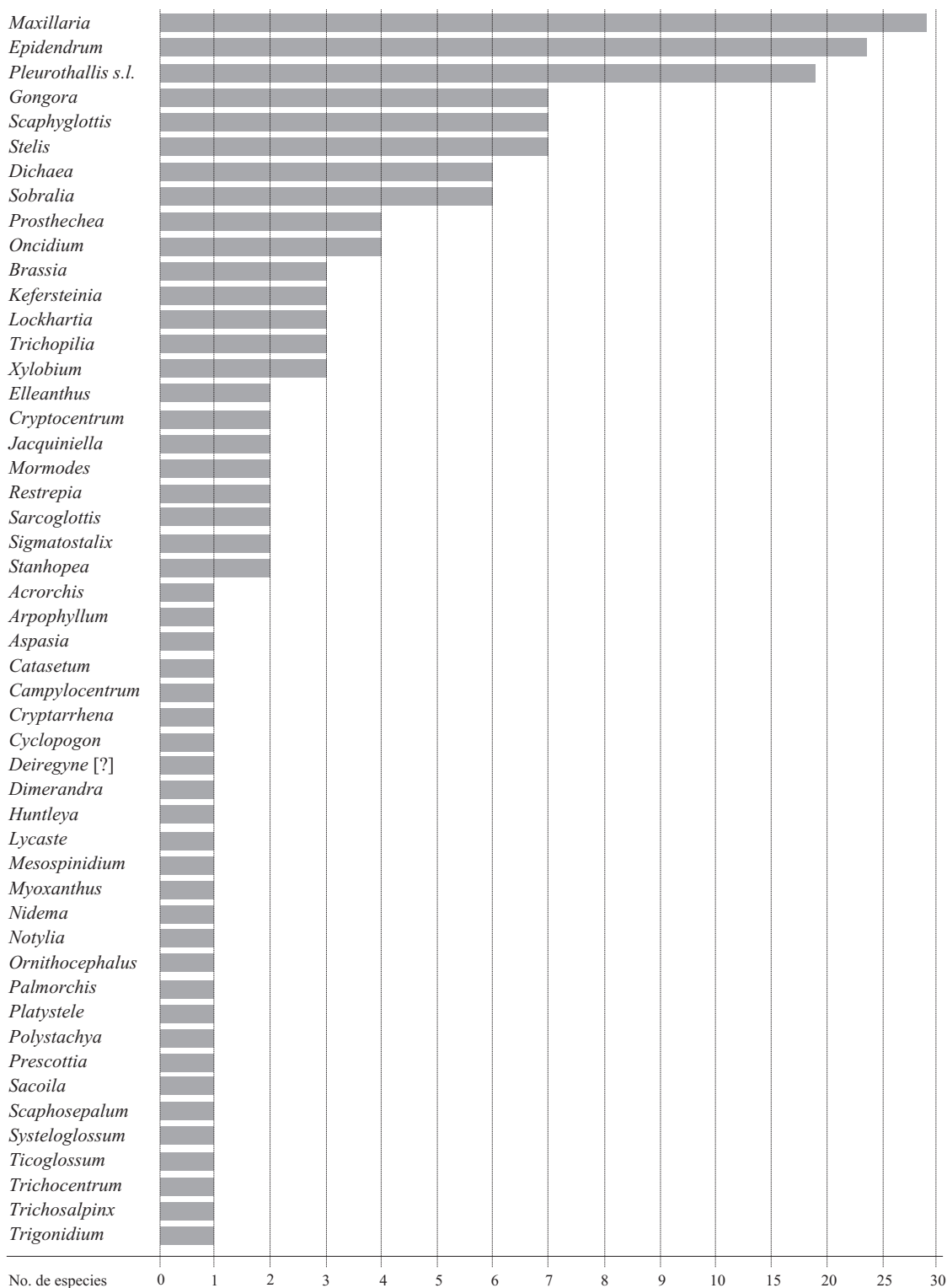
e) *Producción de ilustraciones científicas.* Estas incluyen:

- acuarelas de la planta en floración
- dibujo a plumilla con el hábito de la planta y el desglose de cada una de las partes de la flor

f) *Preparación de material de referencia en alcohol.*

**Resultados.** Después de 2 años de trabajo, se han determinado en la Reserva 172 especies de orquídeas en 50 géneros (Tabla 1). La colección de ilustraciones, que incluye dibujos a plumilla y acuarelas, cuenta con un número importante de láminas. En el invernadero del Valle Escondido se mantienen en cultivo como testigos vivos las especies recolectadas con el fin de continuar las investigaciones y atender grupos y personas interesadas, a las cuales se proporcionan charlas e información sobre la flora de orquídeas de la zona. Se mantiene además una cantidad importante de material de referencia en alcohol. El proyecto se ha dado a conocer mediante la participación en foros internacionales y la publicación de artículos en revistas (Pupulin 2002), y ha tenido aceptación y apoyo por parte de personas e instituciones rela-

Tabla 1. Número de especies por género de orquídeas encontradas en la Reserva Valle Escondido.



cionadas con el estudio y la conservación de las especies de orquídeas de Costa Rica.

**Proyecciones del proyecto.** Además de continuar con la recolecta y la identificación de especies aún no incluidas en el listado preliminar, las actividades del proyecto pretenden para el futuro:

- establecer datos de frecuencia de las especies

que permitirán evaluar con precisión su estado de conservación

- realizar una publicación del estudio realizado en la Reserva Valle Escondido.

#### LITERATURA CITADA

Pupulin, F. 2002. En el Valle Escondido las orquídeas se revelan. *Epidendrum* 16: 3.

**Jorge Arturo Campos** nació en 1961 en San Ramón, Alajuela, Costa Rica. Se ha dedicado desde muy joven al manejo, cultivo y exportación de plantas ornamentales y al desarrollo de una carrera artística como pintor. Ambas actividades le dan la afinidad necesaria para el interés que desde muy joven tiene en las orquídeas costarricenses. Desde los 17 años comenzó a hacer trabajos de campo, visitando diferentes zonas del país y haciendo observaciones de las diferentes orquídeas. Ha trabajado en ilustración de muchas de las especies costarricenses y colaborado con la Asociación Ramonense de Orquideología. Actualmente se dedica al estudio e ilustración de las orquídeas presentes en la Reserva Valle Escondido.

## NEOTROPICAL ORCHID ECO-TOURISM: EDUCATIONAL EXPERIENCE OF AN ORCHID NEOPHYTE AT THE BOSQUE DE PAZ BIOLOGICAL PRESERVE, CENTRAL VOLCANIC RANGE, COSTA RICA

STEPHEN KIRBY

Research Geophysicist, U.S. Geological Survey  
345 Middlefield Road, Menlo Park, California 94025 U.S.A. skirby@usgs.gov; stevenlyle@aol.com

**Introduction.** Nothing prepared me for the experience of seeing epiphytic orchids growing and blooming in the high cloud forest of Costa Rica beginning in 1998. These plants captivated me and were the beginning of a five-year quest to learn more about them. I was fortunate to begin this odyssey by visiting Bosque de Paz, a biological preserve located in the Central Volcanic Range near the village of Bajos del Toro on the Caribbean side of the continental divide near the active volcano, Poas. The purpose of this presentation is to describe the efforts of the owners of the Preserve to attract the interest of orchid professionals and amateur enthusiasts to this mountain haven and to consider more ways in which orchid eco-tourism might be encouraged to grow to the benefit of Costa Rica, orchid science and the conservation of orchid habitat.

**Setting, History, and Founding Philosophy of the Preserve.** Bosque de Paz Biological Preserve is located in Alajuela Province on the Caribbean flank of the Central Volcanic Range, a part of a nearly continuous arc of active volcanoes extending from southern Mexico to central Costa Rica near 84°W longitude. This chain of volcanic mountains is a consequence of subduction of the seafloor of the eastern Pacific (the Cocos plate) under Central America (the Caribbean plate). Subduction is thus responsible for the mountainous terrain and, together with the prevailing trade-wind patterns, is the primary control on precipitation patterns in Central America and hence for the cloud-forest conditions in that region. Because it is close to the continental divide, it receives precipitation from winds that originate from either side of the divide, and hence receives rainfall even during the “dry” season. The Lodge is at an elevation of about 1400 m

and is about 7 km from Poas (at elevation 2704 m). Within this area of about 1000 hectares (about 2500 acres), topographic relief exceeds 1100 m and the highest point is at about 2450 m. The property consists of primary and secondary cloud forest and grazing land that is presently in the slow process of being reforested. Several streams in the Río Toro watershed dissect the property, thus producing steep terrains and riparian and waterfall environments.

The preserve was created by Federico González-Pinto and his wife, Vanessa and their son, Federico Jr., in order to “protect the exuberant flora and fauna in the Central Volcanic Range of Costa Rica”, to “create consciousness about the importance of conservation” and, by acquiring specific rainforest habitat and to establish a key corridor for regional biological exchange along the volcanic range. A 22-km-long system of trails gives excellent access to the types of terrains found in the Preserve. Bosque de Paz opened for scientific study and research in 1994 and was opened to the public in 1998 with a spacious lodge of 11 rooms and a first-class dining facility.

**Orchids at the Preserve.** Because the system of trails requires sustained maintenance to clear branch and tree falls, epiphytic orchids are frequently brought down to eye level. Exceptional falls occurred, for example, during Hurricane Mitch in September of 1998. Sr. González-Pinto and son Federico González-Sotela, Jr. conceived the idea of relocating these plants to make them more accessible to the visitors of the Preserve and sought advice from orchid experts about how these relocations might be done successfully. The owners were fortunate to have Martín Porrás-Porrás as an employee responsible for trail maintenance and gardening. Porrás himself

grows orchids as a hobby and maintains an impressive orchid garden (JARDÍN DE ORQUÍDEAS MARTÍN) in Bajos del Toro that is attracting a growing number of orchid enthusiasts. Under the direction of the owners, Sr. Porras began salvaging and relocating air-fall orchids to the branches of small trees near the Lodge in the mid 1990's. The resulting 75-m-long Botanical Trail was opened in 1996. An orchid garden was also created in the year 2000 by relocating plants to trees surrounding a new assembly building. Eye-level relocations of orchids elsewhere along the system of trails also provide interest for orchid enthusiasts in seeing these plants making a living in a nearly natural state.

The collection of orchids at the Preserve (see the list below) is diverse and reflects not only the showy species but also the smaller, less conspicuous ones, such as those in the Pleurothallid Alliance. Also, very large species, such as some of those in the genus *Maxillaria* that are rarely found in collections or in cultivation, are also strongly represented. The collection is therefore more representative than those usually found in casual collections or in typical public displays in most botanical gardens. The positioning of relocated plants within these display areas is seemingly random, but in fact is based on the 15-year practical experience of Sr. Porras as an orchid gardener. The success of these relocations speaks for itself. These plants generally have survived, produce new growths, usually blossom and often are pollinated, judging from the fruiting and spent seedpods that are evident. It is not known if propagation by the resulting seeds has occurred. In a way, these relocations represent a large-scale botanical experiment in which many orchid species, potential pollinators and symbiotic fungi are juxtaposed in a way that may not exist in the cloud forest itself.

The efforts that the González family has made in creating public access to orchids have resulted in an estimated 20% of their clients being orchid enthusiasts, a high percentage for tropical nature preserves. Orchids at the Preserve also enrich the experiences of birders and others interested in natural history. The preserve has attracted groups of professional orchidists and orchid hobbyists, including the Orchid Association of Japan and botanists from several notable botanical gardens and natural history museums.

**Species and Genera Lists for Bosque de Paz and the Environs around the Nearby Town of Bajos del Toro.** To my knowledge, there has been no systematic or sustained collection, study and identification of the orchids in this part of the Central Volcanic Range. The following is a partial list mainly based on the collections and identifications of Franco Pupulin of Jardín Botánico Lankester and a very few by myself (asterisks\*). Undoubtedly this list is but a fraction of the species present in the preserve (Table 1).

**Building an Orchid Eco-Tourism System in Costa Rica and Elsewhere in Latin America.** Orchids and orchid growing are increasing in worldwide popularity and public interest. In the last five years, there have been two popular books about orchids that were on the bestseller list of the New York Times. A popular 2002 television program in the BBC/PBS Nova series also raised interest in orchids. There are more than 500 local orchid societies affiliated with the American Orchid Society alone. Moreover, many millions of people grow orchids at home, ranging from those who own large orchid greenhouses or lath houses to the casual windowsill grower.

This group is largely an untapped potential market for orchid eco-tourism, a business opportunity for nations in the tropics, an opportunity for education of citizens worldwide to be better informed about the conservation of tropical orchid ecosystems and about orchid natural history and an opportunity to advance orchid science by encouraging more involvement of enthusiastic volunteers. I believe that orchid hobbyists are no less enthusiastic about orchids than birders are about birds.

Costa Rica is to be commended for the leadership it has taken in conserving its ecosystems and hence preserving its biological resources and diversity. The following recommendations for building orchid eco-tourism are based on my own yearly vacationing experience in the country over the last 5 years and my perceptions of the things that could potentially attract other orchid enthusiasts. Some of these recommendations are obvious.

1. Develop site-specific species lists, likely blooming dates and identification tags on plants in preserves and parks. Knowing where one might find a particular group of species and when one might expect



Table 1. Species and Genera Lists for Bosque de Paz and the Environs around the Nearby Town of Bajos del Toro.

<i>Acineta</i> sp.*	<i>Maxillaria</i> cf. <i>dendrobioides</i>
<i>Chondrorhyncha picta</i>	<i>inaudita</i>
<i>Cryptocentrum</i> sp.	<i>neglecta</i>
<i>Dichaea lankesteri</i>	<i>parvilabia</i>
<i>pendula</i>	<i>quadrata</i> *
<i>robusta</i>	<i>trilobata</i>
cf. <i>glauca</i>	<i>punctostriata</i>
<i>morrisii</i> *	<i>Miltoniopsis warszewiczii</i>
<i>Diodonopsis erinacea</i>	<i>Oerstedella pumila</i>
<i>Dracula astuta</i>	<i>Oncidium bracteatum</i>
<i>Elleanthus robustus</i> *	<i>Oncidium</i> sp. (several unidentified species)*
<i>Epidendrum goniorhachis</i>	<i>Osmoglossum egertonii</i> *
<i>incomptum</i>	Pleurothallid Alliance: Many other unidentified species
<i>lacustre</i>	<i>Prosthechea campylostalix</i>
<i>miserrimum</i>	<i>pygmaea</i>
<i>parkinsonianum</i> *	<i>Restrepia trichoglossa</i>
<i>radicans</i> *	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Goniochilus lecochilinus</i>	<i>Sigmatostalix guatemalensis</i>
<i>Jacquinella teretifolia</i>	<i>Specklinia calypstrostele</i>
<i>Kefersteinia wercklei</i>	<i>strumosa</i>
<i>Lepanthes estrellensis</i>	<i>Stelis immersa</i> *
<i>eximia</i>	<i>megachlamys</i>
<i>jimenezii</i>	<i>Telipogon biolleyi</i>
<i>Lockhartia amoena</i> *	<i>Trichopilia suavis</i> *
<i>oerstedii</i> *	<i>Trichosalpinx blaisdellii</i>
<i>Malaxis hastilabia</i>	<i>ciliaris</i> *
<i>Maxillaria acervata</i>	<i>Warszewiczella discolor</i>
<i>biolleyi</i> *	<i>Xylobium squalens</i> *
cf. <i>brunnea</i>	

them to flower would help in the planning of vacations around orchids, just as information on the geographic distribution and breeding seasons of birds are useful to visiting birders. This requires sustained on-site record keeping of blooming and careful plant identifications and labeling.

- Bring more “orchids to the people or take people to the orchids”. Seeing orchids in a state close to nature is a far richer experience than seeing them hanging in a lath house or in a greenhouse. Unfortunately, a large fraction of orchid plants occur in the inaccessible forest canopy. Relocations of air-fall plants to low branches like those practiced by Bosque de Paz are a useful first step. Creating aerial tramways is too costly and does not allow for close inspection of plants. Creating “orchid observatories” by building walkways from steep hillside trails to large nearby orchid-bearing trees could provide closer-to-nature experiences. Bringing orchid-bearing logs down

from the canopy by pulleys might also be a useful way of bringing orchids and people together.

- Build tours of orchid destinations that provide a range of experiences for orchid hobbyists. Put together a sequence of orchid destinations that allow people with similar interests in orchids to meet, naturally starting with Lankester Gardens. Advertise such tours in the newsletters and publications of the orchid societies.
- Provide educational opportunities for nature guides so that they can be better informed about Costa Rica’s orchid flora and biology. My experience with perhaps 40 nature guides in Costa Rica is that not more than one in 20 really know very much about Costa Rican orchids and the wonders of tropical orchid biology. An enthusiastic and informed guide can make all the difference. For myself, Federico González Sotela, Jr., although not a specialized guide in orchids but informed through his own self education and native curiosi-

ty, gave me an enthusiastic introduction to the orchids of the Preserve. A national training system does exist for Costa Rican nature guides, but I suspect that orchids are lightly covered, if at all. This situation can be changed with the active participation of orchid specialists.

5. Encourage participation of enthusiastic volunteers in orchid research by providing in-country instruction and facilities for study. Perhaps amateurs can be involved in volunteer efforts to identify and relocate air-fall plants after large tropical storms.
6. Provide more opportunities for CITES-approved in-country orchid sales and foreign shipments. Nothing raises one's excitement in and knowledge of a plant than trying to grow and bloom it yourself at home. I know that under CITES rules one can buy in-flask orchids easily, but facilitating shipment of more-mature plants would be a helpful development.
7. Take advantage of computer and web technology to provide more comprehensive pictorial guides to orchids that aid in the identification and appreciation of orchid genera and species by amateurs. Field guides with identification keys, such as Robert Dressler's *Field Guide to the Orchids of Costa Rica and Panama* and the volumes in the *Flora Costaricensis Series* in the journal *Fieldiana*

are extremely useful, but the learning curve for the morphological and taxonomic terminology is steep and daunting and probably beyond most orchid hobbyists. Quality photographic images of both the flowers and plants of orchid species with scales would provide more accessible identification tools for the orchid tourist.

To conclude, looking for orchids has many advantages over birding. It is something that doesn't have to be done at 6 bloody AM. Orchids don't fly off when you try to photograph them or migrate to distant places with the seasons. Moreover, I believe that the community of amateur orchid enthusiasts can do for orchid science and orchid conservation what birders have done for ornithology and for conservation of avian ecosystems.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

I thank the González-family for providing some of the factual details about Bosque de Paz and Franco Pupulin for generously providing me a partial species list. Federico González-Sotela, Jr. gets the credit (or the blame) for introducing me to orchids in the wild. I also thank my friend Dr. Marino Protti (Observatorio Vulcanológico y Sismológico de Costa Rica, Universidad Nacional) for sharing with me his knowledge of the natural history of Costa Rica.

**Stephen H. Kirby** is a Research Geophysicist with the U.S. Geological Survey in Menlo Park, California. He was awarded his Ph.D. in Geology at the University of California, Los Angeles (UCLA) in 1975. Since then he has done research on the physical properties of rocks and on the physics of earthquakes and volcanoes in subduction zones. He is the author of more than 125 peer-reviewed research articles, has edited several books and organized several international symposia on these topics. He is also a hobby orchid grower and has vacationed yearly in Costa Rica since 1998. He has been a member of the Peninsula Orchid Society (San Francisco) and the American Orchid Society since 1999.

## CONSERVATION THROUGH EDUCATION

MARILYN H.S. LIGHT

Chair, Education Committee, Orchid Specialist Group  
174 Jolicoeur St. Hull, Québec, Canada J8Z 1C9. mlight@igs.net

The way to conservation is through education. People of all ages everywhere are learning how to make wise use of natural resources to ultimately benefit and sustain future generations but clear goals, objectives and analogies are needed to reinforce the message. Conservation education initiatives can be compared to production of a food crop. A crop plant must first be selected to suit the growing environment then the fields prepared for planting. After planting, the growing plants must be cared for. Only after a successful harvest can the profit be realized.

Clear goals and objectives are needed for conservation projects but before such activities begin, not only must we have developed the most appropriate plan for a particular project but also have recruited the human resources to do the work. We need individuals having strong conservation values acquired and reinforced in their communities. We need trained individuals possessing a wide range of skills, from nursery professionals and tourism operators to conservation officers and communicators, from project and financial managers to teachers and scientists. Planning is as important as doing, motivation and sharing through education and publication of information and ideas is equally fundamental. Seeley *et al.* (2003) observed that even good policies do not ensure success if the managers implementing programs are inadequately trained. Policy makers and conservation managers must have a broad range of skills and experience to develop and implement innovative and effective programs. Training programs should reinforce a sound understanding of project management, creative thinking and problem-solving.

According to Kassass (2002), the approach to biodiversity education at all levels should have five components including scale (local, national or international), overall strategy, goals, and project themes, and the evaluation of training program outcomes. Awareness programs are more likely to be effective if they are first well defined with measurable goals and outcomes, and subsequently designed to achieve the objectives. Many programs presently lack focus or even adequate evalu-

ation tools to be of long term value.

Chapman and Kamala (2001) presented a strategy and methodology for establishing effective environmental education programs. They suggested that if biodiversity appreciation is considered as the unique domain of scientists then other local understanding and appreciation of what is a very complex issue risks being undervalued or ignored. We need to know what we have in terms of biodiversity if we are to adequately measure the success of resource management initiatives but lack of effective networking for biodiversity education and public awareness could further undermine and limit access to education and communication. If there is no formal process for evaluating education and communication programmes outside of the academic literature, local initiatives could fail without policy makers ever knowing why. Astill *et al.* (2002) observed in a multilevel analysis of the effects of parents, teachers and schools on student values in an Australian context that parental social position and the values held by parents and peer groups had much greater effects upon the students' values than the schools and their teachers. Young people especially should be encouraged to value orchids, their diversity and what that represents in terms of ecosystem health to their families and their communities. Mentorship programs and employment opportunities are equally valuable in transferring knowledge and resources to young people so they can develop their skills to make informed decisions about the profitable and sustainable management of orchids. Perhaps the most important role that the present generation can play is as mentors of youth. When we transfer knowledge and resources to youth, we not only contribute to their pursuit of excellence but we also provide an example for them to follow.

What can individuals do for conservation education? They can teach what they have learned. Knowledge gained through observation can be shared with neighbours and hobbyists, investigators and entrepreneurs, locally and internationally. Individuals can publish their observations and ideas in national and

international publications or in peer-reviewed journals. They can advocate orchid conservation through their social and business affiliations by proposing the adoption and practice of sound conservation values and behaviours. They can debate topics and methodologies by participating in discussions with peers. Young people and students who are investigating orchid-related topics for school or related projects can be mentored to provide them with the best opportunity to reach their potential. Through contribution to bursary and scholarship funds, individuals can assist students pursuing higher learning in orchid-related areas.

Edward Warren Greenwood (1918-2002) was a Canadian orchidologist who made an important contribution to our understanding of Canadian and Mexican orchids (Reddoch & Reddoch 2003, Light *et al.* 2003). When Ed Greenwood was a youth growing up in south western Ontario, Canada, a teacher proved pivotal to his career by supporting his acquisition of a photographic plate holder for a handmade pinhole camera. Further assistance to his education was provided in the form of a scholarship to attend Queen's University, Kingston, Ontario, where he studied engineering chemistry. While at university, Ed Greenwood began a lifelong quest to discover, photograph and otherwise document orchids. He retired to Oaxaca, Mexico in 1973 where he worked with mainly terrestrial taxa. The investment made by the teacher and the anonymous scholarship donors so many years before has been repaid many fold through the unselfish sharing of all Ed Greenwood knew and could teach to those who wanted to learn. He is acknowledged as being the most influential person in contemporary Mexican orchidology. Ed Greenwood ensured that a complete set of his field notes, herbarium specimens and photographic slide collection were deposited with AMO. A second set of notes and slides has been contributed to AMES.

When we transfer knowledge and resources to youth, we not only contribute to their pursuit of excellence but we also provide an example for them to follow.

There may be a critical need for orchid conservation education but we need to develop proven educational initiatives to be the vehicles by which such vital messages reach the desired audience. Appropriate messages need to reach everyone from the schoolchild to the tourist, from the farmer to the city dweller, from the policy maker to the conservation officer but we cannot overlook the fact that the message best understood and appreciated may be the one taught in the community by family members and peer groups. Orchids, their diversity and what they represent in terms of ecosystem health to families and their communities may be the most important message of all but the one representing the greatest challenge for delivery.

#### LITERATURE CITED

- Astill, B.R., N.T. Feather and J.P. Keeves. 2002. A multi-level analysis of the effects of parents, teachers and schools on student values. *Social Psych.Educ.* 5 (4): 345-363.
- Chapman, D. and K. Sharma. 2001. Environmental attitudes and behavior of primary and secondary students in Asian cities: An overview strategy for implementing an eco-schools programme. *The Environmentalist* 21(4): 265-272
- Kassass, M. 2002. Environmental education: Biodiversity. *The Environmentalist* 22 (4): 345-351.
- Light, M.H.S., J.M. Reddoch, E. Hågsater and M. Soto. 2003. Edward W. Greenwood (1918-2002). *Icones Orchidacearum, Fascicles V and VI. Orchids of Mexico, Part 2 and 3.* pp. iii-vii.
- Reddoch, J.M. and A.H. Reddoch. 2003. A tribute to Edward Warren Greenwood (1918-2002), Canadian orchidologist. *Canad. Field-Nat.* 116 (2): 326-330.
- Seely, M.K., J. Zeidler, J.R. Henschel and P. Barnard. 2003. Creative problem solving in support of biodiversity conservation. *J. Arid Environm.* 54 (1): 155-164.

**Marilyn H. S. Light** was born in Montréal, Québec, Canada, receiving her post-secondary education in agriculture and microbiology at McGill University. She taught biology and botany in Barbados, West Indies and it was there, in 1970, that she began studying orchids. She joined the staff of the Professional Training Service, University of Ottawa, in 1981. Marilyn Light has developed and taught a range of orchid-related short courses on germination and identification. She conducts long term studies of Canadian terrestrial orchid populations of the genera *Cypripedium*, *Epipactis*, *Platanthera* and *Spiranthes*, investigating pollinator behaviour, pollen germinability, inter- and intra-clonal compatibility, and the impact of weather on individual and population behaviour. She has received the Anne Hanes Conservation Award from the Ottawa Field-Naturalists Club, and the highest award of the Ontario Horticultural Association, the Silver Medal Award, for her vision and achievements in horticulture. Marilyn Light is Chairman of the Canadian Orchid Congress Conservation Committee, and chairs the North American Region and the Education Committees of the Orchid Specialist Group.

## CATÁLOGO PRELIMINAR DE LAS ORCHIDACEAE DE LA ZONA PROTECTORA CERROS DE LA CARPINTERA, COSTA RICA

CARLOS OSSENBACH S.<sup>1,4</sup>, MARIO OSSENBACH S.<sup>2</sup> & FRANCO PUPULIN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fundación Charles H.Lankester, Sabanilla de Montes de Oca, Costa Rica

<sup>2</sup>ASMOCICU, Asociación Movimiento Cívico del Cantón de La Unión, Tres Ríos, Costa Rica

<sup>3</sup>Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica

<sup>4</sup>Autor para correspondencia: caossenb@racsa.co.cr

**Introducción.** El gran botánico norteamericano Paul C. Standley visitó nuestro país en dos ocasiones, en los veranos de 1923-24 y 1925-26, durante las cuales realizó el trabajo preliminar que conduciría, en 1937, a la publicación de su *Flora of Costa Rica*, primera flora de nuestro país en el siglo XX, si exceptuamos el trabajo inconcluso de Pittier en su *Primitiae Florae Costaricensis*.

Standley visitó La Carpintera en sus dos viajes a Costa Rica. En la introducción a dicha flora dice Standley (1937: 26): “Único entre los sitios de colecta de la región central es el Cerro de La Carpintera, cercano a Tres Ríos y Cartago, una montaña aislada y elevada que surge sobre los campos de Ochomogo [...]. Siento una atracción especial por La Carpintera, porque puede alcanzarse fácilmente a pie desde Cartago o Tres Ríos y por su flora, extraordinariamente variada, que nos ha ofrecido docenas de nuevas especies [...]. Las laderas altas de la montaña se han limpiado para potreros y hay senderos fáciles hasta el límite del bosque que cubre las partes altas, [...] alrededor de la cima. Se corta madera en los bordes del bosque, de manera que cada año el número de árboles se reduce. Sería un acto patriótico si este último resto de bella vegetación natural se conservara permanentemente como monumento nacional, de manera que las futuras generaciones pudieran ver lo bello que era su país en su estado primitivo.

El bosque alto de La Carpintera es denso y húmedo, y difícil de penetrar. En ninguna parte de Costa Rica he visto una vegetación tan variada y exuberante. Hay profusión de árboles raros, muchos helechos arborescentes, un crecimiento exuberante de innumerables tipos de epífitas [...] numerosos helechos y gran variedad de bellas flores...

Lo más memorable de un ascenso a La Carpintera es el hecho de que todo el día se entretiene uno con los aullidos de unos cuantos “nausingos” que de alguna manera han sobrevivido en su restringido y aislado hábitat. En ningún otro lugar tan cercano a las ciudades de Costa Rica es posible oír las magníficas voces de estos grandes, negros, monos aulladores, los más grandes simios de Centroamérica.”

Como veremos luego, el deseo de Standley de proteger La Carpintera no empezaría a tomar forma hasta en 1976.

### Antecedentes.

a) *Datos generales.* La Zona Protectora Cerros de La Carpintera fue creada mediante Decreto Ejecutivo 6112-A del 23 de junio de 1976. La zona comprende una superficie de aproximadamente 2396 hectáreas y su manejo se rige por lo que determina la Ley General Forestal No. 7575 del 13 de febrero de 1996. Cubre la parte alta de los Cerros de La Carpintera y se reparte entre cuatro cantones (La Unión, Cartago, Desamparados y Curridabat), aunque la mayor porción, la mejor conservada y la de mayor belleza escénica es la que se encuentra en el Cantón de La Unión. Para los habitantes de Tres Ríos, los Cerros de La Carpintera son el símbolo del Cantón y es un orgullo para muchos de ellos conocer al dedillo los senderos, las grutas, los bosques y las fincas de La Carpintera. Igualmente, es un sentir generalizado en el Cantón que La Carpintera está seriamente amenazada y que es necesario poner en práctica medidas que garanticen su conservación.

b) *Importancia biológica.* En los Cerros de La Carpintera se encuentra una parte de los últimos bosques primarios de altura remanentes del Valle

Central de Costa Rica. La Carpintera es la localidad tipo (*locus typicus* o *clasicus*) de varias especies de plantas. Su importancia específica deriva de su posición entre la Cordillera Volcánica Central y la Cordillera de Talamanca, lo que convierte a estos cerros en un corredor biológico de suma importancia. Dicho corredor está cada vez más amenazado, ya que la autopista Curridabat-Cartago y la urbanización de ambos lados de dicha pista constituyen un corte cada vez más profundo en este corredor. El área tan reducida de bosque primario (aproximadamente 618 hectáreas) hace pensar que es difícil que este ecosistema pueda ser viable a largo plazo, por lo que es necesario no solamente garantizar su protección, sino que también es indispensable fortalecer su conexión con las dos cordilleras a las que sirve de puente. Censos de aves realizados en los años 2000 y 2001 por la Asociación Ornitológica de Costa Rica con el apoyo de miembros de la Asociación Movimiento Cívico del Cantón de La Unión han permitido identificar 164 especies diferentes. Aunque no tenemos conocimiento de estudios exhaustivos sobre flora y fauna de esta zona, es de presumir que la biodiversidad sea similar a la detectada en el campo de las aves.

c) *Importancia como fuente de recursos hídricos.* Como fuente de recursos hídricos, La Carpintera juega también un papel importantísimo para ambas vertientes, la Atlántica y la Pacífica. Poblaciones en ambos lados de los Cerros de La Carpintera dependen de los manantiales que nacen allí para su abastecimiento de agua potable.

d) *Descripción.* La Zona Protectora Cerros de La Carpintera está localizada al sureste de San José, a unos cinco a siete kilómetros del centro de la ciudad. La cima de los cerros es divisoria de aguas entre la vertiente Atlántica y la vertiente Pacífica. Los tres picos más altos (los que se conocen propiamente como La Carpintera) tienen alturas entre 1800 y 1855 m. Otras alturas importantes son el Cerro Quirazú (1794 m), Alto Lima (1651 m) y Alto Negro (1747 m). Las 2396 hectáreas de la Zona Protectora se distribuyen entre los cantones de La Unión (974 has), Cartago (964 has), Desamparados (429 has) y Curridabat (28 has). El clima en los Cerros de La Carpintera presenta el patrón típico del Valle Central,

con una estación seca de diciembre a abril y otra lluviosa de mayo a noviembre. Los datos anuales promedio varían de acuerdo a la altura y la ubicación. Son:

Precipitación:	entre 1500 y 2500 mm
Temperatura:	de 15 a 23° C
Humedad relativa:	entre 70 y 90%

Los Cerros de La Carpintera forman parte del grupo de intrusiones que caracterizan la zona sur de San José, tanto en el flanco oriental como en el occidental. Las principales formaciones estructurales son: Formación Térraba, Formación San Miguel y Formación Coris. Por tanto, encontramos en estos cerros areniscas, lutita negra, calizas, cuarzo y arenas silíceas, entre otros.

e) *Tenencia y uso de la tierra.* La tierra en la Zona Protectora de La Carpintera se encuentra bajo régimen de propiedad privada. Al 23 de noviembre de 1999 la Oficina de Atención al Usuario del Ministerio del Ambiente y la Energía (MINAE) tenía registradas 928 propiedades desde 100 m<sup>2</sup> hasta fincas de 450 has. Según el Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), el uso de la tierra en la Zona Protectora se distribuye así:

Bosque primario	618 has	26%
Bosque secundario	194 has	8%
Charral	57 has	2%
Cultivos y pasto	769 has	32%
Suelo desnudo y ciudades	256 has	11%
Reforestación/recuperación	502 has	21%

Estos datos no concuerdan exactamente con estudios de años anteriores e indican tanto diferencias en metodología como una evolución en el uso de la tierra, principalmente en lo que se refiere a urbanización.

### El proyecto.

a) *Objetivos.* Al igual que los censos de aves realizados por la Asociación Ornitológica de Costa Rica en conjunto con el Movimiento Cívico del Cantón de La Unión, la realización de un inventario y la publicación de un catálogo de orquídeas en la Zona Protectora Cerros de La Carpintera tiene como fin destacar la importancia ecológica de dicha zona, ayudando a fundamentar la necesidad de su preservación.

b) *Metodología*. 1. En una primera etapa se analizó la información bibliográfica existente, que en muchos casos contiene datos de colecciones botánicas de Orchidaceae realizadas en La Carpintera. 2. El siguiente paso consistió en analizar los datos de colecta de los ejemplares de orquídeas conservados en los principales herbarios nacionales. 3. Por último, se realizaron giras al campo para corroborar y ampliar la información obtenida en las etapas previas.

### Las colecciones históricas.

a) *Generalidades*. No conocemos ninguna colecta de Orchidaceae realizada en La Carpintera por los primeros exploradores botánicos que recorrieron Costa Rica durante el siglo XIX. En la obra clásica de Reichenbach sobre las orquídeas de Centroamérica, *Beiträge zu einer Orchideenkunde Central-America's* ("Aportes a una orquideología de la América Central", Reichenbach 1866), La Carpintera no figura como lugar de origen para ninguna de las especies ahí descritas, recolectadas por Oersted, von Warscewicz y Wendland. Es por ello que la aproximación histórica a este Catálogo Preliminar de las Orchidaceae de La Carpintera debe iniciarse con el estudio de la gran obra de Rudolf Schlechter: *Beiträge zur Orchideenkunde von Zentralamerika* ("Aportes a una orquideología de Centroamérica", Schlechter 1923) y a las obras fundamentales de Oakes Ames *Schedulae Orchidianae* (1922-1930) y su capítulo de Orchidaceae para la *Flora of Costa Rica* de Standley (Ames 1937).

b) *Las orquídeas de La Carpintera en la obra de Rudolf Schlechter*. Rudolf Schlechter (1872-1925) fue sin duda el más prominente orquideólogo de la primera mitad del siglo XX. Apasionado de su trabajo, se dice del que fuera director del herbario del Jardín Botánico de Berlín que pretendía publicar una nueva especie de orquídea durante cada día de su vida. Los ejemplares encontrados por los más connotados colectores locales de las primeras décadas del siglo XX fueron enviados a Schlechter para su identificación. Es en las obras de Schlechter donde aparece por vez primera el nombre de La Carpintera en la bibliografía orquideológica de nuestro país, al lado del nombre de los hermanos Curt y

Alfred Brade. Fueron los Brade, jardineros alemanes establecidos en Costa Rica, aparentemente los únicos corresponsales de Schlechter que colectaron en La Carpintera, con la excepción de la colecta de Pittier y Tonduz que dio base a la descripción de *Malaxis carpintera* (Fig. 1). De las colecciones realizadas por los hermanos Brade provenientes de La Carpintera, Schlechter enumera, en su obra ya citada, un total de 15 especies en 10 géneros diferentes.

Entre ellas, como nuevas para la ciencia, fueron descritas por primera vez 4 especies:

*Lepanthes blephariglossa*

*Lepanthes ciliisepala*

*Pleurothallis homalantha*

*Pleurothallis* (= *Stelis*) *carpintera*

c) *Las orquídeas de La Carpintera en la obra de Oakes Ames*. Oakes Ames (1874-1950), hijo de familia culta y acaudalada de Nueva Inglaterra, se graduó en la Universidad de Harvard en 1899 y fue nombrado poco tiempo después como director del Jardín Botánico de la Universidad. A partir del tercer fascículo de sus *Schedulae Orchidianae* encontramos con cada vez mayor frecuencia especies nuevas descritas con base en colecciones realizadas por Tonduz, Standley y Lankester. Entre ellas encontramos 8 especies en 5 géneros colectadas en La Carpintera (en adición a las ya mencionadas anteriormente por Schlechter).

Como nuevas para la ciencia, Ames describe 4 especies:

*Coccineorchis standleyi*

*Lepanthes fimbriata*

*Pleurothallis* (= *Specklinia*) *strumosa*

*Pleurothallis* (= *Stelis*) *pompalis*

d) *Las orquídeas de La Carpintera en la Flora of Costa Rica de Paul C. Standley*. En su tratado de Orchidaceae para la Flora of Costa Rica, Ames (1937) resume los conocimientos que existían hasta aquel entonces sobre las orquídeas de Costa Rica. Como colectadas en La Carpintera se enumeran aquí 16 especies en 11 géneros, sin contar las especies que ya figuraban en las obras anteriores de Schlechter y del mismo Ames.

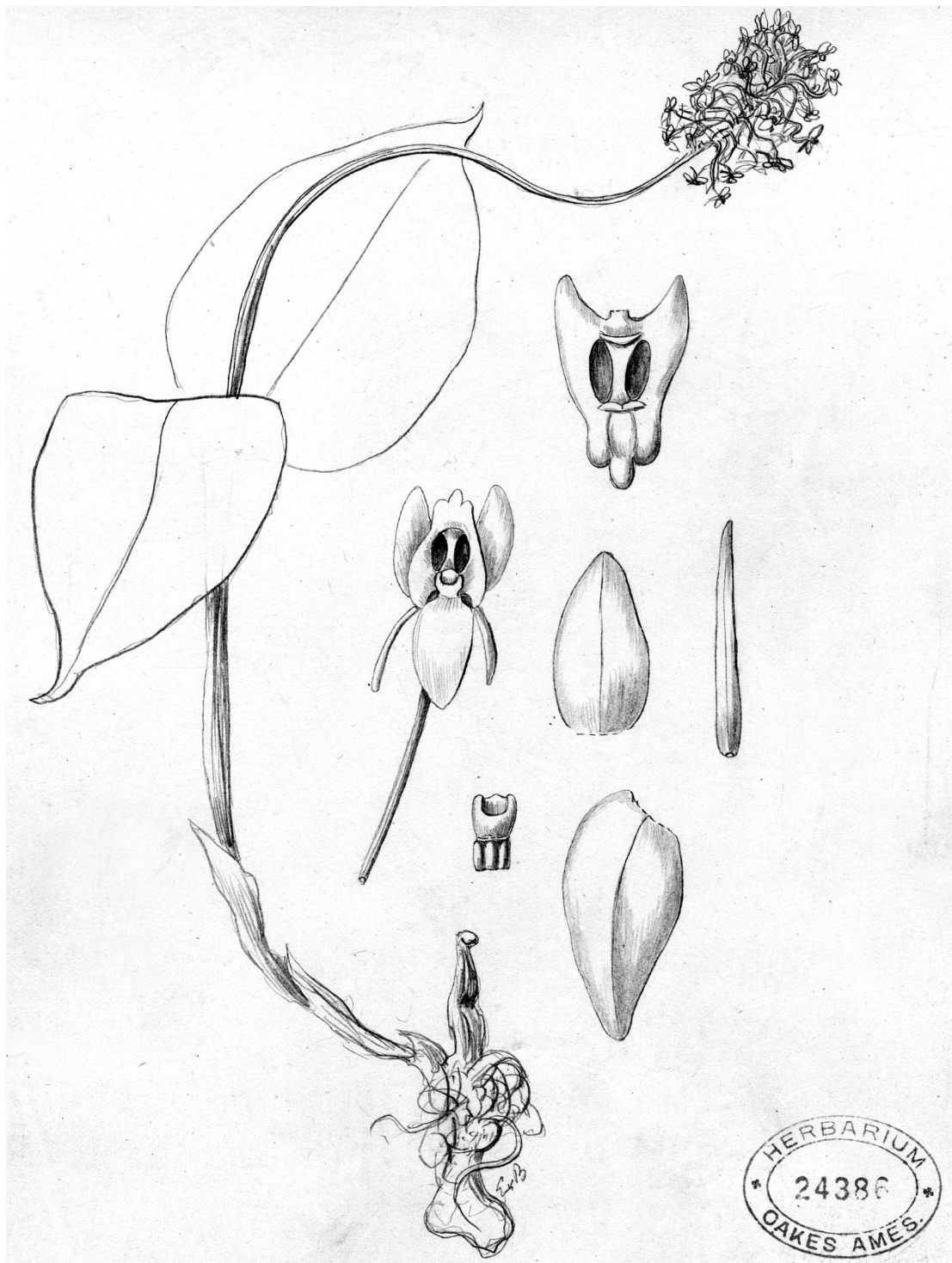


Fig. 1. Dibujo de *Malaxis (Microstylis) carpintera* (Schltr.) Ames, realizado bajo la supervisión de Schlechter y conservado en el Herbario de Oakes Ames, Universidad de Harvard. Al pie del dibujo hay una nota que dice: "Costa Rica, forets de La Carpintera, VIII, 1891 – H. Pittier & Tonduz".



### Orquídeas de la Carpintera en los herbarios nacionales.

a) *Generalidades*. Las bases de datos informatizadas nos permiten hoy día un rápido acceso a la información contenida en herbarios. De los tres principales herbarios nacionales, el del Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio) es el único que no cuenta con ejemplares de Orchidaceae colectados en La Carpintera.

b) *Orquídeas de La Carpintera en el Herbario Nacional*. El Herbario Nacional cuenta con un total de 13 colecciones de orquídeas realizadas en La Carpintera, en 9 géneros diferentes. Interesantes desde el punto de vista histórico son dos colectas de Louis O. Williams, del año 1949.

c) *Orquídeas de La Carpintera en el Herbario de la Universidad de Costa Rica*. El Herbario USJ es el más rico en especímenes procedentes de La Carpintera, con 25 especies en 15 géneros, la mayoría recolectados por Carlos O. Morales en años recientes.

d) *Orquídeas de La Carpintera en la colección viva del Jardín Botánico Lankester*. En la colección viva del Jardín Botánico Lankester se encuentran 4 especies y un género adicionales, provenientes de colectas en los Cerros de La Carpintera. Se encuentran además en el Jardín ejemplares sin identificar de los géneros *Maxillaria*, *Erythroides* y *Govenia*.

**Catálogo de las Orchidaceae de los Cerros de La Carpintera.** La lista preliminar de Orchidaceae recolectadas en La Carpintera que se agrega a continuación (Tabla 1) incluye únicamente los géneros y especies enumerados por Schlechter y Ames en la bibliografía citada, y las especies que se encuentran depositadas en los herbarios nacionales.

Esta primera lista está integrada por 67 especies en 34 géneros diferentes (68 especies en 35 géneros si incluyéramos las especies no identificadas en el Jardín Botánico Lankester). Es probable que las giras al campo que se realizarán para complementar y corroborar la información bibliográfica y la contenida en los herbarios nacionales arroje un número de especies mucho mayor.

De las contenidas en la lista, un total de 10 especies

fueron descritas por primera vez con base en colectas realizadas en La Carpintera.

De las 67 especies mencionadas, 10 son endémicas de Costa Rica, de las cuales una (*Malaxis carpintera*) es probablemente endémica de La Carpintera (Fig. 1).

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Armando Estrada y Emily Serrano por la información proporcionada acerca de las colecciones del Museo Nacional de Costa Rica (CR), y a Carlos O. Morales por la ayuda brindada en el Herbario de la Universidad de Costa Rica (USJ) y por sus observaciones de campo.

### LITERATURA CITADA

- Ames, O. 1992-1930. *Schuldae Orchidiana*, 1-10. Boston. Reimpresión por Bishen Singh Mahendra Pal Singh, India, 1983.
- Ames, O. 1937. *Orchidaceae*. In P.C. Standley, *Flora of Costa Rica*. Part 1. Field Museum of Natural History, Chicago, Botanical Series.
- Instituto Nacional de Biodiversidad. 2003. Página "web" – <http://www.inbio.ac.cr>
- Meza Ocampo, T. 1979. Consideraciones generales sobre la morfoestructura y el modelado climático en los Cerros de La Carpintera y su relación con el conjunto Irazú, Costa Rica. Tesis, Universidad de Costa Rica.
- Ossenbach, C. en prensa. Breve historia de la orquideología de Costa Rica. San José, Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Pupulin, F. 2002. Catálogo revisado y anotado de las Orchidaceae de Costa Rica. *Lankesteriana* 4: 1-88.
- Reichenbach, H.G. 1866. *Beiträge zu einer Orchideenkunde Central-America's*. Hamburgo.
- Schlechter, R. 1917. *Beiträge zur Orchideenkunde von Zentralamerika*. I. *Orchidaceae Powellianae Panamenses*. *Repert. Sp. Nov. Regni Veg.* 17. Verlag des Repertoriums, Dahlem bei Berlin. Reimpresión por Otto Koeltz Antiquariat, Königstein, R.F.A., 1980.
- Schlechter, R. 1923. *Beiträge zur Orchideenkunde von Zentralamerika*. II. *Additamenta ad Orchideologiam Costaricensis*. *Repert. Sp. Nov. Regni Veg.* 19. Verlag des Repertoriums, Dahlem bei Berlin. Reimpresión por Otto Koeltz Antiquariat, Königstein, 1980.
- Standley, P.C. 1937. *Flora of Costa Rica*. Part 1. Field Museum of Natural History, Chicago, Botanical Series.
- Torres Guerrero, A. 2002. Programa ambiental para la consolidación de la Zona Protectora Cerros de La Carpintera. Proyecto de Ley, Asamblea Legislativa, República de Costa Rica, marzo 2002.

Tabla 1. Catálogo de las Orchidaceae de los Cerros de La Carpintera. El asterisco (\*) indica las especies endémicas de Costa Rica.

---

<i>Acianthera sicaria</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	<i>Masdevallia tubuliflora</i> Ames
<i>Barbosella prorepens</i> (Rchb.f.) Schltr.	<i>Maxillaria biolleyi</i> (Schltr.) L.O. Williams
<i>Coccineorchis standleyi</i> (Ames) Garay	<i>Oerstedella exasperata</i> (Rchb.f.) Hágsater
<i>Comparettia falcata</i> Poepp. & Endl.	<i>pumila</i> (Rolfé) Hágsater
<i>Dichaea cryptarrhena</i> Rchb. f. ex Kraenzl.	<i>Oncidium bryolophotum</i> Rchb. f.
<i>muricata</i> (Sw.) Lindl.	<i>stenoglossum</i> (Schltr.) Dressler & N.H. Williams
<i>trichocarpa</i> (Sw.) Lindl.	<i>Ornithocephalus</i> sp.
<i>Epidendrum isthmi</i> Schltr.	<i>Platystele compacta</i> (Ames) Ames
<i>laucheanum</i> Bonhof ex Rolfé	<i>oxyglossa</i> (Schltr.) Garay
<i>pachyceras</i> Hágsater & L. Sánchez	<i>Pleurothallis homalantha</i> Schltr.
<i>platystigma</i> Rchb.f. *	<i>ruscifolia</i> (Jacq.) R. Br.
<i>piliferum</i> Rchb.f.	<i>spectrilinguis</i> Rchb.f.
<i>resectum</i> Rchb.f.	<i>Ponthieva racemosa</i> (Walt.) Mohr
<i>sancti-ramoni</i> Kränzl.	<i>Prosthechea abbreviata</i> (Schltr.) W. E. Higgins
cf. <i>sanchoi</i> Ames	<i>racemifera</i> W. E. Higgins
<i>Erycina crista-galli</i> (Rchb.f.) N.H. Williams & M.W. Chase	<i>Rossioglossum schlieperianum</i> (Rchb.f.) Garay & G.K.
<i>Erythrodos</i> sp.	Kenn.
<i>Gongora</i> sp.	<i>Scaphosepalum anchoriferum</i> (Rchb.f.) Rolfé
<i>Govenia</i> sp.	<i>microdactylum</i> Rolfé
<i>Habenaria entomantha</i> (Llave & Lex.) Lindl.	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Lankesterella orthantha</i> (Kränzl.) Garay	<i>Specklinia strumosa</i> (Ames) Pridgeon & M.W. Chase *
<i>Lepanthes blephariglossa</i> Schltr.	<i>Stelis carpintera</i> (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase *
<i>bradei</i> Schltr. *	<i>cooperi</i> Schltr. *
<i>ciliisepala</i> Schltr. *	<i>pachyglossa</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase
<i>fimbriata</i> Ames	<i>parvula</i> Lindl.
<i>micrantha</i> Ames *	<i>pilosa</i> (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase
<i>Macroclinium</i> cf. <i>ramonense</i> (Schltr.) Dodson	<i>pompalis</i> (Ames) Pridgeon & M.W. Chase
<i>Malaxis carnosa</i> (Kunth) C. Schweinf.	<i>segoviensis</i> (Rchb.f.) Pridgeon & M.W. Chase
<i>carpintera</i> (Schltr.) Ames * (Fig. 1)	<i>standleyi</i> Ames
<i>hisionantha</i> (Link, Klotzsc & Otto) Garay & Dunsterv.	<i>Stellilabium</i> cf. <i>distantiflorum</i> Ames *
<i>simillima</i> (Rchb.f.) Kuntze	<i>Telipogon biolleyi</i> Schltr.
<i>Masdevallia chontalensis</i> Rchb.f.	<i>Trichosalpinx blaisdelli</i> (S. Wats.) Luer
<i>picturata</i> Rchb.f.	<i>Warszewiczella discolor</i> (Lindl.) Rchb.f.
<i>striatella</i> Rchb.f. *	<i>Xylobium</i> sp.

---

**Carlos Ossensbach** es cofundador de la Fundación Charles H. Lankester y sus dos intereses principales son la historia de la orquideología y la bibliografía sobre orquídeas.

**Mario Ossensbach** es Presidente de la Asociación Ornitológica de Costa Rica y Tesorero de la Asociación Movimiento Cívico de Tres Ríos. Se ha dedicado con gran interés a la conservación de las áreas protegidas de Costa Rica y sobre todo de los Cerros de La Carpintera.

**Franco Pupulin** es profesor de la UCR y trabaja como investigador en el Jardín Botánico Lankester. Realiza estudios de sistemática y evolución de las orquídeas, y trabajos florísticos en áreas protegidas.

## CONSERVACIÓN DE ORQUÍDEAS EN GUATEMALA: LA EXPERIENCIA DE UN COLEGIO

RAQUEL JIMÉNEZ DE PINTO

9 a. Calle 5-49, zona 10, Int.1, Ciudad de Guatemala, Guatemala

Desde 1994, los estudiantes del Colegio Ciudad Vieja de Ciudad de Guatemala trabajan en un proyecto de reforestación, conservación y rescate de orquídeas que crecen en un bosque de encino de aproximadamente 25 hectáreas (Barranco El Maestro) del Campus Central de la Universidad Francisco Marroquín (Ciudad de Guatemala, Guatemala). El proyecto forma parte esencial del programa de estudios de la institución y se realiza los sábados y domingos.

El primer año se realizó un censo de los árboles que crecen en el área, estableciendo que hay aproximadamente 6400 árboles, en su mayoría encino, ciprés, níspero, pino, aguacate, guayabo, jacaranda y casuarina. Inicialmente se determinó la presencia de trece especies de orquídeas, entre las que destacan por su abundancia: *Barkeria skinneri* Bateman ex Lindl., *Comparettia falcata* Poepp. & Endl., *Dichaea* sp., *Encyclia panthera* (Rchb.f.) Schltr., *Epidendrum* sp., *Macroclinium bicolor* (Lindl.) Dodson, *Maxillaria variabilis* Batem. ex Lindl., y *Ponera striata* Lindl. En los últimos años el inventario se ha enriquecido con la localización de las siguientes especies: *Cattleya aurantiaca* (Batem. ex Lindl.) P.N. Don, *Cattleya skinneri* Batem., *Dichromanthus cinnabarinus* (La Llave & Lex.) Garay, *Epidendrum difforme* Jacq., *Oncidium (Trichocentrum) cavendishianum* Bateman, *Pleurothallis ghiesbreghtiana* A. Rich. & Galeotti y *Ponthieva racemosa* (Walt.) Mohr.

Los estudiantes también han realizado giras a otras zonas de la Ciudad de Guatemala con el propósito de rescatar orquídeas caídas de los árboles. En este proceso han sembrado miles de plantas de 56 especies de orquídeas. También han podido encontrar poblaciones naturales de 28 especies terrestres, incluyendo las siguientes: *Bletia campanulata* La Llave & Lex.,

*Bletia purpurea* (Lam.) DC, *Cranichis hieroglyphica* Ames & Correll, *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr., *Cyclopogon prasophyllum* (Rchb.f.) Schltr., *Spiranthes (Aulosepalum) pyramidalis* Lindl., *Goodyera striata* Rchb.f., *Govenia dressleriana* E.W. Greenw., *Govenia* sp, *Sobralia macrantha* Lindl., *Habenaria alata* Hook., *Habenaria limosa* (Lindl.) Hemsl., *Habenaria quinqueseta* (Michx.) Sw., *Habenaria* sp., *Malaxis parthonii* Morren y *Sarcologlottis cerina* (Lindl.) P.N. Don.

El proceso de inventario de plantas ha continuado en los últimos años incrementando la lista de especies. También los estudiantes del colegio han complementado el proyecto con inventarios de fauna del Barranco El Maestro. Los resultados les han permitido comprender la interrelación entre plantas y animales, principalmente lo referente a polinización y dispersión de frutos y semillas. Además, el contacto con profesionales en áreas de las ciencias naturales ha mejorado notablemente el proceso de formación académica de los estudiantes y ayudado a su orientación vocacional.

Los resultados de este proyecto han sido ampliamente divulgados en ferias, exposiciones internacionales, seminarios y conferencias en Guatemala, Canadá, los Estados Unidos, El Salvador y Costa Rica. Los mismos estudiantes han elaborado material impreso y varios audiovisuales de excelente calidad. Este proyecto ha recibido muchos premios por parte de la Asociación Salvadoreña de Orquideología, la Asociación Costarricense de Orquideología, la Asociación Guatemalteca de Orquideología y reconocimientos por parte de la American Orchid Society. Especial mención merece el segundo lugar obtenido por el puesto educativo que los estudiantes presentaron en la Exposición Mundial de Orquídeas realizada en Vancouver, Canadá. Recientemente su

trabajo fue objeto de un reportaje en la revista *Selecciones del Readers Digest*.

En los últimos dos años otros colegios de Ciudad de Guatemala han adoptado este modelo de conservación y enseñanza del Colegio Ciudad Vieja y están

iniciando proyectos similares en otras zonas del área metropolitana de Guatemala, con lo cual se espera aumentar la conciencia pública y contribuir significativamente con la conservación de las orquídeas nativas de la Ciudad de Guatemala.

**Raquel Jiménez de Pinto** es profesora, directora y fundadora del Colegio Ciudad Vieja de Guatemala. Está graduada en pedagogía, sicología y tiene estudios de posgrado en ciencias sociales. Fue presidenta de la Asociación Guatemalteca de Orquideología.

## ORCHIDS AT WRITHLINGTON SCHOOL, ORCHID CONSERVATION IN THE COMMUNITY

SIMON PUGH-JONES

Writhlington School, Radstock, Bath, BA3 3UD, England. spughjones@tiscali.co.uk

This lecture will outline my work with orchids at Writhlington School and the range of outcomes that make this the special project it has become. I will then focus on current *ex-situ* conservation projects and identify lessons for community based orchid conservation. Expect a rapid journey through science, conservation and young peoples achievement.

Our starting point is the School and its greenhouse. Writhlington is a Comprehensive School (pupils 11 to 18 years old) serving the old coal mining town of Radstock and the surrounding villages dominated by the industries of quarrying and printing.

The School greenhouse is an ageing structure 12 m by 8 m divided into about three sections that run at intermediate, cool and even cooler and the plants are grouped roughly in genera for the convenience of the pupils. This allows us to grow a wide range of tropical orchids. Each pupil in 'Greenhouse club' is responsible for the care of a different genus and thus becomes an expert in their field quite quickly. Giving the pupils real responsibility has been the key to our success as the pupils become passionate about orchids.

As well as the greenhouse we have two other key facilities, the School orchid laboratory and the Rugby Field.

We built our Orchid propagation lab in a room that used to be a girls toilet. Instead of the cubicles and basins we now have two lamina flow cabinets and rows of shelves and grow lights. It's a magical spot and pupils spend hours looking through the jars to spot germination. We have been really pleased to find that growing Orchids from seed is not difficult if you have suitable equipment. Twelve year olds have no problem in achieving high success rates. At this point I must thank those at Kew and Greenaway Orchids that have given us help and advice.

Our rugby field is a special place since the first flowering of *Ophrys apifera* (Bee Orchid) six years ago. Five years earlier I had arranged for changed management of the field so that it is not cut for rugby after Christmas and a local farmer takes a late Hay cut in August. The field is now a wonderfully bio-rich meadow with and rapidly growing Bee Orchid Population and an emerging Pyramidal Orchid population. This practical example of *in-situ* conservation offers excellent research opportunities to our pupils as well as a starting point for our *ex-situ* conservation work.

Making the most of these facilities at the School opens a wide range of opportunities to the School pupils and the local community. The opportunities can be split into:

- Science opportunities
- Conservation opportunities
- Enterprise opportunities
- Opportunities for personal development.

The four are intertwined but I would like to give some real examples of how they work in a school and impact on orchid conservation.

Through our orchid work we have linked with some key partners including the micropropagation department at Kew, The Royal Horticultural Society, Bristol Zoo, The Eden Project and The Rio Atlantic Forest Trust. These partners allow students to develop knowledge and skills and take part in significant research. In each of the past three years Writhlington Students have reached the British finals of 'Young Scientist of the Year'. Through research and work experience the Students also develop higher education and career plans.

Pupils have developed innovative enterprise projects utilizing their specialist orchid knowledge and

skills, developing real commercial products. They sell to the public, including high profile customers like Cherie Blair (the Prime Ministers Wife), and sell Business to Business. This work has helped us to develop the concept of conservation enterprise – conservation that is self funding.

This brings me to conservation. As I have said pupils are involved in *in-situ* and *ex-situ* conservation. *Ex-situ* conservation has two elements. *Ex-situ* conservation of orchid species local to the School and *ex-situ* conservation of tropical species linked to partner organisations.

Writhlington School is situated on limestone hills in the West of England and expeditions with pupils have identified sites of more than 20 of Britain's 50 native Orchid species within 15 miles of the School. Searching for and finding these sites formed the basis of 'The Radstock Native Orchid Project', where school pupils and an adult community group are working to raise these species from seed. The community group includes local farmers, gardeners, housewives, a technician and a retired electrician. A mixed group with a variety of skills and goals, but a group that now shares a passion for conservation and a range of high level skills.

Our local orchids are not endangered but are locally rare and many populations are vulnerable. We accept that the greatest threats to biodiversity are not in Western England but in the tropical World and in response we have turned our attention to *ex-situ* conservation of tropical species. In this field we feel have three key strengths:

- The skills and facilities at the School.
- Our well developed community involvement.
- Our enterprise experience and connections.

To give a clear outline of how this works in practice I will describe our newly launched project 'The Sikkim *ex-situ* *Cymbidium* conservation project'.

The project is based around three Project partners:

- Sikkim - Mohan Predhan –Member and Secretary, Indian Sub-continent Regional Orchid Specialist Group. Plus Sikkim Schools.
- Writhlington School – Simon Pugh-Jones, Teacher, and community conservation group of pupils and adults.

- Eden Project.- initial contact Don Murray, Curator Humid Tropics.

The need for the project has been identified by Mohan Predhan. He has identified local *Cymbidium* species as under great pressure from collection for sale to people in towns and cities who use plants in their gardens. He is also concerned that conservation is not a priority for the majority of the population.

The Project plan identifies clear roles for each of the partners to deliver results in Sikkim.

Mohan Pradhan will send seed of key species to Writhlington School for germination. Writhlington School and its community conservation group will raise large numbers in flask and flasks will be sent with financial support to selected village schools in Sikkim. The School students in Sikkim will then grow the seedlings into plants for distribution in community at low cost. A proportion of seedlings will be retained by Writhlington School to raise the money to send to Sikkim and cover costs of production. To generate this funding seedlings will be sent to the Eden Project for suitable packaging as conservation product and sold through Eden Shop (which has two million visitors a year). In this way the project will be self funding and not reliant on sponsorship or grant aid.

The Project will have a number of outcomes, both in Sikkim and England:

- Artificially raised plants will become available in large quantities in Sikkim reducing pressure for collection of wild plants. School pupils and communities in Sikkim will become actively involved in conservation and the schools involved will benefit from the funding provided by the project. It is hoped that the community focus of project will avoid commercial conflicts.
- Writhlington School students benefit from links with Sikkim schools, and the opportunity to develop their science and enterprise skills.
- The Eden Project gains involvement in a practical, manageable and self funding conservation project and the customers who buy the seedlings from the Eden Project will gain involvement in conservation and a desirable product.

Clearly there is a need for Project guarantees and I

consider the best approach is to work through the auspices of the Orchid Specialist Group of IUCN, and ensure that financial arrangements are set up to ensure that surplus generated is sent to Sikkim.

The longer term aims are for the Project to act as a model for the future, and for the work in Sikkim to be self sustaining and independent once funding has set up full facilities for raising the orchids within local

school. Writhlington will then move to a similar project in another area.

I believe that our projects at Writhlington demonstrate that Schools have the potential to play a key role in conservation. Schools can be a major resource as they are an effective link to community involvement in projects and contain the key raw material for change, the energy and commitment of young people.

**Simon Pugh-Jones** has won National acclaim for pioneering work with Orchids in Education. As a science teacher at Writhlington Comprehensive School he has introduced orchid growing to a generation of young people and developed a wide range of ground breaking conservation projects. The value of his work has been recognized through the award of 'Teacher of the Year' for the West of England and National TV coverage. Simon began growing orchids at the age of thirteen and worked under the guidance of Keith Andrew at Plush while at School and College. Becoming head of physics at Writhlington School in 1988, he has transformed the Schools extensive horticultural area into a vibrant orchid collection supported by a productive orchid propagation laboratory and extensive scientific research.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

*Sesión / Session*

**GERMINACIÓN Y PROPAGACIÓN**  
***GERMINATION AND PROPAGATION***



## SEED CHARACTERISTICS AND ASYMBIOTIC GERMINATION OF *GALEANDRA BATEMANII* ROLFE AND *G. GREENWOODIANA* WARFORD

MARILYN H.S. LIGHT<sup>1</sup> & MICHAEL MACCONAILL

<sup>1</sup>Author for correspondence: 174 Jolicoeur St., Hull, Québec, Canada J8Z 1C9. mlight@igs.net

The genus *Galeandra* Lindl. is a member of subtribe Cyrtopodiinae (Dressler 1993). It is represented in the Americas, from Florida through Mexico and Central America and as far south as Argentina. In Mexico, suitable habitat of *Galeandra batemanii* Rolfe and of *Galeandra greenwoodiana* Warford is sparse, patchy and widely separated with sites 300 km or more apart (Warford 1994). *Galeandra batemanii* has been reported to be occasionally lithophytic (Pollard 1974).

The plant of *G. batemanii* represented in this study, O. Suarez 1122 (sub *W-594*), was collected in an area of the Gulf slope of Oaxaca, Mexico, east of the Continental Divide, at 750 m elevation where it was found by Octavio Suarez and Ed Greenwood in 1989, growing on a rotting pine trunk lying on the ground and overhanging a road in a small pine savannah within moist tropical forest (E. W. Greenwood, pers. comm.). *Galeandra batemanii* is rare in Mexico (Warford 1994) and may now be extinct. The three plants of *G. greenwoodiana* represented in this study, *W-542*, *W-543* and *W-544*, were found growing on the Sabal palm (*Sabal rosei*) in Nayarit, Mexico, elevation 300 m, under hot, seasonally dry conditions (Warford 1994). This population is now extirpated (Warford, pers. comm.). According to Warford, *G. greenwoodiana* is generally more robust than *G. batemanii*.

This investigation was undertaken as a study of germination behaviour. The species were rare, which in itself was a stimulus to gather as much data as possible from the limited material at hand. When we began this study, we were also involved in parallel investigations of the germination behaviour of *Cypripedium parviflorum* Salisb. var. *pubescens* (Willd.) Knight and of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Light & MacConaill 1998). We observed germination polymorphism in *E. helleborine* (Light 1995), and in particular, our observation that the production of a particular seed class varied with habitat and seed parent status, caused us to look more closely at the seeds and seedling behaviour in the *Galeandra* specimens.

**Materials and methods.** Two capsules (GbA and GbB) were obtained through hand self-pollination of flowers on two inflorescences arising from separate shoots of the same plant of *G. batemanii*. Capsule GbA came from the smaller of the two shoots. A third capsule (Gg1) was obtained through hand pollination of *G. greenwoodiana* W-544 with pollen from W-543, while two further capsules (Gg2 and hybrid) were obtained through hand pollination of two flowers of the same inflorescence of *G. greenwoodiana* W-543 with pollen from W-542 and from *G. batemanii* respectively.

All of these plants had been maintained in cultivation in Puerto Vallarta, Mexico, for at least six months before pollination. When the capsules naturally dehisced, seeds were harvested then forwarded to the investigators by airmail. Seeds were subsequently stored at 4 °C in a frost-free refrigerator which maintained a relative humidity of 28%.

Seed and embryo length and width in samples of 30 seeds from each seed lot were measured using an optical micrometer and a 10x objective.

Replicates of approximately 100 seeds were sown on 15 ml slants in 25x150 mm test tubes. All slants were incubated at 22±2 °C with the slant surface horizontal. Illumination, when used, was by a pair of 40 W Gro & Sho (Canadian General Electric) wide spectrum fluorescent lamps (300 μmol.m<sup>-2</sup>.sec<sup>-1</sup>), 30 cm above the test tubes with a 16 hour photoperiod. All slants were examined with a hand lens immediately after sowing to count the number of seeds containing embryos before incubation began. Polyembryony was assessed both from the sown seeds and from examination of a further 200 seeds from each seed batch.

**Germination Assessment.** The slants were examined weekly for germination (rupture of the testa). The final count of seeds germinated was obtained 21 days after sowing as the growth of protocorms and rhizoids thereafter made accurate counts difficult. Those replicates being incubated in darkness were exposed to approximately ten minutes of incandescent light each time ger-

mination was assessed. Replicates contaminated by fungal growth were excluded from the final assessment.

*Replating Protocorms.* Three-week-old protocorms were transplanted onto the relevant replate medium (50 ml per 500 ml flask, 15 protocorms per flask, three flasks per sample). Stoppers were vented through a single hole plugged with cotton wool and covered on the outside with Sun Cap Closures (Sigma Chemical Co.). Seedlings were grown at  $22 \pm 2$  °C. Illumination was as previously described.

*Experiment 1* (started July 1991). Seeds were surface-sterilized by shaking for ten minutes in a 1:20 commercial bleach solution (final concentration was 0.25% available chlorine) then rinsed once with sterile deionized water and sown on G&B Mother Flask Medium V (G&B Orchid Laboratories, Vista, CA), adjusted to pH 5.8 before sterilization. Four replicates of each seed lot were incubated in darkness, and five with illumination. The resulting protocorms were transplanted onto G&B Replate Medium V (G&B Orchid Laboratories, Vista, CA), prepared according to manufacturer's instructions.

*Experiment 2* (started January, 1992). Because we had had problems with fungal contamination of one seed lot and wished to replicate the experiment on a defined medium, we conducted a second experiment in which a 1:10 bleach solution (0.5% available chlorine) was used to surface sterilize the seed. Seeds were then sown on Phytamax® Orchid Maintenance Medium P6668 (Sigma Chemical Co.) with 8 g/L agar (Difco) added, adjusted to pH 5.8 before sterilization. Five replicates of each lot were incubated in darkness, and five with illumination. The resulting protocorms were transplanted onto the same medium.

*Seedling Measurement.* Measurement of seedlings raised on G&B Replate Medium V was not practicable because of protocorm proliferation. Seedlings grew normally on Phytamax® P6668 medium. One randomly selected flask representing each seed lot was chosen for seedling measurement when the first pseudobulbs matured and the plantlets were about to enter the deciduous phase, approximately nine months after sowing. The length and diameter of the pseudobulbs of ten seedlings were measured using a Vernier caliper, while the length and width of the longest leaf of each seedling was measured using a ruler. Volumes of embryos and pseudobulbs were estimated (as  $\pi d^2/6$ ) on the assumption of prolate ellipsoidal geometry.

**Results and discussion.** *Capsule Dehiscence.* The two capsules of *G. batemanii* dehiscid at 316 days (GbA)

and 342 days (GbB) respectively: two capsules of *G. greenwoodiana*, at 279 (Gg2) and 286 (Gg1) days, and the capsule of the interspecific hybrid at 282 days. This suggests an interspecific difference in time to dehiscence although more data from additional specimens would be needed for confirmation.

The external appearance of all seeds examined was similar. The testa was about five cells long: cell surfaces were conspicuously thickened longitudinally. Seed dimensions of *G. batemanii*, *G. greenwoodiana*, and their interspecific hybrid showed no consistent overall pattern. There was no meaningful difference in seed length between seed lots, while embryo lengths segregated into two groups with no species-related pattern detectable. On the other hand, seed and embryo widths, and estimated embryo volume, showed a common clear separation between samples from the two seed lots having *G. greenwoodiana* W-543 as a seed parent (Gg2 and the hybrid) and those from the other three lots.

Seeds of *G. batemanii* and of *G. greenwoodiana* had filamentous suspensors consisting of one or two large basal cells with conspicuous granules and a two to five-celled filamentous distal region oriented towards the micropylar end of the seed. The suspensor and embryo were contained within the outer integument. Seeds having *G. greenwoodiana* (W-543) as a seed parent had folded or bent suspensor filaments. In all other seed lots, the suspensor was straight. We observed swelling of suspensor cells during imbibition, coincident with swelling of the embryo in the first stages of germination of all seed lots suggesting that there may be a passive role in water absorption for the suspensor (Fig. 1). All samples of *G. batemanii* and *G. greenwoodiana* had some polyembryonic seeds, but the incidence of polyembryony was low. The most frequent form of polyembryony observed was diembryony: two examples of seeds with three embryos were noted during seed measurement. Variability between samples of the incidence of polyembryony within capsules was within expected limits. The incidence of polyembryony in seed lot GbB was significantly greater than in any of the other four seed lots.

Polyembryony is relatively common in relatives of *Galeandra* (M.A. Clements, pers. comm.). Seeds of *Galeandra* and of other genera of this subtribe have a particular type of suspensor which has been shown to have an active role in nutrient transfer from the main body of the outer integument cells to the embryo during seed development (Clements 1995). The suspensor generally becomes nonfunctional as the embryo

matures. Suspensor cells have a primary cell wall which is likely to provide a site for water uptake (E.C. Yeung, pers. comm.).

**Seed Storage Conditions.** Once we had received the seed, it was stored under standard conditions. Harvest to receipt interval ranged from 7 to 45 days. Six months refrigeration did not appear to affect seed germination as it was essentially the same in darkness in Experiments 1 and 2.

**Seed Pretreatment.** Seeds of all samples turned bright yellow orange when first exposed to bleach then became paler as the treatment progressed. Treatment with the more concentrated bleach solution (0.5% active chlorine) for ten minutes in Experiment 2 reduced fungal contamination to manageable levels. This bleach treatment did not reduce seed germination.

**Germination in the Dark.** All samples from a given seed lot germinated to the same extent on both media when incubated in darkness. Although all replicates of one seed lot of *G. batemanii* (GbA), were lost to seedborne fungal contamination in Experiment 1, the other results in Experiment 2 so closely paralleled those of Experiment 1 that the effect of medium could be assumed to have been negligible. Seeds from *G. greenwoodiana* and the hybrid had an average 85% germination, while germination was much less for seeds from *G. batemanii*, being 49% for seed lot GbA and only 28% for GbB.

**Germination and Protocorm Development with Illumination.** Incubation with illumination significantly increased the germination of seeds from *G. batemanii*, while it had a minor inhibitory effect on germination of seed from *G. greenwoodiana* and the hybrid, the effect being most marked for seed lot Gg2. Seeds sown on Phytamax® P6668 showed significantly higher germination with illumination than those sown on G&B V medium, with the exception of those from seed lot Gg1. With *G. batemanii*, germination of seed lot GbA with illumination on Phytamax® P6668 averaged 96%. Under the same conditions, germination of seed lot GbB was only 60%, although this was still greater than the 28% in the dark or the 39% on G&B V medium with illumination. Protocorm rhizoids began forming approximately two weeks after germination. Exposure to light moderately inhibited rhizoid development in all samples.

The concept of variable germination response to light is not new (Stoutamire 1964). Seeds of many terrestrial orchids are known to germinate better in darkness than in the light (Rasmussen 1995). Rasmussen *et al.* (1990)

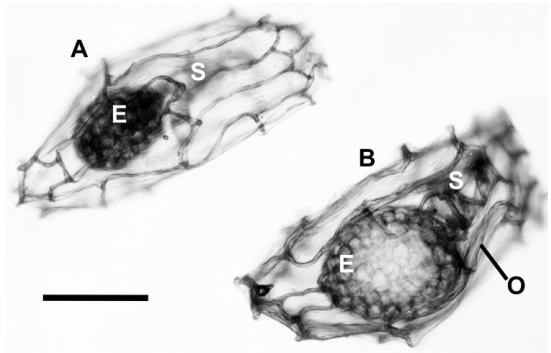


Fig 1. Seeds of *Galeandra greenwoodiana* W-542 (Gg2) 48 h after sowing showing: (A) an embryo which has not imbibed and may not germinate; and (B) an imbibed, swollen embryo and suspensor. Symbols: E - embryo; S - suspensor; O - outer integument. All samples were stained with Trypan Blue, 0.2% in 45% acetic acid, for 30 seconds to improve contrast and visualization of seed components, then rinsed, and mounted in water. Scale bar: 100  $\mu$ m.

reported that in the European terrestrial orchid, *Dactylorhiza majalis*, about 14 days of incubation in darkness were required for a normal germination percentage. Rasmussen & Rasmussen (1991) suggested that light-mediated inhibition in *D. majalis* would reduce the risk of desiccation after germination: seeds would have to be within the soil and away from light to germinate. They further observed that while seeds of *D. majalis* have an initial light sensitive phase, light inhibition was not complete: a small percentage of seeds could germinate without darkness. Zettler & Hofer (1997) have suggested that even closely related species may differ in their response to light during germination. Control of germination rate and of rhizoid development of seeds not yet within dark and moist surroundings could be especially critical to orchids whose habitat is seasonally harsh and dry as with *G. greenwoodiana*. Desiccation-sensitive rhizoids are conduits connecting intracellular mycorrhizal hyphae to the medium (Rasmussen 1990, Oddie *et al.* 1994). One assumes that seeds of epiphytic orchids, like those of terrestrial species, must lodge in some suitable niche where conditions support the germination process and where mycorrhizal infection can occur.

**Seedling Growth.** Germinating seeds were replated three weeks after sowing before rhizoids became matted: once rhizoids have formed they may become tangled thus making it almost impossible to replate without some damage to protocorms and their rhizoids. Rather than developing normally, protocorms trans-

planted to G&B Replate Medium V formed poorly differentiated tissue masses. Seedling measurement was therefore not possible and so work with this medium was abandoned. Seedling growth and development proceeded normally on Phytamax® P6668 medium. Clear size differences were seen in seedlings from the different seed lots. Seedlings from seed lot GbA consistently developed long narrow leaves, whereas the leaves of seedlings from the other seed lots were broader and more variable in length. Pseudobulb shape as characterized by length/width ratio was clustered in three groups: *G. greenwoodiana* (Gg1 and Gg2); *G. batemanii* (GbA) and the hybrid; and *G. batemanii* (GbB), the last being the most elongated. Pseudobulb sizes also formed three groups, whether measured by length, diameter or estimated volume: those of seedlings from the hybrid and from seed lot GbB were the largest, those of the two seed lots from *G. greenwoodiana* were somewhat smaller, while those from seed lot GbA were much smaller. The two capsules produced by self-pollination of *G. batemanii* differed significantly in germination and in seedling behaviour. While seeds of GbA germinated better than those of GbB, seedlings of GbA had the smaller pseudobulbs. Seedlings of GbB more closely resembled those of the intraspecific hybrid in dimensions, whereas seedlings of GbA were outliers.

Why such differences? Post-harvest transit and storage conditions could affect seed germinability but could not influence seed dimensions or the degree of polyembryony, and would be highly unlikely to affect ultimate seedling dimensions. Seed parent resource limitations could possibly have affected seed development in capsule GbA which was produced by the smaller shoot. While we have no explanation for the disparity between GbA and GbB, significant within-plant variation shows a need for caution when interpreting data where sample size is small.

**Marilyn Light** was born in Montréal, Québec, Canada, receiving her post-secondary education in Agriculture and Microbiology at McGill University. She subsequently taught botany in Barbados, West Indies and it was there, in 1970, that she began studying orchids. She moved back to Canada where she joined the staff of the Professional Training Service, University of Ottawa and soon began the first of several long term on-going studies of wild Canadian orchid populations. She has received the Anne Hanes Conservation Award from the Ottawa Field-Naturalists Club for her work. In 2000, she received the highest award of the Ontario Horticultural Association, the Silver Medal Award, for her vision and achievements in horticulture. Marilyn Light is Chairman of the Canadian Orchid Congress Conservation Committee, and of the North American Region and the Education Committees of the Orchid Specialist Group.

**Michael MacConaill** is a retired Professor of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Ottawa, with an interest in statistics and photography.

#### LITERATURE CITED

- Clements, M.A. 1995. Reproductive biology in relation to phylogeny of the Orchidaceae especially the Tribe Diurideae. Ph.D. Dissertation. Australian National University, Canberra, Australia.
- Dressler, R.L. 1993. Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Dioscorides Press, Portland, Oregon. 314 pp.
- Light, M.H.S. 1995. Germinating seeds of *Epipactis helleborine*. Orchid Rev. 103: 267-269.
- Light, M.H.S. and M. MacConaill. 1998. Factors affecting germinable seed yield in *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Willd.) Correll and *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae). Bot. J. Linn. Soc. 126: 3-26.
- Oddie, R.L.A., K.W. Dixon, and J.A. McComb. 1994. Influence of substrate on asymbiotic and symbiotic *in vitro* germination and seedling growth of two Australian terrestrial orchids. Lindleyana 9: 183-189.
- Pollard, G. E. 1974. The genus *Galeandra* in Mexico. Orquídea (Méx) 4: 168-171.
- Rasmussen, H.N. 1990. Cell differentiation and mycorrhizal infection in *Dactylorhiza majalis* (Rchb.f.) Hunt & Summerh. (Orchidaceae) during germination *in vitro*. New Phytol. 116:137-148.
- Rasmussen, H.N. 1995. Terrestrial Orchids: From Seed to Mycotrophic Plant. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rasmussen, H.N., T.F. Andersen and B. Johansen. 1990. Temperature sensitivity of *in vitro* germination and seedling development of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) with and without a mycorrhizal fungus. Pl. Cell Environ. 13: 171-177.
- Rasmussen, H.N. and F.N. Rasmussen. 1991. Climatic and seasonal regulation of seed plant establishment in *Dactylorhiza majalis* inferred from symbiotic experiments *in vitro*. Lindleyana 6: 221-227.
- Stoutamire, W. P. 1964. Seeds and Seedlings of Native Orchids. Michigan Bot. 3: 107 - 119.
- Warford, N. 1994. The Mexican Galeandras (Orchidaceae) Lindleyana 9: 39-49.
- Zettler, L. W. and C. J. Hofer. 1997. Sensitivity of *Spiranthes odorata* seeds to light during *in vitro* symbiotic seed germination. Lindleyana 12:26-29.

## VARIACIÓN EN GERMINACIÓN SIMBIÓTICA ENTRE SEMILLAS DE *TOLUMNIA VARIEGATA* Y ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS

J. TUPAC OTERO<sup>1</sup>, PAUL BAYMAN<sup>2</sup> & JAMES D. ACKERMAN

Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico-Río Piedras  
PO Box 23360, San Juan, PR 00931-3360, U.S.A.

<sup>1</sup> Dirección actual: CSIRO Plant Industry, Center for Plant Biodiversity Research, Australian National Herbarium,  
GPO Box 1600, Canberra ACT 2601, Australia

<sup>2</sup> Author for correspondence: pbayman@upracd.upr.clu.edu

Desde hace cien años se sabe que las semillas de las orquídeas necesitan hongos micorrízicos para germinar. Todavía no se sabe si las orquídeas pueden evolucionar para aprovechar mejor los hongos micorrízicos, y si las micorrizas han contribuido en la diversidad de las orquídeas.

En un estudio previo, aislamos hongos micorrízicos de plantas adultas de varias especies de orquídeas en Puerto Rico (Otero *et al.* 2002). Los hongos fueron identificados por medio de secuenciación de la región ITS de los genes ribosomales nucleares. En el análisis filogenético de los hongos resultaron cuatro clados principales. Los cuatro se anidan dentro de *Ceratobasidium*, un género ya conocido de hongos micorrízicos de orquídeas. Todos los hongos aislados de la orquídea *Ionopsis utricularioides* pertenecen a un solo clado de *Ceratobasidium*. En cambio, *Tolumnia variegata* parece más generalista en cuanto a sus relaciones con hongos micorrízicos: sus cepas pertenecen a los cuatro clados principales. Dichos resultados sugieren que hay variación entre especies de orquídeas en el grado de especificidad para hongos micorrízicos.

Este estudio se basó en dos preguntas: ¿Hay variación entre plantas de una población de orquídeas en su capacidad para la germinación simbiótica? ¿Le da igual a una semilla de orquídea asociarse con difer-

entes hongos, o hay diferencias funcionales entre hongos? Para contestar estas preguntas se estudió la orquídea epífita *T. variegata*, por tener diversidad de hongos micorrízicos. Hongos del género *Ceratobasidium* fueron aislados de raíces de *T. variegata* en la Reserva Laguna Tortuguero, Puerto Rico. Frutos de *T. variegata* fueron recogidos de la misma población. Las semillas fueron germinadas en medios de cultivo con diferentes cepas del hongo. Hubo diferencias significativas entre 10 frutos en germinación y crecimiento de semillas con los mismos hongos.

Nueve hongos difieren significativamente en su capacidad para estimular el crecimiento de semillas. Además, se observan diferencias entre orquídeas, incluso dentro de una población, respecto a la capacidad para aprovechar los hongos micorrízicos.

Estos resultados sugieren que existe el potencial para la evolución de especificidad en la interacción entre las orquídeas y sus hongos micorrízicos, y que dichas relaciones pueden causar especiación de orquídeas por selección natural.

### LITERATURA CITADA

Otero J.T., J.D. Ackerman & P. Bayman. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *Amer. J. Bot.* 89: 1852-1858.

**J. Tupac Otero** es Investigador Posdoctoral en CSIRO Plant Industry, Canberra, Australia. Es ecólogo con Ph.D., que estudia las interacciones entre orquídeas, hongos y abejas.

**Paul Bayman Gupta** es Catedrático Asociado de Biología en la Universidad de Puerto Rico, Río Piedras, con el grado de Ph.D. Es micólogo y estudia interacciones planta-hongo y micotoxinas.

**James D. Ackerman** es Catedrático de Biología en la Universidad de Puerto Rico, Río Piedras, con el grado de Ph.D. Es orquídeólogo y estudia polinización y sistemática.

## MYCORRHIZAL FUNGI OF *VANILLA*: ROOT COLONIZATION PATTERNS AND FUNGAL IDENTIFICATION

ANDREA PORRAS ALFARO<sup>1</sup> & PAUL BAYMAN

Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico-Río Piedras  
PO Box 23360, San Juan, PR 00931-3360, U.S.A.

<sup>1</sup> Author for correspondence: porras\_andrea@hotmail.com

Orchid mycorrhizal fungi are characterized by the presence of complex, globose masses of hyphae, called pelotons, in the cortex of the root (Hadley *et al.* 1989, Esnault *et al.* 1994). Extent and patterns of infections are very variable, and this variation is observed in many epiphytic orchids and some terrestrial tropical orchids (Hadley *et al.* 1989, Allen 1991).

Symbiotic germination of many orchid seeds with mycorrhizal fungi has been described (Hadley *et al.* 1989, Rasmussen *et al.* 1993, Johnson *et al.* 1994, Van Der Kinderen 1995, Zelmer *et al.* 1997, Tan *et al.* 1998, Bruns *et al.* 2000, Zettler *et al.* 2001, Kristiansen *et al.* 2001, McKendrick *et al.* 2002) but much less is known about the distribution, role and specificity of mycorrhizal fungi in tropical adult orchids.

*Vanilla* is an orchid known for its economic value. About 50 species have been described but only 3 are important commercially; *V. planifolia* G. Jackson is one of them (Childers *et al.* 1959). However, there are very few reports of mycorrhizal fungi in *Vanilla*. Mycorrhizal fungi in *Vanilla* were described by Decordenoy (1904) and Tonnier (1954), and in Puerto Rico by Alconero (1968 and references therein).

Here we present data on root mycorrhizal infection in *Vanilla*. The hypotheses were: 1) The level and patterns of mycorrhizal infection will differ between *V. planifolia* and *V. poiteaei* Rchb.f.; 2) The level and patterns of mycorrhizal infection will differ among substrates; 3) Species of mycorrhizal fungi from *Vanilla* roots in soil will be different from those of epiphytic orchids. A new method to quantify the mycorrhizal distribution in *Vanilla* roots is described.

**Sampling of roots.** Roots of *Vanilla* were collected (20-40 cm) from two forests in Puerto Rico

(Cambalache and El Yunque). They were separated according to substrate: soil, bark and rock. Soil roots of *V. planifolia* were also separated by age.

Preliminary analysis of the degree of mycorrhizal infection was done by sectioning 80 roots at 2 cm intervals. Transverse sections were fixed with Triton X-100 + ethanol 25% and stained with toluidine blue.

To distinguish zones of mycorrhizal infection, velamen tissue was removed and mycorrhizal zones were identified as brown zones along the length of the root. Roots were kept in water to avoid desiccation and to facilitate the identification of light mycorrhizal zones.

Methodology validation was done to demonstrate that brown zones had pelotons and white zones did not. Sixteen 10 cm samples of mature roots were analyzed. For each root, five transverse sections of brown zones and five sections without brown zones were stained as described for the preliminary analysis.

*Vanilla planifolia* and *V. poiteaei* roots were compared with the methodology described above. Number of roots with mycorrhizal zones were compared with Fisher's exact test and the number of mycorrhizal zones per root were compared with Mann-Whitney rank sum test.

**Isolation of fungi.** Roots were washed with water, ethanol 70% for 1 min, sodium hypochlorite 1% for 5 min, and distilled water 2x. Four pieces of the root (5 mm) or pelotons collected with a needle were inoculated on each of three media: Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA) and Malt Extract Agar (MEA). Each medium contained 50 ppm of streptomycin, tetracycline and penicillin (Otero *et al.* 2002) to avoid growth of bacteria. Plates were incubated at 23°C. About 600 root pieces were evaluated. Colonies of *Rhizoctonia*-like fungi were transferred to PDA.

**DNA isolation and ITS amplification.** DNA was extracted following the procedure of Lee and Taylor (1990). The polymerase chain reaction (PCR) was performed using primers ITS 1 and ITS 4 (Otero *et al.* 2002). PCR products were sequenced and aligned with sequences published in GenBank.

RESULTS AND DISCUSSION

*Vanilla planifolia* and *V. poiteai* differed in root development. *Vanilla planifolia* had a more abundant root system, larger roots, and more obvious differentiation between young and mature roots.

Preliminary analysis showed that mycorrhizal fungi were present in *Vanilla* roots. Root sections showed that 63 of 86 roots of *Vanilla* had at least one section in which pelotons were present. In *V. poiteai*, 26 of a total of 139 sections had pelotons. In *V. planifolia*, 123 of 507 sections analyzed had pelotons. *Vanilla planifolia* and *V. poiteai* did not differ significantly in frequency of the sections with pelotons. Some areas with mycorrhizal zones were missed between the sectioning intervals, showing limitations of this methodology.

A new method for the analysis of mycorrhizal fungi in *Vanilla* roots was developed. This allowed the identification of mycorrhizal zones without sectioning. Mycorrhizal zones were localized by removing the velamen tissue and looking for brown zones. Methodology validation was done in two *Vanilla* species: *V. poiteai* and *V. planifolia*. In soil roots of *V. poiteai*, 100 % of 80 brown sections had pelotons. In contrast none of 80 white zones had pelotons. Forty sections were observed in *V. planifolia* and the same results were obtained, but in white zones four sections had less than ten cells with pelotons.

These data showed that brown zones could be used as a new method for the study of the distribution patterns of mycorrhizal infection, in contrast with sectioning of the root where areas with pelotons could be missed in the section intervals. Katiyar *et al.* (1986) reported sectioning intervals of 1 cm for 12 species of terrestrial orchids, but in *Vanilla* roots were observed mycorrhizal zones less of 1 cm. Also this method facilitates identification of mycorrhizal zones in roots longer than 50 cm, like *Vanilla* roots. Few studies have quantified mycorrhizal distribution patterns

Table 1. Comparison of number of mycorrhizal zones among roots in *Vanilla* (T:Mann-Whitney Rank Sum Statistic. N: number of roots).

	Average (s.d.)	N	T	P
<b><i>V. planifolia</i> vs <i>V. poiteai</i></b>				
Total roots				
<i>V. poiteai</i>	2.59 (2.51)	22		
<i>V. planifolia</i>	2.45 (2.89)	22	474.5	0.639
<b>Substrates</b>				
<i>V. poiteai</i>				
Soil	2.22 (2.39)	14		
Rock	2.89 (2.80)	9	116.0	0.636
<i>V. poiteai</i>				
Soil and rock	2.48 (2.52)	22		
Bark	0	7	45.5	0.002
<i>V. planifolia</i>				
Soil	2.75 (2.90)	22		
Bark	2.29 (4.27)	7	79.0	0.305
<b>Age</b>				
<i>V. planifolia</i>				
Young	0.91 (1.3)	11		
Mature	4.00 (3.25)	11	162.5	0.020

in orchids (Katiyar *et al.* 1986, Goh *et al.* 1992, Richardson *et al.* 1993, Bayman *et al.* 1997, 2002), and ability to recognize mycorrhizal zones could facilitate large scale studies.

Comparison among roots were done with the mycorrhizal zones method. *Vanilla planifolia* and *V. poiteai* did not differ significantly in the number of roots with mycorrhizal zones (Fisher’s exact test, P=0.72) or in the number of mycorrhizal zones per root (Table 1). High variability was observed in the number of mycorrhizal zones in all samples.

Number of roots with mycorrhizal zones was much lower in bark roots than in soil roots. Differences between bark and soil roots were significant in *V. poiteai* (Fisher’s exact test, P=0.007 and Table 1), but were not significant in *V. planifolia* (P=0.30 and Table 1), probably because distribution of mycorrhizae was highly variable. Roots collected from trees with rough bark showed the highest infection frequency. Mycorrhizal zones were found only in the side of the root that was in direct contact with the bark. Roots growing in soil and on rocks in *V. poiteai*

did not differ significantly in the number of mycorrhizal zones per root (Table 1).

Mature soil roots had a higher density of root hairs than young roots in *V. planifolia*. These roots had significant differences in the number of mycorrhizal zones per root (Table 1). Mycorrhizal zones were not found within 10 cm of the root apex.

Color of the mycorrhizal zones varied independently of origin of the root. Dark brown mycorrhizal zones were infrequent and were sometimes associated with diseased areas, where infection percentage was 100%.

Two transverse sections for each mycorrhizal zone were analyzed in *V. planifolia* and *V. poitaei* roots. Most pelotons were highly degraded. Rapid digestion of mycorrhizal fungi in orchids has been reported by Hadley (1971, 1989).

In most transverse sections of mycorrhizal zones, 25-50% of cells contained pelotons. However infection levels in soil roots differed in *V. poitaei* and *V. planifolia*. *Vanilla poitaei* roots were more densely infected than those of *V. planifolia*: 55% of sections had 100% infection, compared to 11% in *V. planifolia*.

Indian terrestrial orchids studied by Katiyar *et al.* (1986) had infection levels of 10% in transverse sections. *Vanilla* roots analyzed showed variable infection levels (25% to 50%) but higher than the Indian orchids. Goh *et al.* (1992) reported heavier infection in tropical terrestrial orchids than in temperate orchids.

Isolation of *Rhizoctonia*-like fungi was sporadic: only four *Rhizoctonia*-like fungi of soil roots were isolated from about 600 root pieces inoculated in the different media. Morphology was studied in PDA plates following description of Warcup *et al.* (1971) and Andersen (1990), and monilioid cells and upright hyphae were observed. *Rhizoctonia* from *Vanilla* showed less hyphal production and slower growth in culture than mycorrhizal fungi isolated from epiphytic orchids in Puerto Rico (Otero *et al.* 2002).

Sequences showed the isolates of *V. poitaei* soil roots were *Tulasnella* fungi. Warcup (1971, 1981) and Taylor *et al.* (1999, 2002) reported the genus *Tulasnella* associated with terrestrial orchids. Richardson *et al.* (1993) and Otero *et al.* (2002) reported that Costa Rican and Puerto Rican epiphytic

orchids, respectively, were associated with *Ceratobasidium* spp. Terrestrial and epiphytic tropical orchids may have different mycorrhizal fungi.

Our data showed that frequency of mycorrhizal infection in roots of *Vanilla* is highly variable. This variability makes patterns harder to recognize. The new method described here is rapid, efficient, and quantitative, and will facilitate study of spatial, temporal, and taxonomic patterns of orchid mycorrhizae.

#### LITERATURE CITED

- Alconero, R. 1969. Mycorrhizal synthesis and pathology of *Rhizoctonia solani* in *Vanilla* orchid roots. *Phytopathology* 59: 426 – 430.
- Andersen, T. 1990. A study of hyphal morphology in the form genus *Rhizoctonia*. *Mycotaxon* 35: 25-46.
- Allen, M. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge Studies in Ecology. 184 p.
- Bayman, P., L. Lebron, R. Tremblay & J. Lodge. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchideaceae). *New Phytol.* 135: 143-149.
- Bayman, P., E. Gonzalez, J. Fumero and R. Tremblay. 2002. Are fungi necessary? How fungicides affect growth and survival of the orchid *Lepanthes rupestris* in the field. *J. Ecol.* 90: 1002-1008.
- Bruns, T. & D. Read. 2000. *In vitro* germination of non-photosynthetic myco-heterotrophic plants stimulated by fungi isolated from adult plants. *New Phytol.* 148: 335-342.
- Childers, N., H. Cibes & E. Hernández-Medina. 1959. *Vanilla – The Orchid of Commerce*. In C. Withner (ed.), *The Orchids*. The Ronald Press Company, NY. p. 477-508.
- Esnault, A., G. Masuhara, & P. MgGee. 1994. Involvement of exodermal passage cells in mycorrhizal infection of some orchids. *Mycol. Res.* 98(6): 672-676.
- Hadley, G. & B. Willianson. 1971. Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytol.* 70: 445-455.
- Hadley, G. & G. Pegg. 1989. Host-Fungus relationships in orchid mycorrhizal systems. In H. Pritchard (ed.), *Modern Methods in Orchid Conservation. The role of physiology, Ecology and Management*. Cambridge University Press. p. 57 – 71.
- Johnson, S. 1994. Symbiotic seed germination in relation to potential naturalization ability of *Bletilla striata* (Orchideaceae). *Lindleyana* 9(2): 99-101.
- Goh, C., A. Sim and G. Lim. 1992. Mycorrhizal associations in some tropical orchids. *Lindleyana* 7(1): 13-17.
- Katiyar, R., G. Sharma and R. Mishra. 1986. Studies on mycorrhizal associations in terrestrial orchids. *Conservation and culture of orchids*. S. P. ViJ. East-West Press. p. 63-70.



- Kristiansen, K., F. Rasmussen & H. Rasmussen. 2001. Seedlings of *Neuwiedia* (Orchidaceae Subfamily Apostasioideae) have typical orchidaceous mycotrophic protocorms. *J. Bot.* 88(5): 956–959.
- Lee, B. & W. Taylor. 1991. Isolation of DNA from Fungal Mycelia and single spores. PCR Protocols. *In* A. Inns *et al.* (eds.), A guide to methods and applications. Academic Press, New York. p. 282-287.
- McKendrick, S., J. Leake, D. Taylor & D. Read. 2002. Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytol.* 154: 233-247.
- Otero, T., J. Ackerman & P. Bayman. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *Amer. J. Bot.* 89(11): 1852-1858.
- Rasmussen, H. & D. Wigham. 1993. Seed Ecology of Dust Seeds *in situ*: A New study technique and its application in terrestrial orchids. *Amer. J. Bot.* 80(12): 1374-1378.
- Richardson, K., R. Currah & S. Hambleton. 1993. Basidiomycetous endophytes from the roots of neotropical epiphytic Orchidaceae. *Lindleyana* 8(3): 127-137.
- Tan, T., W. Loon, E. Khor & C. Loh. 1998. Infection of *Spathoglottis plicata* (Orchidaceae) seeds by mycorrhizal fungus. *Pl. Cell Rep.* 18: 14-19.
- Taylor, D. & T. Bruns. 1999. Population, habitat and genetic correlates of mycorrhizal specialization in the “cheating” orchids *Corallorhiza maculata* and *C. mertensiana*. *Molec. Eco.* 8: 1719-1732.
- Taylor, D., T. Bruns, J. Leake & D. Read. 2002. Mycorrhizal specificity and function in Myco-heterotrophic plants. *In* M. Van der Heijden and I. Sanders (eds.), *Ecological Studies*, V. 157. Mycorrhizal Ecology. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. p. 375-413.
- Van Der Kinderen, G. 1995. A Method for the study of field germinated seeds of terrestrial orchids. *Lindleyana* 10(2): 68–73.
- Warcup, J. 1971. Specificity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids. *New Phytol.* 70: 40-46.
- Warcup, J. 1981. The mycorrhizal relationships of Australian orchids. *New Phytol.* 87: 371-381.
- Warcup, J. and H. Talbot. 1971. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids II. *New Phytol.* 70: 35-40.
- Zelmer, C. and R. Currah. 1997. Symbiotic Germination of *Spiranthes lacera* (Orchidaceae) with a naturally occurring endophyte. *Lindleyana* 12(3): 142-148.
- Zettler, L., S. Stewart, M. Bowles and K. Jacobs. 2001. Mycorrhizal fungi and cold-assisted symbiotic germination of the Federally Threatened Eastern Prairie Fringed Orchid, *Platanthera leucophaea* (Nuttall) Lindley. *Amer. Midland Natur.* 145: 168-175.

**Andrea Porras Alfaro** is a graduate student in Biology at the University of Puerto Rico, Río Piedras. She is a native of Heredia, Costa Rica. She graduated in Biotechnology Engineering from the Instituto Tecnológico de Costa Rica. She worked in the Mycology Laboratory in the Bioprospecting Program in the Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). She worked with biocontrol of orchid pathogens, fungus collection and maintenance, and bioprospecting of fungi for Chagas disease in the ChagaSpace project.

**Paul Bayman Gupta** is a mycologist at the University of Puerto Rico – Río Piedras.

## MICROPROPAGACIÓN Y CONSERVACIÓN DE ORQUÍDEAS MEXICANAS EN EL JARDÍN BOTÁNICO CLAVIJERO

VÍCTOR MANUEL SALAZAR ROJAS & MARTÍN MATA ROSAS

Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero, Instituto de Ecología, A.C.  
Km 2.5 Carretera antigua a Coatepec 351 Xalapa 91070, Ver. México

El Jardín Botánico Clavijero (JBC) es poseedor de una colección de orquídeas mexicanas; alberga alrededor de 2915 plantas pertenecientes a más de 100 géneros y 329 especies. La misión principal del JBC es mantener una colección científica de plantas vivas, que permita realizar investigación, educación, difusión y propagación, así como contribuir a la conservación y el uso sustentable de especies endémicas o en peligro de extinción, particularmente de la flora regional, con énfasis en las especies del bosque mesófilo de montaña (BMM). Es importante resaltar que el BMM representa solamente el 2% del área de México y es uno de los ecosistemas más ricos, ya que posee el 60% de la especies de orquídeas del país (Hágsater & Soto 2001). En nuestro territorio se distribuyen cerca de 1200 especies (Espejo *et al.* 2002), lo que representa aproximadamente el 6% del total mundial, de las cuales el 40% son endémicas (Soto 1994). México, al igual que otros países neotropicales poseedores de una gran orquideoflora, sufre de una severa alteración de ecosistemas, afectando a muchas poblaciones silvestres (Soto 1996). Este problema se agudiza aún más por la colecta ilegal de que son objeto las orquídeas, ocasionando que muchas de ellas se encuentren en peligro de extinción. Con base en lo anterior, el JBC, a través del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV), está sumando esfuerzos para la propagación y conservación de orquídeas, como parte integral de la estrategia de conservación *ex situ*.

La primera etapa de esta estrategia ha sido el inicio de un banco de germoplasma *in vitro* de orquídeas, mediante la germinación de semillas y la evaluación de diferentes medios de cultivo (MS, MS 50%, KC, KC modificado entre otros). Hasta la fecha se cuenta con alrededor de 25 especies que se han logrado establecer *in vitro*. A parir de ellas se están desarro-

llando protocolos de micropropagación, los cuales servirán como base para iniciar el acercamiento a las comunidades poseedoras del recurso y promover su uso sustentable. A continuación se detalla el esquema seguido para *Mormodes tuxtlenensis* Salazar, *Cuitlauzina pendula* La Llave & Lex. y *Lycaste skinneri* (Batem. ex Lindl.) Lindl.

Se emplearon semillas maduras, obtenidas por polinización cruzada, provenientes de plantas pertenecientes a la colección de orquídeas del JBC. Las semillas se sembraron en medio KC (Knudson 1946) previamente esterilizadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10.2 volúmenes de oxígeno) por 10 min. Cuando las semillas alcanzaron la fase de protocormo, fueron empleadas como fuente de explantes. Se ensayaron dos medios de cultivo: MS (Murashige & Skoog 1962) y KC, adicionado con una combinación factorial de N<sup>6</sup>-benciladenina (BA) (0, 0.5, 1, 2 y 3 mg/l) y ácido  $\alpha$ -naftalen-acético (ANA) (0, 0.1 y 0.5 mg/l). Todos los medios de cultivo se ajustaron a pH 5.0 $\pm$ 0.1 con NaOH y/o HCl 0.1 previo a la adición de 5.5 g/l de agar. Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 120°C por 17 min. Los cultivos se incubaron a 25 $\pm$ 1°C con un fotoperíodo de 16 h luz y una intensidad luminosa de 50  $\mu$ Mol/m/s proporcionada por dos lámparas fluorescentes de 75 W.

Posterior al período de inducción (4 meses), los explantes se subcultivaron en sus respectivos medios de cultivo sin reguladores del crecimiento (medios basales), con el fin de que los brotes formados en el período de inducción se expresaran y desarrollaran. El registro de datos (número de brotes por explante) se realizó a los 4 meses.

**Desarrollo *ex vitro*.** Se seleccionaron plantas que presentaran hojas y raíces bien formadas, con una talla de 2 a 3 cm dependiendo del tratamiento de

procedencia. Se procuró eliminar, con la ayuda de agua corriente, la totalidad del medio de cultivo sin dañar las raíces de las plántulas; posteriormente se transfirieron a condiciones de invernadero. Se ensayaron tres tipos de sustratos: 1) tepezil, 2) mezcla de corteza de pino, carbón de encino y tepezil (3:1:1) y 3) Maquique (raíces de helecho arborescente) triturado. Se procuró mantener una humedad relativa alta durante los primeros 30 días, posteriormente se disminuyó gradualmente hasta que las plantas completaron su proceso de aclimatización. El registro de la sobrevivencia de las plantas se realizó mensualmente.

**Resultados.** Se han logrado establecer las mejores condiciones para la micropropagación y el establecimiento *ex vitro* de las tres especies bajo estudio. De manera general el empleo del medio de cultivo MS, a diferencia del medio KC, favoreció la producción de brotes y raíces por explante, la talla alcanzada por los mismos, así como altos porcentajes de sobrevivencia *ex vitro*.

Para *M. tuxtlensis*, la vía de regeneración fue por organogénesis directa. Se obtuvo un promedio de 1.5 brotes por explante en el medio de cultivo MS adicionado con BA (3 mg/l); en ese mismo tratamiento los brotes alcanzaron la mayor altura promedio (2.9 cm). En el caso de *C. pendula* la principal respuesta fue la formación de cuerpos semejantes a protocormos (plbs), los cuales se desarrollaron en el medio de cultivo MS adicionado únicamente con BA (0.5 mg/l), así como en ausencia de reguladores de crecimiento, con 24.3 y 14.8 plántulas por explante, respectivamente. La talla promedio alcanzada por las plántulas después de 4 meses fue de 2-3 cm. A pesar de que en el medio KC fue donde se logró la mayor formación de plántulas por explante (28.8), la talla alcanzada fue mucho menor (0.9 cm). Cabe destacar que las plántulas originadas en este medio presentaron una ligera clorosis.

La obtención de plántulas de *L. skinneri* se logró a través de organogénesis directa. El mayor promedio de plántulas por explante (16.4) se obtuvo en el medio MS adicionado únicamente con ANA (0.5 mg/l), alcanzando una talla promedio de 3.4 cm.

La sobrevivencia *ex vitro* al parecer estuvo influenciada por el medio de cultivo; es decir, las plántulas obtenidas a partir de medio de cultivo KC presentaron

porcentajes de sobrevivencia muy bajos, 4.7% en *L. skinneri*; 2.7 en *C. pendula* y nulos en el caso de *M. tuxtlensis*.

La sobrevivencia fue mayor a partir de plántulas provenientes de los diferentes tratamientos con medio de cultivo MS. Los mayores porcentajes de sobrevivencia se obtuvieron en las plántulas sembradas en la mezcla de corteza de pino, carbón de encino y tepezil (3:1:1), con una sobrevivencia de 89%, 76% y 60.1% en *M. tuxtlensis*, *C. pendula* y *L. skinneri*, respectivamente, menor en los sustratos con tepezil y maquique.

En México el maquique es ampliamente utilizado como sustrato para el cultivo de orquídeas, lo que ha ocasionado una sobrecolecta de estas especies de helechos arborescentes, llevándolas en muchos casos al borde de extinción. La utilización de sustratos alternativos, que favorezcan el cultivo de orquídeas, disminuirá la utilización del maquique, con lo que indirectamente se estará contribuyendo a su conservación.

Existen poco trabajos enfocados a la propagación y conservación de especies de orquídeas mexicanas, por lo que haber logrado establecer protocolos de cultivo *in vitro* y *ex vitro* de las tres especies estudiadas, con alto potencial ornamental, es una de las principales aportaciones del presente trabajo, además de ofrecer una alternativa económica real de este recurso poco explotado y crear conciencia sobre la importancia de mantener y cuidar los ecosistemas que albergan esta riqueza.

Es conocido que el empleo de la micropropagación de especies, tales como las orquídeas, representa uno de los medios más efectivos para conservar y salvaguardar las poblaciones silvestres, por lo que el desarrollo de paquetes tecnológicos, que puedan ser adoptados por horticultores, comunidades organizadas e interesadas en la explotación racional de sus recursos, contribuye directamente a su conservación, disminuyendo en gran medida la presión de colecta de poblaciones silvestres (Koopowitz 1996).

#### LITERATURA CITADA

Espejo, S.A., C.J. García, F.A.R. López, M.R. Jiménez y S.L. Sánchez. 2002. Orquídeas de Morelos. Herbario AMO y Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. 315 p.

- Hágsater E. & M.A. Soto Arenas. 2001 Orchid conservation in Mexico. *In* W.E. Higgins y Walsh (eds.), *Orchid Conservation Proceedings*, Selby Botanical Gardens Press, Sarasota. p. 18-22.
- Knudson L. 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seed. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 15: 214 – 217.
- Koopowitz H. 1996. Conservation Strategy. *In* E. Hágsater y V. Dumont (eds.), *Orchids—Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 11-47.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473 – 497.
- Soto A., M.A. 1994. Listado actualizado de las orquídeas de México. *Orquídea (Méx)* 11: 233-277.
- Soto A., M.A. 1996. Regional Accounts. *In* E. Hágsater y V. Dumont (eds.), *Orchids – Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 53-58.

**Víctor Manuel Salazar Rojas** es estudiante de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El presente trabajo forma parte del proyecto de tesis de Licenciatura en Biología. [adnbic@go.com](mailto:adnbic@go.com)

**Martín Mata Rosas** es Investigador Asociado del Jardín Botánico Francisco Xavier Clavijero, del Instituto de Ecología, donde es responsable del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. [matam@ecologia.edu.mx](mailto:matam@ecologia.edu.mx)

## MYCORRHIZAL FUNGI OF ENDANGERED ORCHID SPECIES IN KOLLI, A PART OF EASTERN GHAT'S, SOUTH INDIA

S. SENTHILKUMAR

Department of Botany, St. Joseph's College (Autonomous)  
Tiruchirappalli – 620 002, S. India. senkumar68@yahoo.co.in

The fascinating orchid flowers exhibit diversity in shape, structure, size, colour and fragrance which also account for multimillion dollar floriculture trade worldwide. The importance of mycorrhizal infection for the germination of orchid seeds and for successful development is well established. Orchid mycorrhizas are the most ancient and widespread symbiotic partners of both terrestrial and epiphytic form of orchids. We are only beginning to understand the morphological, biochemical and molecular events which form the basis for the symbiotic interaction of mycorrhizas with the roots of their host plants. The availability of sources easily amendable to the former have given a strong impetus to mycorrhizal research (Senthilkumar 2001). Infection is reported to be common in the roots of temperate species, but in tropical conditions the situation is not so clear. With the rapid development of agriculture and commercialization, the ecosystem in Kolli is already disturbed. Many orchid species in India are considered to be endangered; however, no comprehensive account is available on the orchid wealth of Kolli (an area of 503.42 km<sup>2</sup> lying between 11°00'00" to 11°25'00"N and 78°15'00" to 78°30'00"E) that forms the second richest source in India.

Healthy roots from the endangered orchid species viz. *Gastrochilus acaulis*, *Polystachya concreta* and *Nervilia prainiana* were collected from the Kolli hills. The roots of the former were cultured in potato dextrose agar (PDA). The cultured fungus were identified using the methodology provided by Sneh *et al.* (1991) belonging to *Rhizoctonia*. The moot point, however, is whether the fungus enters the host through root hairs or through velamen cells. Peterson and Currah (1990) have shown that hyphae were frequently present at the apex of epidermal hair initials of protocorm and around elongating hairs. Entry

exclusively through the root hairs or through velamen or through both these routes is likely to be dependent on the structure of the involved root, especially the loci of exodermal passage cells. In fact the exodermal passage cells do not have a control of entry of fungi into the cortex (Peterson 1988), which remain the only living cells of the exodermis, and those cell walls do not have lignin and suberin, at least to the extent that other exodermal cells have (Esnault *et al.* 1994).

The degree of infection by the fungus is invariably estimated by calculating the infection density with the formula provided by Hadley and Williamson (1972). Observations of the colonization in *Nervilia* showed the maximum percentage of cells colonized by *R. solani* followed by *Gastrochilus* and *Polystachya*. The degree of infection was reported to vary in the same orchid in different seasons of the year by some of the earlier investigations. Benzing (1982) also reported that all roots which are in contact with the substrate were infected in an epiphytic orchid of Florida. In other words, heterotrophy or otherwise of the orchid species, does not appear to have a deciding effect on the periodicity of infection or on the intensity of infection.

Since infection is a continuous process in an orchid and since all the cells of the cortex are not colonized at the same time, in a mature root there was often a mix up of younger and older colonization across the entire cortex. In other words, in older roots there is no spatial restriction of younger and older colonisations in the cortex. However, Hadley (1975) had also come to a conclusion similar to that by the present worker when he reported that in many orchids a clear spatial separation into 'digestion' and 'host cells' could not be seen and that all infected cells will at one time or another be converted into the so called 'digestion

cells'. The oldest pelotons were the first to act as digestion cells, and this was followed by cells with subsequent colonization. In other words, between colonisation and the process of onset of digestion there was a definite interval. A gradient of fungal digestion with more to less intensity was also observed from outer to inner cortical cells in some South East Himalayan orchids by Katiyar *et al.* (1985).

One of the observations made in this study pertains to the separation of lysing pelotons from the rest of the host cytoplasm. Controlled histochemical studies made at present in all three studied species have categorically shown that this layer, to start with, was discontinuously initiated and subsequently invested all round the lysing pelotons, the callosic material was evident until very late stages in the lysis of the pelotons (Peterson & Currah 1990, Senthilkumar & Krishnamurthy 1999). The method of lysis may also aid in the separation of orchid mycorrhiza from other types of mycorrhiza and to conduct studies under more natural conditions.

#### LITERATURE CITED

- Benzing, D. H. 1982. Mycorrhizal infection of epiphytic orchids in Southern Florida. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 51: 618-622.
- Esnault, A. L., G. Masuhara & P.A. McGee. 1994. Involvement of exodermal passage cells in mycorrhizal infection of some orchids. *Mycol. Res.* 98: 672-676.
- Hadley, G. 1975. *Endomycorrhizas*. Academic Press, London.
- Hadley, G. & B. Williamson. 1972. Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. *New Phytol.* 71: 111-118.
- Katiyar, R. S., G.D. Sharma & R.R. Mishra. 1985. *Biology, conservation and culture of Orchids*. East West Press, New Delhi.
- Peterson, C. A. 1988. Exodermal Casparian bands for ion uptake by roots. *Physiol. Plant.* 72: 204-208.
- Peterson, R. L. & R.S. Currah. 1990. Synthesis of mycorrhizae between protocorms of *Goodyera repens* and *Ceratobasidium cerelae*. *Can. J. Bot.* 68: 1117-1125.
- Senthilkumar, S. 2001. Problems and prospects of orchid mycorrhizal research. *J. Orch. Soc. India* 15: 23-32.
- Senthilkumar, S. & K.V. Krishnamurthy. 1999. Nuclear changes in host cells colonized by orchid mycorrhizae. *Biol. Plant.* 41: 111-119.
- Sneh, B., L. Burpee & A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, USA.

**S. Senthilkumar** is a lecturer in Botany, St Joseph's College (Autonomous), Tiruchirappalli, S. India, well trained in orchid mycorrhizal systems. He has been awarded as a Young Scientist by the Department of Science and Technology, Government of India, for the year 2001, Young Scientist Bursary award from the Royal Microscopical Society, Cambridge University, for the year 2001, and Young Scientist Grant from the International Mycological Society, USA, for the year 2002. He has published nearly 48 research papers in national and international journals and presented 30 papers in Conferences/Symposia. He has also been awarded with two major projects by the Department of Science and Technology, Government of India in 2001 and 2003 on the orchid mycorrhizal system. During 10 years of active research, he has been the author of two books viz. "Biotechnology of Orchids" and "Laboratory Manual of Molecular Biology". Man of the Year 2002 has been received from the International Biographical Institute, USA, for his outstanding contribution to Plant Sciences.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

Sesión / *Session*

**HISTORIA DE LA ORQUIDEOLOGÍA**  
***HISTORY OF ORCHIDOLOGY***

## EL BOTÁNICO Y ARTISTA RAFAEL LUCAS RODRÍGUEZ (1915 - 1981); RESEÑA DE SU VIDA Y SU OBRA

CARLOS O. MORALES

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica  
Jardín Botánico Lankester, apdo. 1031-7050 Cartago, Costa Rica

*Viele Talente und Genies bleiben durch  
Verhältnisse unentwickelt und zurückgehalten;  
wie viele Dummköpfe dagegen werden durch Verhältnisse,  
Erziehung und Künstelei in die Höhe gehoben?*

GOETHE

(In Artemis Verlag. 1968. Mit Goethe durch das Jahr. Zürich)  
[Muchos talentos y genios quedan, por circunstancias,  
sin desarrollo y reprimidos; al contrario, ¿cuántos tontos serán  
por circunstancias, instrucción e hipocresía elevados a las alturas?]

Manuel Chavarría (1981), quien fuera durante unos 20 años editor de la Revista de Biología Tropical, señala que en “*muy raras ocasiones aparece un hombre, una mujer, con atributos tan especiales, y dotes personales tan superiores, que lo hacen destacarse sobre sus semejantes. Uno de estos fue Rafael Lucas Rodríguez Caballero, hombre de una vasta y exquisita cultura, de una mente privilegiada, y cuya vida estuvo dedicada a su familia, a las ciencias, al arte y al servicio de la humanidad*”. Quienes lo conocieron desde la juventud (e.g. Francisco Amighetti 1986 y Fabio Fournier 1981) confiesan la buena impresión que causaba aquel muchacho brillante e inquieto.

El hombre (Fig. 1), llamado por amigos y discípulos “don Rafa”, nació en San Ramón de Alajuela, Costa Rica. Vivió parte de su niñez en San José. Con su madre viajó a los Estados Unidos, donde cursó parte de la enseñanza secundaria. Desde entonces fue un apasionado del movimiento de guías y scouts. En el Liceo de Costa Rica terminó sus estudios secundarios y allí mismo se desempeñó después como maestro y profesor en ciencias naturales. Por su interés y su destreza en las artes, también trabajó en un taller donde diseñaba joyas, tallas y caligrafías, entre otras cosas. En 1942, Rafael Lucas ingresó en la Escuela de Ciencias de la Universidad de Costa Rica (UCR), mientras trabajaba aún medio tiempo en el Liceo de Costa Rica. En 1945, al terminar sus estudios en la

UCR, con una beca fue a la Universidad de California, en Berkeley. Allí estudió sistemática de plantas y trabajó como asistente. En 1947 recibió su título de Licenciado de la UCR; en 1948 en California el título de Master of Arts in Botany y en 1954 el de Ph.D.

A partir de 1953 trabajó en la UCR en cátedras muy diversas de las ciencias biológicas. En 1956 su papel fue decisivo en la creación del nuevo Departamento de Biología, del que fue director durante tres períodos. Además, con su esfuerzo se logró que este departamento contara con su propio edificio a partir de 1966, que desde 1980 se llama Edificio Dr. Rafael Lucas Rodríguez Caballero, de la Escuela de Biología. Un Decreto Ejecutivo de 1979 modificó el nombre de la Reserva de Palo Verde, que desde entonces se denominaría Refugio de Fauna Silvestre Dr. Rafael Lucas Rodríguez Caballero [En realidad, actualmente casi nadie usa este nombre, que ha sido sustituido por Parque Nacional Palo Verde]. Rafael Lucas fue uno de los forjadores de la prestigiosa Revista de Biología Tropical y de la Organización para Estudios Tropicales. Él hizo también gestiones ante el Rector de la UCR y organizaciones foráneas para salvar el jardín botánico de Charles Lankester en Cartago, quien había fallecido en 1969. Así, el esfuerzo del Dr. Rodríguez fue crucial para que el Jardín Botánico Lankester fuera donado a la UCR en 1973





Fig. 1. Rafael Lucas Rodríguez (1915-1981). Cortesía de la familia Rodríguez-Sevilla.



Fig. 2. Inauguración del Jardín Botánico Lankester el 2 de marzo de 1973. De izquierda a derecha: Rafael Lucas Rodríguez (de pie, pronunciando el discurso de inauguración), Gordon W. Dillon (American Orchid Society), Sir George Taylor (Stanley Smith Trust), Eugenio Rodríguez V. (Rector de la UCR), el Secretario del Rector y Rebecca T. Northen (autora de varios libros sobre orquídeas). Foto de Eric Hass, cortesía de la familia Rodríguez-Sevilla.

(Fig. 2). Northen (1973) ofrece información sobre el acto de inauguración del Jardín, que fue dirigido por don Rafael Lucas.

Como señala Lincoln Constance (1986), maestro, colega y amigo de Berkeley, después de que don Rafa estudiara Umbelíferas y otras plantas, sus intereses botánicos se concentraron casi exclusivamente en las orquídeas. La habilidad científica y artística de Rafael Lucas se ve plasmada, entre muchas otras realizaciones, en 1092 láminas de orquídeas que pintó, de las cuales solamente 143 han sido publicadas en el libro “*Géneros de Orquídeas de Costa Rica*” (Rodríguez *et al.* 1986). Estas acuarelas publicadas pertenecen actualmente a la UCR; todas las demás acuarelas e ilustraciones de orquídeas permanecen inéditas, en poder de la familia Rodríguez-Sevilla. Se trata de un patrimonio a la vez científico y artístico de primer orden, una obra que sería altamente apreciada incluso en las academias más antiguas y prestigiosas del mundo, por cuanto es difícil hallar una combinación del genio científico y del talento artístico en una sola persona. Esa combinación la hallamos en don Rafael Lucas Rodríguez, quien realizó sus acuarelas magistralmente en una época en la que no existía en Costa Rica ninguna tradición en ilustración científica. Constance (op. cit.) agrega que las pinturas de don Rafa tienen gran valor artístico y son, a la vez, científicamente rigurosas. Del enorme valor artístico de la obra pictórica de Rodríguez da cuenta también el pintor Francisco Amighetti (1986), quien señala que don Rafa comprendió que la palabra no es suficiente para expresar las características de las orquídeas. Desde los puntos de vista académico, artístico y científico, él fue indiscutiblemente un pionero en Costa Rica. En 1977 le fue otorgado el Premio Nacional de Cultura Magón, como un reconocimiento a su extraordinaria contribución a la ciencia botánica. Miguel Ángel Ramírez (1981), quien fuera junto con don Rafa uno de los fundadores de la Asociación Costarricense de Orquideología (ACO) en 1970, escribió tras la muerte de éste que “*Costa Rica y el mundo científico han perdido un gran baluarte.*”

Algunas personas (realmente mal informadas) han considerado que las acuarelas de orquídeas de Rafael Lucas son sólo obras artísticas sin contenido científico. No obstante, las acuarelas en sí siempre incluyen detalles del estudio de las características de las flores

y de las partes vegetativas de las plantas. Ningún pintor puede hacer este fino trabajo, sin tener una sólida formación científica. Además, en el reverso de cada acuarela se hallan anotaciones con lápiz, dibujos complementarios y citas bibliográficas, lo que claramente indica que don Rafa consultaba meticolosamente descripciones, claves dicotómicas e ilustraciones de la literatura científica, para poder hacer determinaciones y comparaciones. Desde los puntos de vista histórico y científico, esta información es muy importante para los orquideólogos. Allí se hallan datos únicos que reflejan el estado del conocimiento orquideológico en Costa Rica en las décadas pasadas. Asimismo, para los botánicos en general son de gran relevancia los datos sobre sitios de recolecta de las especies, las fechas de floración y la comparación de características entre géneros y especies afines.

También se ha dicho, injustamente, que Rafael Lucas no publicó nada. La falsedad de esa afirmación queda demostrada en la lista incluida adelante. Es cierto que, para su talento, capacidad intelectual y preparación, Rafael Lucas publicó poco. Sin embargo, es necesario recordar que la mayor parte de su trabajo quedó inédita. He agregado más adelante los títulos de algunos de sus manuscritos nunca publicados. Otro aspecto que definitivamente explica por qué don Rafa publicó poco ha sido dilucidado por Luko Hilje (1999), uno de sus discípulos: "... él hizo una elección temprana y muy definida, en la que sacrificó la fama personal de investigador a cambio de la entrega hacia sus semejantes, centrada en la educación para la ciencia y para la conservación de la naturaleza."

En un artículo entomológico (Chaverri 1954) observé excelentes ilustraciones en blanco y negro de un insecto que ataca las plantas de Chile (*Capsicum annuum*, Solanaceae). Don Rafa fue el autor de esas ilustraciones. En 1970, el boletín *Así Es Costa Rica* # 22, del Instituto Costarricense de Turismo, publicó un texto bilingüe (español e inglés) de Rafael Lucas con fotografías en colores de las orquídeas más bellas de Costa Rica. Este modo de dar a conocer las bellezas naturales de Costa Rica desafortunadamente no se ha utilizado con frecuencia para aumentar la cultura y la conciencia ambiental de las poblaciones locales. Cierta selección selecta de acuarelas de don Rafa estuvo en varias exposiciones: EXPO 70 en

Osaka, Japón (1970), Exposición Nacional de Orquídeas en San José (Teatro Nacional de Costa Rica, 1973), Asociación de Estudiantes de Biología y de Bellas Artes, Universidad de Costa Rica (1978), Museo Nacional de Costa Rica (1979), Mary Selby Botanical Gardens de Florida, EE.UU. (1980) [Sobre esta última exposición informa Janet Kuhn (1980), quien incluye en su artículo excelentes fotos en colores de seis de las más bellas acuarelas expuestas] y Biblioteca Carlos Monge de la UCR (agosto y septiembre de 2001). Esta última exposición fue especial porque en ella logramos combinar acuarelas de don Rafa con orquídeas vivas del Jardín Botánico Lankester. Por otro lado, algunas acuarelas de don Rafa aparecieron en estampillas postales (por ejemplo la # 80: *Cochleanthes discolor*, en 1975). En marzo de 1987, un afiche divulgativo de la XVII Exposición Nacional de Orquídeas se ilustró con la bella acuarela de *Trichopilia suavis* publicada en el libro (Rodríguez *et al.* 1986).

Entre los manuscritos inéditos destaca, por su volumen, su alcance y sus avances "*ORQUÍDEAS DEL ISTMO CENTROAMERICANO*", un trabajo colosal que don Rafa inició, solitario, en la década de 1960. La primera versión de un texto con este título es de 1966. De esta obra, que sin duda sería la mayor de su vida, tenemos una introducción general, una descripción completa de la familia Orchidaceae, una compleja clave de géneros de orquídeas del istmo centroamericano y tratamientos de numerosos géneros y especies. La contribución más significativa que queda de este gran proyecto son las 1092 acuarelas en colores ya mencionadas. Solamente un Quijote pudo haber iniciado, solitario en la década de 1960, un proyecto de esta envergadura. Hubo que esperar tres décadas más hasta que otros botánicos visionarios finalmente iniciaron y condujeron un proyecto similar: Flora Mesoamericana, cuyo primer volumen publicado apareció en 1994, pero el tratamiento de Orchidaceae Mesoamericanae todavía no se ha publicado. Ya no es el empeño de un soñador solitario, sino el esfuerzo mancomunado de varios expertos mundiales en géneros y grupos particulares de orquídeas, guiados por el gran Robert L. Dressler.

Don Rafa trabajaba también en un proyecto titulado en latín "*ORCHIDACEAE COSTARICENSES*" (Orquídeas Costarricenses), del que se conocen pocos

textos. Fue en el marco de este proyecto, según relata él mismo, que descubrió la especie nueva *Odontoglossum hortensiae*, que describió en 1979 y dedicó a su esposa doña Hortensia Sevilla. Estudios posteriores han ubicado esta especie en los géneros *Lemboglossum* y *Rhynchostele*. Además, en 1967 inició un manuscrito titulado “LAS ORQUÍDEAS MÁS CONOCIDAS DE COSTA RICA”. Esta obra, que estaba destinada al pueblo, incluiría “*breves descripciones e ilustraciones de las 60 especies más conocidas de orquídeas de Costa Rica y Panamá, con la esperanza de que sirvan para la identificación de las que más frecuentemente nos encontramos y de que contribuyan a despertar el cariño por estas plantas notables y el interés por su conservación y defensa.*” Este mensaje de don Rafa no solamente es clarísimo, sino que también tiene una vigencia extraordinaria, a prueba de tiempo. Sin duda, el mundo ha progresado mucho desde 1967, cuando don Rafa escribió esas líneas. Sin embargo, qué poco hemos hecho por la naturaleza y cuánto se ha destruido para siempre en un lapso de tres décadas. El panorama ambiental futuro no es alentador, tal como lo han señalado notables conservacionistas. La obra referida quedó, como muchas otras, inconclusa; el 6 de marzo de 1968 don Rafa hizo las últimas anotaciones. Era la especie # 34: “*Stanhopea wardii*, torito, torito de setiembre, torito amarillo”. En otros casos, don Rafa no tuvo tiempo ni siquiera para empezar un borrador; así, por ejemplo, en la biblioteca del Jardín Lankester hallamos un cuaderno con muchas descripciones, cuadros comparativos y dibujos de las especies de *Lepanthes* de Costa Rica, que evidencian que él estudió detalladamente este género, sin haber podido publicar nada. Asimismo, él hizo complejos cuadros comparativos de 40 géneros de la subtribu Oncidiinae, de la que queda solamente un manuscrito sobre *Odontoglossum s.l.* Don Rafa dejó notas en un

cuaderno de 1970 que revelan claramente que él entendió, antes que muchos otros orquideólogos, que tanto *Oncidium s.l.* como *Odontoglossum s.l.* no son grupos naturales.

De los manuscritos puedo deducir que don Rafa era un perfeccionista riguroso, que escribía un primer borrador, al que le seguían nuevas versiones cada vez más depuradas, con un manejo muy elegante y muy culto del lenguaje castellano. Algunos de los manuscritos también tienen una versión en lengua inglesa sumamente cultivada. Se conservan pocas versiones finales de textos escritos a máquina en papel fino. Es razonable lo que sostiene Robert Dressler (1986), en el sentido de que la muerte de don Rafael Lucas fue una tragedia. Si él, a sus 65 años de edad, pensionado y libre de agobiantes responsabilidades en la Universidad, todavía hubiera tenido la oportunidad de trabajar varios años más en sus acuarelas y sus escritos, es probable que hubiera podido dar término a su labor quijotesca. Su muerte fue más bien prematura; en este sentido, la naturaleza y las circunstancias (esas de las que escribió Goethe) no fueron justas con él.

Por último y, como consuelo, quisiera mencionar que Rafael Lucas Rodríguez queda immortalizado en los nombres de las especies de plantas que le han sido dedicadas. En Orchidaceae *Epidendrum rafaellucasiae* Hágsater, *Lepanthes rafaellucasiae* Pupulin (a partir de una de las ilustraciones inéditas de don Rafa y un ejemplar testigo en el Herbario USJ), *Masdevallia rafaellucasiae* Luer, *Maxillaria rodrigueziana* J.T. Atwood & Mora-Ret. y *Telipogon rafaellucasiae* Dodson & Escobar (inédito); en Heliconiaceae *Heliconia rodriguezii* F.G. Stiles y en Araliaceae *Schefflera rodrigueziana* Frodin ex M.J. Cannon & Cannon [por error se publicó con ese en lugar de la zeta de Rodríguez].

### Publicaciones científicas y de divulgación científica de Rafael Lucas Rodríguez

(Es importante recordar que existen otros tipos de publicaciones de don Rafael Lucas. Además, en esta misma lista probablemente faltan algunos artículos aparecidos en revistas poco accesibles y ya casi olvidadas)

Rodríguez, R.L. 1950. A graphic representation of Bessey's Taxonomic System. *Madroño* 10: 214-218.

\_\_\_\_\_. 1956. A graphic representation of Hutchinson's Phylogenetic System. *Rev. Biol. Trop.* 4(1): 35-40.

\_\_\_\_\_. 1957. Systematic anatomical studies on *Myrrhidendron* and other woody Umbellales. *Univ. California Publ. Bot.* 29(2): 145-318.

- \_\_\_\_\_. 1957. Anotaciones a la anatomía comparada de las Umbelíferas. *Rev. Biol Trop.* 5(2): 157-171.
- \_\_\_\_\_. 1960. Un híbrido natural de *Hydrocotyle* (Umbelliferae). *Rev. Biol. Trop.* 8(1) 69-92.
- \_\_\_\_\_. 1962. El paso de los halcones. *Voz Universitaria* 1(1): 8.
- \_\_\_\_\_. 1962. Hay que saber mirar ... *O'Bios* 1(2): 11.
- Pipkin, Sarah, Rodríguez, R.L. & León, J. 1966. Plant-host specificity among flower-feeding *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae). *Amer. Natur.* 100: 135-156.
- Rodríguez, R.L. 1967. El fuego sagrado (Leyendo libros viejos). *O'Bios* 2(1): 31-33.
- \_\_\_\_\_. 1967. Lo que dice la madera. *Bol. Asoc. Amigos Museo* 27: 1-4.
- \_\_\_\_\_. 1968. Jardines botánicos. *Bol. Asoc. Amigos Museo, Ci. Natur.* 3: 1-15.
- \_\_\_\_\_. 1969. El evolucionismo contemporáneo. *O'Bios* 2 ("Número extraordinario"): 23-29.
- \_\_\_\_\_. 1971. The relationships of the Umbellales. *In: Heywood, V.H. (ed.). The Biology and Chemistry of the Umbelliferae. Bot. J. Linn. Soc.* 64: 63-92 (Suppl. 1).
- Daniels, G.S. & Rodríguez, R.L. 1972. Sobre la morfología del *Oncidium globuliferum*. *Orquideología* 7(2): 79-84.
- Constance, L. & Rodríguez, R.L. 1975. An unpublished letter from La Gasca to De Candolle. *Rev. Biol. Trop.* 23(2): 137-153.
- Rodríguez, R. L. 1979. Una especie centroamericana inadvertida de *Odontoglossum*, *Odontoglossum hortensiae* Rodríguez. *Orquídea (Méx.)* 7(3): 145-154.
- Rodríguez, R.L., Mora, Dora E., Barahona, María E. & Williams, N.H. 1986. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. 334 p. [Publicación póstuma]
- Rodríguez, R.L. 1995. ¿Qué clases de guarías hay en Costa Rica? *In: Asociación Costarricense de Orquideología (ACO). Orquídeas de Costa Rica y su cultivo. Vol. I: Cattleya y géneros relacionados.* San José, Litografía e Imprenta Lil. p. 31-35. [Publicación póstuma; el escrito original, en la Biblioteca del Jardín Lankester, es de la década de 1970]

#### Títulos de algunos manuscritos científicos inéditos de Rafael Lucas Rodríguez

- Rodríguez, R.L. 1966-1981. Orquídeas del Istmo Centroamericano. [Introducción, clave de géneros, tratamientos taxonómicos de múltiples géneros, ilustraciones: acuarelas y dibujos]
- \_\_\_\_\_. 1967-1968. Las orquídeas más conocidas de Costa Rica. [Descripciones e ilustraciones de las 60 especies más conocidas de Costa Rica y Panamá. Texto inconcluso]
- \_\_\_\_\_. 1972. Observaciones sobre las especies centroamericanas de *Cattleya*. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 12 p.
- \_\_\_\_\_. 1973. Instalación de la primera Junta Asesora del Jardín Charles H. Lankester. 4 p. [Manuscrito del discurso pronunciado el 2 de marzo de 1973, al inaugurarse oficialmente el Jardín Botánico Lankester, en Dulce Nombre, Cartago]
- \_\_\_\_\_. 1977. Clave para los géneros de Aráceas presentes en Costa Rica. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 2 p.
- \_\_\_\_\_. 1977. Clave para los géneros de Gimnospermas (Pinophyta) presentes en Costa Rica. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 1 p.
- \_\_\_\_\_. 1979. El género *Ticoglossum*. [Este manuscrito estaba listo para publicación al morir Rafael Lucas. En México Federico Halbinger conoció el texto inédito; en una primera publicación, *Orquídea (Méx.)* 8(2): 155-282, 1982, él no reconoció a *Ticoglossum* como género nuevo, pero sí lo hizo en *Orquídea (Méx.)* 9(1): 4, 1983, donde publicó válidamente "*Ticoglossum* R. Lucas Rodríguez ex Halbinger"]
- \_\_\_\_\_. Sin año. Géneros de orquídeas naturales y naturalizados en Costa Rica. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 5 p. [Lista de géneros en secuencia evolutiva, con breves descripciones y otros datos interesantes. Bajo el título se lee: "Apunte de R.L. Rodríguez C."]
- \_\_\_\_\_. Sin año. ¿Qué clases de toritos [*Stanhopea* spp.] hay en Costa Rica? Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 3 p. (mecanografiado).

## AGRADECIMIENTOS

A la familia Rodríguez-Sevilla, en especial a doña Hortensia y a Leonora, por su generosa colaboración, que ha sido sumamente importante para poder obtener información e imágenes poco conocidas de la vida y la obra de don Rafael Lucas.

## LITERATURA CITADA

- Amighetti, F. 1986. Rafael Lucas Rodríguez como artista. In: Rodríguez, R.L., Mora, Dora E., Barahona, María E. & Williams, N.H. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. p. 17.
- Chavarría, M. 1981. Rafael Lucas Rodríguez Caballero (24 de marzo de 1915 – 29 de enero de 1981). Rev. Biol. Trop. 29(1): 1-3.
- Chaverri, Edith. 1954. Anotaciones sobre la biología del *Antianthe expansa* Germar, plaga del pimiento en Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 2(2): 269-282.
- Constance, L. 1986. Rafael Lucas Rodríguez C. como científico. In: Rodríguez, R.L., Mora, Dora E., Barahona, María E. & Williams, N.H. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. p. 15.
- Dressler, R.L. 1986. Prólogo. In: Rodríguez, R.L., Mora, Dora E., Barahona, María E. & Williams, N.H. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. p. 10-13.
- Fournier J., F. 1981. Rafael Lucas Rodríguez. La Nación, 9 de febrero de 1981. p. 15 A.
- Hilje, L. 1999. Don Rafael Lucas. Semanario Universidad, 23-29 de junio de 1999. p. 21.
- Kuhn, Janet. 1980. Rafael Lucas Rodríguez, Botanist and Artist of Costa Rica. Amer. Orch. Soc. Bull. 49(7): 731-733.
- Northen, Rebecca T. 1973. Dedicación del Jardín Lankester. Orquídea (Méx.) 3(7): 210-219.
- Ramírez, M.A. 1981. *In memoriam*. Orquideología 14(3): 1.
- Rodríguez, R.L., Mora, Dora E., Barahona, María E. & Williams, N.H. 1986. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. 334 p., 143 ilustr.

**Carlos O. Morales** es Licenciado en Biología de la Universidad de Costa Rica y Doctor en Ciencias Naturales de la Universidad Ludwig-Maximilian de Múnich, Alemania. Ha realizado estudios de ecología vegetal y de taxonomía y sistemática de espermatófitos, en especial de monocotiledóneas.

## LA AVENTURA EUROPEA DEL *EPIDENDRUM RADICANS*

CARLOS OSSENBACH S.

Fundación Charles H. Lankester  
Sabanilla de Montes de Oca, Costa Rica. caossenb@racsa.co.cr

El 2 de noviembre de 1803, a bordo de la corbeta “Zeballos”, arribaron al puerto de Cádiz 27 cajones que contenían gran parte del material colectado durante 16 años por la Real Expedición Botánica a Nueva España. Desde 1786, y bajo la dirección de Martín de Sessé y José M. Mociño, esta expedición había recorrido y explorado las tierras del Virreinato de Nueva España, incluyendo las de la Capitanía General de Guatemala y las Islas de Barlovento.

Encerrado en uno de estos cajones, o en los que la expedición había enviado previamente desde México, se encontraban al menos cuatro ejemplares herborizados de una especie de orquídea que aún no había sido bautizada. Faltaban todavía 28 años para que, después de muchas peripecias, uno de dichos ejemplares llegara a manos de John Lindley, quien la describiría por primera vez para la ciencia en su *Genera and Species of Orchidaceous Plants* en 1831, con el nombre de *Epidendrum radicans* Pav. ex Lindl.

El primer ejemplar de *E. radicans* que conocemos de Costa Rica lo colectó el alemán Hermann Wendland en Cartago en 1856, y es Hemsley en su *Biologia Centrali-Americana* (1886-1888) el primero en mencionarla de nuestro país. *Epidendrum radicans* es sin duda la más común de las orquídeas de Costa Rica, donde se adapta a casi cualquier terreno y clima. Así, la encontramos en la península de Osa y en la cordillera de Talamanca, en Guanacaste y en Sarapiquí. Su sitio preferido son, sin embargo, las zonas intermedias entre 1000 y 1400 m de elevación.

La siguiente es la descripción original de Lindley:

### EPIDENDREAE

#### b. *Labello bilobo*

35. EPIDENDRUM radicans. Pavon. Mss.

E. foliis distichis cordatis ovatis obtusis, caule simplici apice aphylo vaginato, sepalis petalisque lanceolatis acutis patentibus, labello bipartito laciniis subcuneatis deflexis fimbriatis basi bicalloso.

Hab. in Mexico; Pavon. (exam. s. sp. in Herb. Lambert.)

Facies E. elongati. Caulis radices longissimas albas simplices promens.

La nota “Hab. in Mexico; Pavon. (exam. s. sp. in Herb. Lambert.)” es la que despertó nuestra curiosidad, ya que encierra misterios y aparentes contradicciones.

José Pavón había dirigido, junto a Hipólito Ruiz, la Real Expedición Botánica a Perú y Chile (1777-1788), pero nunca estuvo en México. ¿Por qué, entonces, menciona Lindley a Pavón junto a una orquídea aparentemente colectada en México? Y, ¿quiénes eran Lambert y su herbario?

En 1570, Francisco Hernández había sido enviado por el rey Felipe II para estudiar las plantas medicinales y todo lo referente a la historia natural de México. Hernández escribió una “Historia Natural de Nueva España”, que desapareció en 1761 en el incendio de El Escorial. Sin embargo, pudieron recuperarse cinco volúmenes manuscritos en la biblioteca del Colegio Imperial de Madrid, cuya publicación fue aprobada en 1874.

Entretanto, desde Cuba, donde ejercía su profesión como cirujano en la escuadra del Marqués de Socorro, el médico español Martín de Sessé propuso, en enero de 1875, a Casimiro Gómez Ortega, director del Real Jardín Botánico de Madrid, la idea de establecer un jardín y una cátedra de botánica en la capital mexicana. La idea de completar la publicación de la obra de Hernández con documentos y dibujos (duplicados) que pudieran encontrarse en México y la oportuna propuesta de Sessé dieron motivo a la promulgación por el rey Carlos III de la Real Orden de 27 de octubre de 1786. En ella se ordena establecer en Nueva España el Jardín Botánico, la Cátedra de Botánica (primera en América) y la formación de una expedición que debía “*formar los dibujos, recoger las producciones naturales e ilustrar y completar los escritos de Francisco Hernández*”.

En mayo de 1788 se inauguraron el Jardín y la Cátedra de Botánica en México. Poco tiempo más tarde, en el segundo curso de botánica, en 1789, destacó un brillante alumno que posteriormente ten-

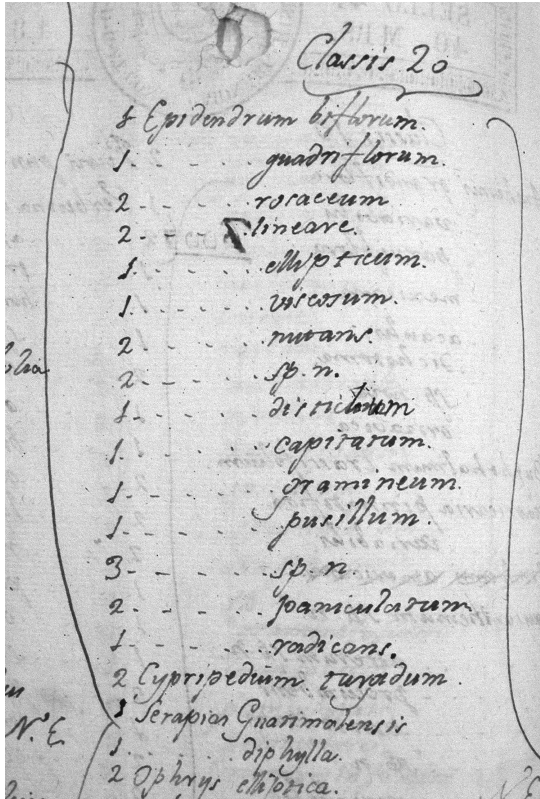


Fig. 1. Lista de especímenes del género *Epidendrum* vendidos por Pavón a Lambert. Entre ellos aparece por primera vez el epíteto *radicans*. Por cortesía del British Museum of Natural History.

dría un papel destacado en la expedición junto a Sessé: el criollo José Mariano Mociño. Desde 1787 Sessé había iniciado las actividades de campo, que se prolongaron inicialmente hasta 1794. En diversos viajes exploratorios, a los que se unió Mociño a partir de 1790, los expedicionarios exploraron toda la zona central de México, incluyendo las costas del Pacífico y del Golfo de México. Otros itinerarios llevaron a miembros de la expedición hasta el norte de México, California y la costa del Pacífico norte canadiense. El plazo fijado para la finalización de la expedición expiraba en octubre de 1794. En vista de que no habían podido explorarse aún los territorios de la franja sur del Virreinato - la Raya de Guatemala - Sessé solicitó una ampliación que fue aprobada por Real Orden de Carlos IV el 15 de setiembre de 1794. En ella se disponía que la expedición recorriese, en el término de dos años, el Reino de Guatemala y simultáneamente las Islas de Barlovento. Así, la expe-

dición se dividió en dos y en mayo de 1795 un primer grupo, al mando de Sessé, embarcó en Veracruz para explorar las islas de Cuba, Santo Domingo y Puerto Rico. El segundo grupo, encabezado por Mociño, partió en junio del mismo año desde la ciudad de México en dirección sur. Después de detenerse largo tiempo en la capital guatemalteca, el grupo de Mociño llegó en 1797 a Cartago, Costa Rica, sitio que fue el más meridional alcanzado por la expedición. El plazo autorizado en la prórroga expiró y no fue sino hasta mayo de 1798 que Sessé regresó a la capital mexicana. Mociño hizo lo mismo en febrero de 1799. Nuevos obstáculos, fundamentalmente la guerra con Inglaterra, impidieron el regreso de los expedicionarios a España, que finalmente se produjo en 1803.

El material colectado por la expedición llegó a España en momentos de gran convulsión política. Gran parte del material (especialmente el herbario) quedó en manos de la "Oficina Botánica" que controlaba José Pavón, especialmente después de la muerte de Sessé en 1808 y el exilio forzoso de Mociño a Francia en 1813. Y fue precisamente Pavón quien, a partir de 1814, se dedicó a manejar las colecciones, vendiendo ejemplares del herbario de la Expedición Botánica de Nueva España y los duplicados de la Flora de Perú y Chile, dilapidando así los fondos que estaban bajo su custodia.

Entretanto, en Inglaterra, el acaudalado botánico Aylmer Bourke Lambert (1761-1842) era nombrado en 1788 como uno de los primeros miembros de la Linnean Society. Apasionado coleccionista, Lambert logró reunir una enorme biblioteca y un herbario que fue uno de los más importantes y diversos de su tiempo. No sabemos cómo se enteró Lambert de las andanzas de Pavón, pero sí sabemos que desde 1814 hasta 1825 Pavón le vendió más de 15000 especímenes botánicos y zoológicos que se encontraban en la "Oficina Botánica" de Madrid.

Es durante esta relación comercial cuando, entre los ejemplares vendidos por Pavón a Lambert, aparece de nuevo el *Epidendrum radicans*. Pavón prepara, en 1822, una extensa lista de los ejemplares botánicos recién enviados a Lambert. Dicha lista se encuentra hoy día en los archivos del Natural History Museum de Londres. En una de las páginas de la lista, manuscrita por Pavón, se encuentran los ejemplares del género *Epidendrum* vendidos a Lambert (Fig. 1) y entre ellos aparece por primera vez el nombre de

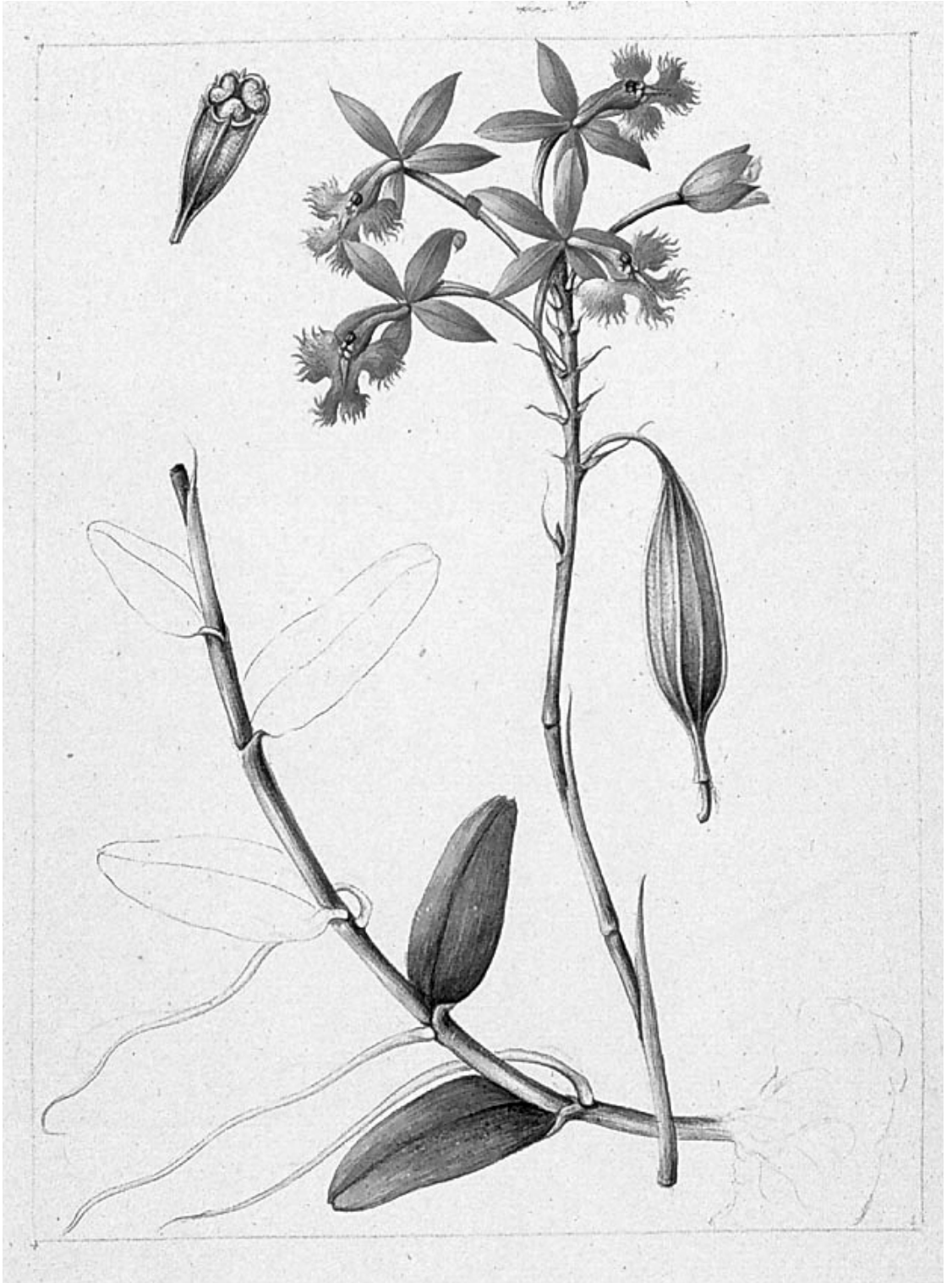


Fig. 2. La ilustración original de *Epidendrum radicans* en la "Colección Torner" de la expedición de Sessé y Mociño.



*Epidendrum radicans*, un nombre que no tendría validez hasta que Lindley, en 1831, publicara su descripción con el epíteto dado por Pavón.

Generoso con sus amigos y colegas, Lambert siempre permitió que los científicos de su época utilizaran libremente su biblioteca y su herbario. Fue así como Lindley pudo estudiar e identificar muchos de los ejemplares que provenían de Madrid. A toda esta cadena de casualidades debemos la primera publicación y descripción del *Epidendrum radicans* (Fig. 2).

Esta historia no tiene un final feliz. Sessé en 1808 y Mociño en 1820 mueren sin ver realizados sus sueños de publicar las floras de México y Guatemala. Las 2000 ilustraciones de la Expedición Botánica a Nueva España, que Mociño había llevado consigo durante su exilio francés, desaparecen tras su muerte. En 1981 son descubiertas por el Hunt Institute for Botanical Documentation de Pittsburg, Pennsylvania, en la biblioteca particular de la familia Torner de Barcelona. El Hunt Institute las adquiere por la suma de 2000 pesetas por ilustración. Al igual que 160 años antes los ejemplares del herbario, las ilustraciones de la expedición de Sessé y Mociño marchan hacia el extranjero bajo la mirada complaciente del gobierno español.

Lambert muere en 1842 y su deseo de que su herbario se conservara intacto tras su muerte tampoco es cumplido. Sus colecciones se subastan en lotes separados y se dispersan por todo el mundo. La mayor parte de los materiales que Pavón había vendido a Lambert pasan al Museo de Historia Natural de Londres, donde todavía permanecen.

Pavón, por su parte, es finalmente obligado a rendir cuentas de sus actos en 1831 y tres años más tarde la Junta de Protección del Museo de Ciencias de Madrid le suspende de todo su sueldo. Triste guardián de los tesoros científicos llevados a España desde América por las expediciones botánicas de las últimas tres décadas del siglo XVIII, muere en desgracia en 1844.

AGRADECIMIENTOS. A Gustavo Romero (Universidad de Harvard), Henry Oakeley (Royal Horticultural Society), Roy Vickery (Natural History Museum de Londres) y Mar González (Real Jardín Botánico de Madrid), por toda su ayuda y por brindar información y documentos de gran importancia. A Robert L. Dressler y Franco Pupulin, siempre generosos a la hora de compartir sus conocimientos. A Mary Noble McQuerry, esperando que nunca pierda su capacidad de encontrar libros y documentos, aunque no existan. A mi esposa Pilar, por todo su apoyo y toda su paciencia.

**Carlos Ossensbach** es arquitecto de profesión y orquideólogo aficionado. Desde 1996 mantiene el Orquideario 25 de Mayo en Sabanilla de Montes de Oca y es cofundador de la Fundación Charles H. Lankester. Sus dos intereses principales son la historia de la orquideología y la bibliografía sobre orquídeas, que se refleja en su "Guía Bibliográfica de las Orquídeas de Costa Rica" (en preparación).

## TRES EN UNO, ¿O SON MÁS? HISTORIA DE *EPIDENDRUM DICHOTOMUM* LINDL., *NON* PRESL

GUSTAVO A. ROMERO-GONZÁLEZ<sup>1</sup> & GERMÁN CARNEVALI FERNÁNDEZ-CONCHA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Orchid Herbarium of Oakes Ames, Harvard University Herbaria, 22 Divinity Avenue  
Cambridge, Massachusetts 02138, U.S.A. romero@oeb.harvard.edu

<sup>2</sup> Herbarium CICY. Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C. (CICY)  
Ap. Postal 87, Mérida 97310, Yucatán, México. carneval@cicy.mx

El siguiente ensayo dio inicio cuando uno de los autores (G.C.) localizó un ejemplar no identificado de *Epidendrum* de Guyana en el herbario del Smithsonian (US). El ejemplar fue trasladado en préstamo a AMES y luego de un breve análisis llegamos a la conclusión de que era muy parecido a una especie que John Lindley había descrito en 1838 como *Epidendrum dichotomum*. Luego de una revisión de literatura y de material de herbario disponible de esta especie, se hizo evidente que estábamos tratando no con una sola entidad, sino con un "basurero", es decir, una especie múltiple (en inglés, "a catch-all name"), aquella que por error o conveniencia incluye varias otras especies relacionadas, algunas de las cuales con frecuencia nunca han sido descritas formalmente. En este caso en particular, el nombre que ultimadamente se le daría al *Epidendrum dichotomum* de Lindley, nomenclatorial y taxonómicamente incluiría al menos tres especies obviamente diferentes.

Lindley basó su *Epidendrum dichotomum* en dos ejemplares: uno de Brasil (*G. Gardner 631*) y otro de Guyana (cultivado en el establecimiento de Conrad Loddiges & Hijos). Sin embargo, ya este nombre había sido utilizado por Presl en 1827 para una especie de Perú. Al enterarse de la publicación de Presl, Lindley propone en 1853 el nombre *Epidendrum corymbosum* para su especie. En esta descripción, que no es igual a la publicada en 1838 (Fig. 1A-B), Lindley citó dos ejemplares adicionales: uno de Brasil, sin procedencia precisa (*Miers 3484*) y otro de los Andes de Venezuela (*Linden 647*). Desafortunadamente para Lindley, el nombre nuevo que propuso ya también había sido utilizado por Ruiz & Pavón en 1798 para otra especie de Perú. Un poco más de cien años más tarde, Pabst (en Angely 1956)

propone *Epidendrum ecostatum* como un nombre nuevo para *E. corymbosum* Lindl., *non* Ruiz & Pavón, pero sin seleccionar un tipo. Esta propuesta aparentemente resolvía los problemas nomenclatoriales de *Epidendrum dichotomum* Lindl., *non* Presl, y de *Epidendrum corymbosum* Lindl., *non* Ruiz & Pavón. Sin embargo, un examen detallado de los cuatro ejemplares que Lindley citó en sus descripciones de 1838 y 1853 indica que éstos representan las siguientes especies (las especies inéditas serán tratadas en un manuscrito aparte; Romero & Carnevali, en preparación):

*Epidendrum praetervisum* Rchb.f., *Linnaea* 41: 82. 1876. TIPO: VENEZUELA. Mérida: "bosques en los alrededores de Mérida", 1842, *J. J. Linden 647* (Holotipo: Reichenbach Herbarium Nr. 4359; Isotipo: K-Lindl.). Fig. 1C.

ILUSTRACIÓN: G. C. K. Dunsterville 703 en Romero y Carnevali (2000: 278).

Esta es la especie o, más precisamente, el tipo más fácil de separar de *Epidendrum dichotomum* Lindl., *non* Presl, y de *E. corymbosum* Lindl., *non* Ruiz & Pavón. Las plantas generalmente se encuentran a mayores alturas y son bastante diferentes, floralmente, a lo que Lindley originalmente intentó incluir bajo esos dos nombres. Se conoce de Venezuela y probablemente se halla en Colombia también.

*Epidendrum ecostatum* Pabst [en J. Angely], *Orchidaceae Paranaensis*. *Flora do Parana* 6: 11. 1956.

Basiónimo: *Epidendrum corymbosum* Lindl., *non* Ruiz & Pavón, *Fol. Orchid. Epidendrum* 61. 1853. TIPO: BRASIL. Sin localidad precisa, *J. Miers 3484*

(Lectotipo, propuesto, *de facto*, por Ackerman, 1995, K-Lindl.; fragmento, AMES).

Sinónimo: *Epidendrum corymbosum* Lindl., *non* Ruiz & Pavón var. *latifolium* Cogn., Fl. Bras. (Martius) 3, 5: 144. 1888. TIPO: BRASIL. Sin localidad precisa ["In Brasilia austro-orientale" *fide* Cogniaux], E. F. M. Glaziou 11623, *pro parte* (Holotipo: BR; fotocopia, AMES).

ILUSTRACIÓN: Cogniaux, Fl. Bras. (Martius) 3, 5: t. 44, Fig. 2. 1888; Pabst & Dungs (1975: 304, dibujo 726).

La descripción publicada por Lindley en 1853 sin duda alguna se refiere a la planta colectada por Miers, que está montada en una cartulina aparte en su herbario depositado en Kew; en ésta Lindley dibujó una flor de esta muestra. El dibujo de Pabst & Dungs (1975: 304, dibujo 726) también muestra bastante bien la morfología floral de *Epidendrum ecostatum*. En esta especie el labelo es ligera a conspicuamente trilobulado y el ápice del lóbulo central es truncado-redondeado y tiene un pequeño apículo en el ápice de la superficie abaxial.

Foldats (1975: 243-244) citó *Epidendrum corymbosum* Lindl. de Venezuela siguiendo a Schlechter (1919: 68), quien registró esta especie de la Cordillera de la Costa Central ("Federal-District; Miranda"), seguramente refiriéndose a otra especie de *Epidendrum*.

***Epidendrum jamaicense*** Lindl., Fol. Orch. *Epidendrum* 82. 1853. TIPO: JAMAICA. "On trees in the woods of Dunrobin Castle", W. Purdie *s.n.* (Holotipo: K-Hook.; dibujo, K-Lindl.).

Sinónimo: *Epidendrum corymbosum* auct., *non* Lindl., *non* Ruiz & Pavón; Stehlé, Fl. Descript. Ant. Franc. 1: 148-149. 1939; Cogniaux, Symb. Antillan. 6: 525. 1810.

ILUSTRACIÓN: Stehlé, Fl. Descript. Ant. Franc. 1: 150-151. 1939.

Esta especie de las Antillas, que antes era identificada como "*Epidendrum corymbosum* Lindl." (Cogniaux 1810, Stehlé 1839), ahora es referida a *Epidendrum jamaicense* (Garay & Sweet 1974: 141, Ackerman 1995: 68-69).

***Epidendrum*** sp. 1. Espécimen de referencia: GUYANA ["Demerara"]. Sin localidad precisa, [R. H. Schomburgk] ex Hort. Loddiges (K-Lindl., montado en la misma cartulina en la que se encuentran *Gardner 631* y *Linden 647*, en el herbario de Lindley).

Sinónimo: *Epidendrum ecostatum* auct., *non* Pabst, E. A. Christenson, Mem. New York Bot. Gard. 76, 1: 305. 1997.

Esta es la especie a la que pertenece el ejemplar de US, en la que las plantas son mucho más pequeñas, con hojas angostas, y el labelo conspicuamente agudo y sin apículo en el ápice. Irónicamente, el dibujo de Lindley que se encuentra en la misma cartulina donde está el espécimen de referencia corresponde a esta especie, que no concuerda con ninguna de las dos descripciones publicadas por Lindley.

***Epidendrum*** sp. 2. Espécimen de referencia: BRASIL. Río de Janeiro: Sierra de los Órganos, G. Gardner 631 (K-Lindl. [ver especie anterior], BM).

La descripción de *Epidendrum dichotomum* Lindl., *non* Presl, concuerda bastante con este espécimen, especialmente, como lo ha notado el Dr. Garay (comun. pers., 2003), por la presencia de un nectario que se prolonga hasta el ovario pedicelado ("*ovario cuniculato*"), que no se discierne en la única flor del lectotipo de *Epidendrum ecostatum* que ha examinado uno de nosotros (G.A.R.). En el espécimen de referencia de *Epidendrum* sp. 2 el labelo, como en *E. ecostatum*, es ligeramente trilobulado y el ápice del lóbulo central es truncado-redondeado y tiene un pequeño apículo en el ápice de la superficie abaxial. Si se detecta un nectario en el ovario pedicelado en otras flores del tipo de *Epidendrum ecostatum*, tal vez no sea necesario describir esta especie.

El caso que hemos relatado es un patrón que se repite en muchos grupos de orquídeas. Los autores ya han trabajado en varias de estas especies múltiples (*Epidendrum nocturnum* Jacq.: Carnevali & Romero 1996; *Cyrtopodium punctatum* (L.) Lindl.: Romero & Carnevali 1999; *Galeandra beyrichii* Rchb.f.: Romero & Brown 2000). La existencia de estos casos confirma que están equivocados aquéllos que creen que taxonómicamente todo está resuelto en las

**A** 146. EPIDENDRUM dichotomum.

*E. dichotomum*; fruticosum, caule fruticoso decumbente filiformi dichotomo, foliis angustè lanceolatis acutissimis corymbo terminali longioribus, sepalis lineari-lanceolatis, petalis conformibus angustioribus, labello cuniculato cordato obtusiusculo basi bicalloso.

A green-flowered species obtained from Demerara by Messrs. Loddiges, and found in the Organ Mountains of Brazil by Mr. Gardner, (No. 631.) It has no beauty, but is remarkable for its hard, wiry, forking stem.

**B** \* 190. *E. corymbosum*.

*E.* caule ramosissimo, foliis lanceolatis acuminatis racemo corymboso longioribus, pedunculo basi 1—2-bracteato, bracteolis setaceis pedicellis brevioribus, floribus membranaceis, sepalo supremo angusto lateralibus latioribus semiovalibus acutis petalis linearibus basi tenuissimis uninerviis, labello subrotundo cordato obtuso, callis 2 lineaque brevi elevatâ interjectâ.

*E. dichotomum*. Lindley, in *Bot. Reg.* 1838, misc. no. 146; not of Presl.

*Wild* in BRAZIL—Miers, no. 3484; Organ Mountains, on an old tree—Gardner, 631; DEMERARA—Loddiges; VENEZUELA, on trees in the forests of Merida at 5500 feet—Linden, 647, (*v. s. sp. et v. c.*)

A small branching species with the appearance of *E. anisatum*; but the leaves are thinner, the bracts setaceous, and the lip quite membranous without lobes. Flowers green.

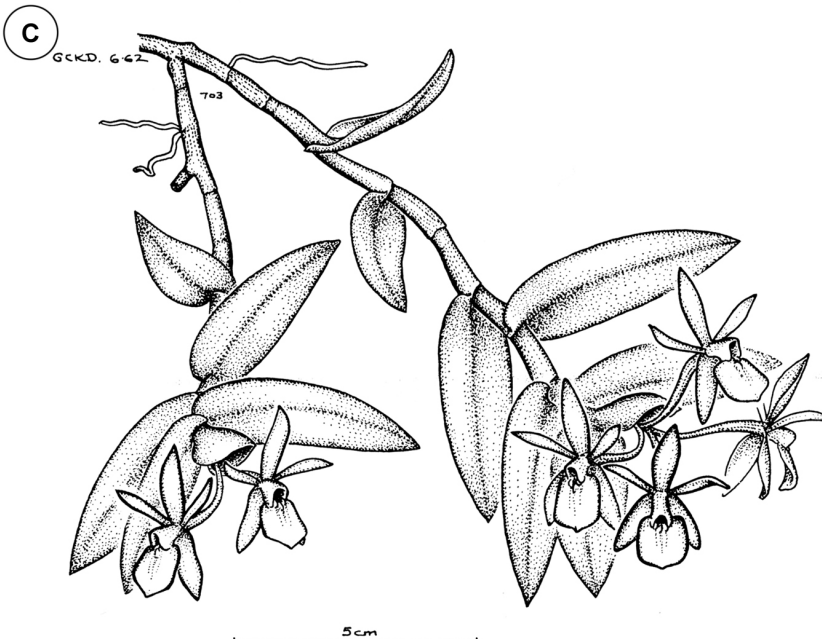


Figura 1. *Epidendrum dichotomum* Lindl., non Presl. A. Descripción del primer nombre de Lindley en Edwards's Bot. Reg. 24: 79 (1838). B. Descripción del segundo nombre de Lindley en Folia Orchid. *Epidendrum* 61 (1853). C. *Epidendrum praetervisum* Lindl. (dibujo de G. C. K. Dunsterville, basado en su colección número 703, AMES).

orquídeas. Es más, nos atreveríamos a especular que, luego de llegar a esa ilusoria meta (*i.e.*, donde todo está resuelto), Orchidaceae sin duda sería la familia más diversa de las plantas vasculares.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los herbarios mencionados por su ayuda desinteresada, a K.N. Gandhi por su experticia en nomenclatura, y a L.A. Garay por proporcionar material invaluable para entender este grupo de especies.

#### LITERATURA CITADA

- Ackerman, J. D. 1995. An Orchid Flora of Puerto Rico and the Virgin Islands. *Mem. New York Bot. Gard.* 73: 1-203.
- Carnevali, G. & G.A. Romero. 1996. Orchidaceae *Dunstervilleorum* VII: the *Epidendrum nocturnum* alliance in the Venezuelan Guayana. *Lindleyana* 11: 239-249.
- Cogniaux, A. 1910. *Epidendrum corymbosum*. *Symb. Antillan.* 6: 525-526.
- Foldats, E. 1970. Orchidaceae. In T. Lasser (ed.), *Flora de Venezuela* 25, 3: 1-522. Instituto Botánico, Caracas.
- Garay, L.A. & H.R. Sweet. 1974. Orchidaceae. Volume 1. In R.A. Howard (ed.), *Flora of the Lesser Antilles*. Arnold Arboretum, Harvard University, Jamaica Plains, Massachusetts.
- Lindley, J. 1838. *Epidendrum dichotomum*. *Edwards's Bot. Reg.* 24: 79.
- Lindley, J. 1853. *Epidendrum corymbosum*. *Folia Orch. Epidendrum* 61.
- Pabst, G.F.J. 1956. *Epidendrum ecostatum*. p. 11 in J. Angely (ed.), *Orchidaceae Paranaensis*. *Flora do Parana* 6: 11.
- Pabst, G.F.J. & F. Dungs. 1975. *Orchidaceae Brasilienses I*. Brücke-Verlag Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- Schlechter, R. 1919. Die Orchideenfloren der Südamerikanischen Kordillerenstaaten I. Venezuela. *Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih.* 6: 1-100.
- Stehlé, H. 1939. *Fl. Descript. Ant. Franc.* 1. Les Orchidales. Imprimerie Officielle de la Martinique, Fort-de-France.
- Romero-González, G.A. & G. Carnevali Fernández-Concha. 1999. Notes on the species of *Cyrtopodium* (Cyrtopodiinae, Orchidaceae) from Florida, the Greater Antilles, Mexico, Central and Northern South America. *Harvard Pap. Bot.* 4: 327-341.
- Romero-González, G.A. & G. Carnevali Fernández-Concha. 2000. Orquídeas de Venezuela [una Guía de Campo Ilustrada]. Armitano Editores, Caracas.
- Romero-González, G.A. & P. M. Brown. 2000. *Galeandra bicarinata*, a new species from Florida and the Greater Antilles. *North Amer. Native Orch. J.* 6: 77-87.

**Gustavo A. Romero-González** es Curador del Orchid Herbarium de Oakes Ames y Editor de *Harvard Papers in Botany*. Actualmente está realizando trabajos monográficos y florísticos sobre las Orchidaceae de la región septentrional de Sudamérica, así como investigación sobre las bases biológicas para el manejo a largo plazo de los productos forestales no maderables en el Neotrópico (incluyendo las orquídeas, por supuesto!).

**Germán Carnevali** obtuvo su Licenciatura en Biología en la Universidad Central de Venezuela; Maestría y Doctorado en la Universidad de Missouri-St. Louis, asociado con el Missouri Botanical Garden. Sus intereses son sistemática y filogenia de varios grupos de Orchidaceae Neotropicales, principalmente los géneros *Myrmecophila*, *Schomburgkia*, *Encyclia*, *Lophiaris*, *Cohniella* y la subtribu Maxillariinae en general. Simultáneamente, tiene intereses en la florística de las Orchidaceae de la Península de Yucatán, América Central, las Guianas, la Amazonía y Venezuela.

## NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN DE LA FAMILIA ORCHIDACEAE EN COSTA RICA

RAFAEL ÁNGEL VALVERDE ARIAS<sup>1</sup> & ADOLFO QUESADA CHANTO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundación Orquídeas de Costa Rica. fundorqui-cr@terra.com

<sup>2</sup>Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica y Fundación Orquídeas de Costa Rica. aqchanto@racsa.co.cr

Los aborígenes, primeros habitantes de nuestras tierras, tuvieron contacto directo con las bellas orquídeas que engalanaban las extensas selvas. Muestra de esto es la representación de algunas especies del género *Oncidium* en las denominadas “águilas de oro”. Probablemente hicieron uso de algunas de ellas en el campo de la medicina.

Con el descubrimiento del continente americano y su posterior colonización, los europeos que vinieron a poblar Costa Rica se dieron cuenta de la vasta riqueza de orquídeas que aparecían creciendo sobre la tierra, las rocas y los árboles. Seguramente muchas especies sirvieron para embellecer sus rústicas viviendas.

Los primeros botánicos encontraron una forma perfecta de ocupar su tiempo. Más allá de observar sus diferentes formas vegetativas, aromas y colores, era de suma importancia darles un nombre que sirviera para diferenciar tal biodiversidad. Los primeros nombres fueron vulgares o populares, y con ellos trataron de destacar una característica sobresaliente que diferenciara unas especies de otras. Durante los siglos XVIII y XIX se gestó nuestro actual sistema taxonómico. A partir de entonces, se empezaron a crear en tierras americanas catálogos de especies y de información conocida hasta la fecha, lo cual propiciaba la existencia de una bibliografía incipiente. No obstante, las dificultades de transporte, disposición de material bibliográfico y de comunicación entre los botánicos pioneros que se dedicaron a estudiar nuestras orquídeas, propiciaron la aparición de nombres repetidos. Esto provocó la falsa noción de la existencia de un número mayor de especies con nombres que en realidad se referían a una sola.

Los esfuerzos para dotar de una lista de orquídeas a nuestro país se ven plasmados en las listas de Oakes Ames (1937) y de L.O. Williams (1956). Ambas listas incluían 959 especies en 133 géneros (García-Castro & Mora-Retana 1992). Pasaron los años, y aumentaba el número de especies atribuidas a Costa Rica. Finalmente, los eminentes orquídeólogos

costarricenses Dora Emilia Mora de Retana y Joaquín Bernardo García Castro publicaron una lista en la que recopilaban 1416 especies en 179 géneros (García-Castro & Mora-Retana 1992). Ellos creían que con la recolección de plantas para las flóculas regionales (La Selva, San Ramón, Monteverde, Parque Nacional Guanacaste, Parque Nacional Braulio Carrillo), con la descripción de especies para *Icones Plantarum Tropicarum* y con el estudio de géneros para la Flora Mesoamericana, el número superaría fácilmente las 1500 especies. Además, ellos trataron de evitar la duplicidad de nombres, actualizar los nombres de especies registradas y utilizar la nomenclatura correcta. Para los géneros o especies de nomenclatura controversial siguieron los criterios de autoridades orquídeológicas que poseían amplio conocimiento de nuestras especies. Durante diez años esta lista fue utilizada como texto de consulta obligada por quienes deseaban desarrollar cualquier trabajo de la familia Orchidaceae en Costa Rica. Mientras tanto, cada año se describían nuevas especies que demostraban cuán vasta es la diversidad de orquídeas en nuestro país. Robert L. Dressler, John T. Atwood, Carlyle L. Luer y Franco Pupulin, entre otros, han sido los responsables directos de tal enriquecimiento.

Lastimosamente, Mora-Retana y García Castro no dejaron un grupo fuerte de taxónomos que pudieran seguir con su delicado trabajo. Afortunadamente, años antes el investigador Franco Pupulin se dedicó a estudiar las orquídeas ticas y se propuso como objetivo revisar el material tanto bibliográfico como de herbario existente en Costa Rica y en otros países. Pupulin (2002a) publica el catálogo actualizado de orquídeas de Costa Rica, que se destaca por presentar testigos de cada especie, de tal manera que sólo considera válidas aquellas especies colectadas en el país que cuentan con un testigo en un herbario. Esta nueva lista incluye los últimos hallazgos de especies y excluye ciertos nombres aparecidos en el trabajo de García-Castro & Mora-Retana (1992).

La Fundación Orquídeas de Costa Rica planea continuar con el trabajo de Mora-Retana y García Castro, así como colaborar estrechamente con el Jardín Botánico Lankester y el investigador F. Pupulin. Los principales objetivos de dicha fundación son:

- a. Identificar orquídeas presentes en Costa Rica.
- b. Descubrir nuevas especies y variedades autóctonas de nuestro país.
- c. Estimular el correcto cultivo y conservación de nuestras especies.
- d. Promover la cuádruple interrelación: cultivo de orquídeas-ambiente integral-salud-longevidad.
- e. Rescatar y reproducir orquídeas en peligro de extinción.
- f. Estudiar y promover la reforestación de árboles nativos hospederos de nuestras orquídeas.
- g. Monitorear las poblaciones de orquídeas, especialmente las que viven en ambiente inestables.
- h. Producir material didáctico y audiovisual sobre la situación de las orquídeas en Costa Rica.
- i. Promover la creación de bancos de germoplasma.

Los miembros de la Fundación trabajamos en la creación de una colección de flores en AFA (Pupulin 2002b), con la idea clara de complementar las colecciones vivas y así registrar la existencia de orquídeas no comunicadas ni documentadas o especies nuevas en nuestro país. También nos dedicamos a estudiar y proteger las orquídeas terrestres, porque sabemos que cerca del 20% de nuestra orquiflora pertenece a esta categoría, que ha sido poco estudiada, lo que genera grandes dificultades en su identificación. Aún más, algunas de éstas son poco llamativas, pasan frecuentemente inadvertidas para los colectores y pocas veces se encuentran presentes en colecciones. Desdichadamente, constituyen un grupo en peligro de desaparición, a pesar de no estar sometidas a la presión de recolección

masiva, dado que, al igual que las epífitas, sufren el impacto de la deforestación, el exterminio por incendios forestales y el uso indiscriminado de agroquímicos, cuando crecen entre o muy cerca de cultivos tradicionales. Para tal efecto, se realizan excursiones de campo para coleccionar flores de estas especies. Así como hemos colaborado en el hallazgo del género *Aulosepalum* en Costa Rica y en la detección de importantes poblaciones de otras orquídeas terrestres, tales como *Stenorrhynchos millei*.

Felizmente, nos esforzamos por continuar con el legado heredado de nuestros grandes orquideólogos; Rafael Lucas Rodríguez Caballero, Dora Emilia Mora de Retana y Joaquín Bernardo García Castro. Seremos parte del trabajo de estudio y identificación de la flora orquidácea de Costa Rica, que el Jardín Lankester realiza desde muchos años. Asumimos como un objetivo prioritario la conservación de especies escasas y raras.

Representamos un grupo de nuevos investigadores costarricenses. Deseamos trabajar arduamente por nuestro país. Pensamos que no hacer nada por rescatar la riqueza de la flora orquidácea de Costa Rica se constituiría en un grave acto de culpabilidad que no queremos cargar sobre nuestras espaldas. ¡Cumplamos con nuestra responsabilidad para honrar nuestro bello y fecundo país!

#### LITERATURA CITADA

- García-Castro, J.B. & D.E. Mora-Retana. 1992. Lista actualizada de las orquídeas de Costa Rica (Orchidaceae). *Brenesia* 37:79-124.
- Pupulin, F. 2002a. Catálogo revisado y anotado de las Orchidaceae de Costa Rica. *Lankesteriana* 4: 1-88.
- Pupulin, F. 2002b. "Flores inmortales": colecciones en alcohol en el JBL. *Epidendrum* 21:2.
- Smith, F., C.A. Villée & W.F. Walker Jr. 1970. *Zoología*. Nueva Editorial Interamericana. México.

**Rafael Ángel Valverde Arias** es biólogo naturalista con estudios realizados en la Universidad de Costa Rica. Desde 1992 es estudioso de las orquídeas del país. Es miembro de la Asociación Costarricense de Orquideología (ACO) y de su Comité de Juzgamiento. Fue discípulo de Dora Emilia Mora de Retana y Joaquín Bernardo García Castro. Es Presidente y fundador de la Fundación Orquídeas de Costa Rica.

**Adolfo Quesada Chanto** es Licenciado en Microbiología y Química Clínica de la Universidad de Costa Rica. Tiene un Doctorado en Bioquímica y Biotecnología de la Universidad de Braunschweig, Alemania Federal, y varios posdoctorados. Ha publicado más de 20 artículos científicos, es autor y coautor de varios libros en el área de la biotecnología y ha participado como expositor en numerosos congresos. Es profesor de pre y posgrado en dos universidades de Costa Rica, Director de Cátedras de Bioquímica Clínica, Bioquímica General y Biotecnología.

## LA INVESTIGACIÓN EN EL JARDÍN BOTÁNICO LANKESTER

JORGE WARNER

Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica  
Apdo. 1031-750 Cartago, Costa Rica, A.C. jwarner@cariari.ucr.ac.cr

Desde su donación a la Universidad de Costa Rica (U.C.R.) en marzo de 1973, el Jardín Botánico Lankester ha tenido un destacado y trascendente papel en la tarea de preservar y estudiar las epífitas de Costa Rica. El trabajo se ha centrado desde el principio en el cultivo y el estudio taxonómico de las familias Orchidaceae, Bromeliaceae y Araceae. En la actualidad, la colección de más de 10000 especímenes y alrededor de 1000 especies de orquídeas está compuesta principalmente por especies nativas, así como numerosos táxones de otras regiones del mundo.

Me resulta imposible desarrollar el tema de la investigación en el Jardín Botánico Lankester sin referirme de forma directa a la obra de las personas que han realizado las principales contribuciones. En el Jardín se realizó investigación ya desde sus inicios como unidad de apoyo a la investigación de la Universidad de Costa Rica. El prominente botánico y artista Rafael Lucas Rodríguez (1915-1981), además de ser uno de los principales gestores de la donación del Jardín a la Universidad, fue su primer colaborador científico. Su desafortunadamente inconclusa e inédita obra principal, "Orquídeas del Istmo Centroamericano", iba a incluir, según se desprende de sus manuscritos, una descripción completa de la familia Orchidaceae, una compleja clave para géneros, así como claves, descripciones e ilustraciones de especies (Morales 2001a). Sus 1092 láminas de orquídeas contienen rigurosos detalles de las características de las flores y las partes vegetativas así como invaluable datos de recolecta, fechas de floración y comparaciones de características entre géneros y especies afines.

En 1979, con la designación de Dora Emilia Mora (1940-2001) como primera directora del Jardín, empezaron los trabajos de exploración botánica patrocinados por el Jardín y el enriquecimiento de su colección de Orchidaceae, considerada como la más importante de orquídeas mesoamericanas.

Considero que hay tres hechos en la historia del Jardín que han contribuido significativamente a

impulsar la investigación en orquídeas. El primero es la relación profesional de Dora Emilia Mora con Robert L. Dressler, principalmente a partir de 1984 cuando, en calidad de profesor invitado, él impartió el "Curso de Orquideología" de la carrera de Biología de la U.C.R. Aquel momento coincidió con el hecho de que Dora Emilia había aceptado elaborar, con la colaboración de María Eugenia Barahona y de Norris H. Williams, la mayoría de los textos que acompañan las ilustraciones del libro "Géneros de orquídeas de Costa Rica", obra en la cual se rindió homenaje póstumo a Rafael Lucas Rodríguez. De acuerdo con Dora Emilia (com. pers.) la relación con Dressler en ese tiempo representó para ella un impulso para sus recién iniciados trabajos de clasificación de orquídeas y la obligó también a sistematizar la búsqueda de material vivo, no solo para elaborar las descripciones de los 134 géneros contenidos en la obra de Rodríguez sino para todos sus posteriores trabajos de investigación. Después de la publicación del libro "Géneros de orquídeas de Costa Rica", Dora Emilia inició sus propias investigaciones que la llevaron a describir 10 especies nuevas, a publicar 7 combinaciones nuevas y 4 táxones inéditos (Morales 2001b), así como a realizar importantes obras como su "Lista actualizada de las orquídeas de Costa Rica" (Mora-Retana & García 1992).

El segundo hecho importante data de 1987 y se trata también de otra relación profesional de Dora Emilia Mora, esta vez con John T. Atwood, en aquel entonces director del Centro de Identificación de Orquídeas de los Jardines Botánicos Selby (Sarasota, EE.UU.). Como este último indica, mientras completaba su trabajo sobre la flora de Orchidaceae de la Estación Biológica La Selva, empezó su búsqueda de un colaborador costarricense con el cual trabajar en un proyecto más grande (Atwood 2001). Por sugerencia de Robert Dressler contactó a Dora Emilia, establecieron las bases para su relación de colaboración y dio inicio una fructífera amistad para beneficio del estudio de las orquídeas costarricenses. Los



productos más destacados en esta etapa de la investigación en el Jardín Botánico Lankester fueron la publicación de trescientas orquídeas ilustradas bajo la serie *Icones Plantarum Tropicarum* (Atwood 1989, Mora-Retana & Atwood 1992, 1993), la descripción de nuevas especies y la publicación de un volumen para la *Flora Costaricensis* dedicado a las subtribus Maxillariinae y Oncidiinae (Atwood & Mora-Retana 1999). Durante este período también se enriqueció notablemente la destacada colección de Orchidaceae que se conserva en el Herbario de la Universidad de Costa Rica (USJ) y se formaron profesionalmente varios estudiantes, tres de los cuales (Mario Blanco, Carlos O. Morales y Jorge Warner) permanecen ligados hoy día a las actividades del Jardín

El tercer hecho se dio en marzo del 2001, cuando la Universidad de Costa Rica le confirió al Jardín el estatus de Estación Experimental. Dentro de la estructura universitaria esta figura ha provisto al Jardín de herramientas para acceder a nuevos recursos para realizar investigación. El resultado más notable ha sido la conformación de un grupo de investigación liderado por Franco Pupulin. En poco más de dos años se ha ampliado el grupo de instituciones con las cuales se realizan proyectos de investigación destacando, entre otras, los Reales Jardines Botánicos de Kew (Reino Unido), los Herbarios de la Universidad de Harvard, los Jardines Botánicos Selby y el Museo de Historia Natural de la Universidad de Florida. La naturaleza de los proyectos de investigación también es mucho más amplia. Además de los trabajos de exploración botánica en regiones poco conocidas, de los inventarios en áreas protegidas (Pupulin 1998, 2001a), de actualización de la lista de orquídeas de Costa Rica (Pupulin 2002), de los trabajos sobre taxonomía y ecología (Pupulin 2001b) y de las contribuciones monográficas en preparación para la *Flora Costaricensis* y la *Flora Mesoamericana*, los nuevos proyectos incluyen temas como biología de la polinización, evolución, estudios ecológicos, asociaciones de micorrizas de orquídeas y germinación simbiótica y asimbiótica de semillas.

Se han creado dos publicaciones periódicas: *Lankesteriana*, la revista científica del Jardín, editada por Pupulin y Carlos O. Morales, que en poco tiempo ha alcanzado reconocimiento internacional por su alta

calidad y amplia circulación, y el boletín *Epidendrum*. Sólo en este período de dos años se han publicado 40 trabajos, haciendo del último quinquenio el más productivo en la historia del Jardín. El nuevo enfoque en los trabajos de campo ha permitido generar datos valiosos para la conservación de las especies. Más que satisfacción, estos logros imponen grandes metas para llevar la investigación en el Jardín a los más altos niveles de reconocimiento internacional.

#### LITERATURA CITADA

- Atwood, J.T. 1989. Orchids of Costa Rica part 1. *Icon. Pl. Trop.* 14: pl. 1301-1400
- Atwood, J.T. & Mora de Retana, D.E. 1999. Orchidaceae: Tribe Maxillarieae: Subtribes Maxillariinae and Oncidiinae. *In* W. Burger (ed.), *Flora Costaricensis*. *Field., Bot. n.s.* 40:1-182.
- Atwood, J.T. 2001. Dora Emilia Mora de Retana, a remembrance. *Lankesteriana* 2:9.
- Mora-Retana, D. E. & Atwood, J.T. 1992. Orchids of Costa Rica, part 2. *Icon. Pl. Trop.* 15: pl.1401-1500.
- Mora-Retana, D. E. & García-Castro, J.B. 1992. Lista actualizada de las orquídeas de Costa Rica (Orchidaceae). *Brenesia* 37: 79-124.
- Mora-Retana, D. E. & Atwood, J.T. 1993. Orchids of Costa Rica, part 3. *Icon. Pl. Trop.* 16: pl.1501-1600.
- Morales, C.O. 2001a. Publicaciones y otros escritos de investigadores y colaboradores del Jardín Botánico Lankester. *In* Jardín Botánico Lankester. Publicaciones y otros escritos de investigadores y colaboradores, 1950-2000. Universidad de Costa Rica, Jardín Botánico Lankester, 12 p.
- Morales, C.O. 2001b. Dora Emilia Mora de Retana, 1940-2001. *Lankesteriana* 2:1-7.
- Pupulin, F. 1998. Orchid florula of Parque Nacional Manuel Antonio, Quepos, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46: 961-1031.
- Pupulin, F. 2001a. Addenda Orchidaceis Quepoanis. *Lankesteriana* 1: 1-28.
- Pupulin, F. 2001b. Estado de conservación de la subtribu Zygopetalinae (Orchidaceae) en Costa Rica. San José, 2do Seminario Mesoamericano de Orquideología y Conservación. Programa de Conferencias: Resúmenes. San José, 23-26 de mayo 2001. p. 30.
- Pupulin, F. 2002. Catálogo revisado y anotado de las Orchidaceae de Costa Rica. *Lankesteriana* 4:1-88.
- Rodríguez, R.L., D.E. Mora, M.E. Barahona & N.H. Williams. 1986. Géneros de Orquídeas de Costa Rica. San José, Edit. Universidad de Costa Rica. 334 p.

**Jorge Warner** es director del Jardín Botánico Lankester desde el 2001 y coordinador del Grupo Regional Mesoamericano de Especialistas en Orquídeas de la UICN. Sus áreas de trabajo son cultivo *in vitro* de plantas y conservación *in situ*.

1<sup>ER</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DE ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL  
*1<sup>ST</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEOTROPICAL ORCHIDOLOGY*

*Sesión / Session*

**PATOLOGÍA DE ORQUÍDEAS**  
***ORCHID PATHOLOGY***

## ESTUDIO DE LA PUDRICIÓN NEGRA DE LAS ORQUÍDEAS CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA* SP. EN COLECCIONES DEL VALLE CENTRAL DE COSTA RICA

CLAUDIO CÁRDENAS BRICEÑO

Fundación SACRO (Save Costa Rican Orchids)  
Apdo. 1527-1000 San José, Costa Rica

La pudrición negra de las orquídeas causada por el hongo *Phytophthora* spp. se ha diagnosticado en diferentes países del mundo y es considerada una de las enfermedades fungosas más importantes en orquídeas. Cuatro especies de este hongo han sido relacionadas con la enfermedad: *P. cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt., *P. palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler., *P. cinnamomi* Rands. y *P. nicotianae* Breda de Haan.

En Costa Rica solamente *P. cactorum* ha sido identificada y se considera una enfermedad importante, principalmente durante los meses de alta precipitación.

Durante los últimos años se estudiaron los ataques de este hongo en colecciones ubicadas en diferentes zonas del Valle Central de Costa Rica. Se evaluaron factores como: hospederos, síntomas, meses y zonas de mayor incidencia, recurrencia de un año a otro, diseminación, además de opciones de manejo.

Entre los hospederos encontrados, los híbridos de *Cattleya*, *C. skinneri*, *C. aurantiaca* y *C. dowiana* fueron las plantas más afectadas. También se encontraron ataques en *Schomburgkia undulata*, *Masdevallia* sp. y *Sobralia macrantha*. En todas las plantas dañadas, el proceso infeccioso comenzó con la pudrición de raíces y rizoma. Posteriormente el hongo invade los órganos aéreos causando pudriciones de coloración oscura, de avance rápido y bien definido. El síntoma característico de la enfermedad es el desprendimiento inmediato de las hojas al momento de ser invadidas; éstas se tornan quebradizas en el punto de unión con el pseudobulbo y caen al suelo o al sustrato. En condiciones de alta humedad, estas hojas se necrosan rápidamente y desarrollan una tenue capa harinosa en la superficie, constituida por esporangios (estructuras reproductivas del hongo).

La enfermedad presentó dos épocas bien definidas de incidencia, los meses de enero y febrero (primeras lluvias), cuando los ataques son débiles por la poca humedad, y entre los meses de julio a octubre (meses de mayor precipitación), cuando se presenta el mayor número de brotes, principalmente en octubre. Esto demuestra que el patógeno es dependiente de la humedad.

Se presentaron infecciones en diferentes zonas, con altitudes entre 900 y 1450 m s.n.m..

Los ataques del patógeno fueron recurrentes en el mismo sitio y de un año a otro. Al marcar los sitios donde aparecieron plantas infectadas, se demostró que en años siguientes aparecen brotes en los mismos sitios.

Inoculaciones artificiales realizadas sobre sustratos de plantas sanas mostraron la aparición de la enfermedad el año siguiente. Este factor indica que el desprendimiento de las hojas posiblemente sea un mecanismo natural del patógeno para diseminarse, y completar su ciclo de vida. Además, solamente en hojas necrosadas se han encontrado estructuras de supervivencia y reposo (oosporas). La literatura menciona que este hongo es un hábil saprófito en el suelo o sobre sustratos de cultivo.

Las pérdidas por esta enfermedad son más frecuentes en viveros donde las plantas son cultivadas densamente, con malas condiciones de drenaje e iluminación y cercanas al suelo. Por esto, cuando aparecen brotes del hongo es necesario mejorar estos factores, eliminar las plantas dañadas y cambiar todos los sustratos de las plantas cercanas al brote. Las aplicaciones químicas deben realizarse como complemento a estas prácticas culturales.

Síntomas similares a los ocasionados por *Phytophthora* se encontraron en plantas de *Restrepia*

sp. y *Cattleya dowiana*; sin embargo se comprobó que son ocasionados por el hongo *Pythium* sp., por lo que este patógeno también puede ser agente causal de la pudrición negra.

## LITERATURA CITADA

- Uchida, J.Y. 1994. Diseases of Orchids in Hawaii. Pl. Diseases: 78: 3. 220-225.
- Pereira, G.F., D. Laranjeira, M. Menezes & S.M. Oliveira. 1993. Ocurrencia de *Phytophthora cactorum* asociada a quema o pudrición negra de orquídeas en el estado de Pernambuco. Fitopatol. Brasil. 18(5) agosto:347.

**Claudio Cárdenas** es ingeniero agrónomo graduado de la Universidad Nacional, especializado en enfermedades de plantas. Como estudiante y profesional, laboró como asistente de investigaciones del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional, donde realizó su tesis en diagnóstico de enfermedades de orquídeas cultivadas en colecciones del Valle Central de Costa Rica. Con la fundación SACRO, continúa proyectos sobre enfermedades de orquídeas, principalmente en la identificación, distribución y manejo de enfermedades. Ha sido expositor invitado en el Congreso Latinoamericano de Orquideología (CLO 2001) en Caracas, Venezuela, con el tema "La sanidad de las orquídeas cultivadas, una estrategia de conservación", así como en el Segundo Seminario Mesoamericano de Orquideología y Conservación (2002). Expositor e instructor del tema de enfermedades de orquídeas en congresos agronómicos y cursos de la Universidad Nacional y la Organización de Estudios Tropicales, ha mantenido la línea de investigación en patología de orquídeas desde 1996 hasta la actualidad.

## DETECCIÓN DE TRES ESPECIES DE POTYVIRUS EN ORQUÍDEAS NATIVAS EN UN VIVERO DEL VALLE CENTRAL DE COSTA RICA

B. ORTIZ-ARIAS<sup>1</sup>, L. MOREIRA<sup>1,4</sup>, A.V. MACAYA-LIZANO<sup>1,2</sup> & C. RIVERA<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica

<sup>2</sup> Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica

<sup>3</sup> Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

<sup>4</sup> Autor para correspondencia: lmoreira@cariari.ucr.ac.cr

En un estudio realizado durante los años 1999 y 2000, en un vivero de orquídeas ubicado en el Valle Central (Costa Rica), se determinó que el género *Potyvirus* ocupa el segundo lugar en frecuencia de las infecciones virales detectadas, mediante la prueba de ELISA realizada a 148 plantas de diferentes especies de orquídeas nativas, que mostraban síntomas de posible etiología viral. Durante el año 2002, se evaluaron nuevamente para potyvirus, 33 plantas de orquídeas pertenecientes a nueve géneros, en el vivero mencionado, de las cuales cinco fueron positivas.

Los principales síntomas encontrados en estas plantas fueron moteados, bandeados cloróticos, amarillamientos y deformaciones foliares, además una de las muestras fue asintomática. Para determinar cuáles especies del género *Potyvirus* eran las causantes de las infecciones detectadas, se evaluaron las cinco plantas mediante la prueba de ELISA y "Western blot" para *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) y *Turnip mosaic virus* (TuMV).

Mediante la prueba de ELISA se determinó infección simple con BCMV en dos muestras y con BYMV en otra. Una muestra presentó infección mixta con TuMV y BCMV, y la restante no mostró reacción positiva para los virus evaluados. Mediante "Western blot" únicamente los anticuerpos específicos del BCMV y TuMV reconocieron las muestras que previamente fueron positivas por ELISA. En una de las muestras evaluadas para BCMV se evidenciaron dos bandas de aproximadamente 37 y 38.7 kDa, mientras que en la muestra positiva para TuMV aparece una banda de 43.2 kDa, corroborando la presencia de ambas especies virales en el vivero de interés.

Actualmente se busca determinar a cuál de las razas del BCMV corresponde el virus detectado y respecto al virus que reaccionó con el anticuerpo para el TuMV se intenta conocer si corresponde a un variante de éste, ya que en el estudio se encontró un peso molecular de la cápside mayor al informado.

**Beatriz Ortiz-Arias** es Ingeniera Biotecnóloga graduada en el 2002; parte de los resultados presentados en este trabajo fueron obtenidos en su trabajo final de graduación

**Lisela Moreira Carmona** es *Magister scientiae* en Biología; participa en investigaciones relacionadas con patógenos vegetales (virus, viroides y bacterias endófitas), con interés en determinar las virosis en orquídeas presentes en nuestro país.

**Ana Victoria Macaya-Lizano** es Bióloga, Doctora en Ciencias Naturales, micóloga de amplia experiencia, interesada en investigaciones relacionadas con virus de orquídeas nativas en Costa Rica.

**Carmen Rivera Herrero** es *Magister scientiae* en Biología, con casi 25 años de experiencia en el campo de la virología vegetal, con amplia experiencia en investigaciones sobre virus, viroides, fitoplasmas y *Xylella fastidiosa*.