

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

"MANUAL DE PROPAGACION DE ORQUIDEAS *in vitro*"

DOCUMENTO DE GRADUACION

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

ERWIN ESTUARDO ARCHILA MORALES

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN:

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA, MAYO DE 2,000

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

ING. AGR. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. M. Sc. EDGAR OSWALDO FRANCO RIVERA
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. WALTER ESTUARDO GARCÍA TELLO
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. WILLIAM ROBERTO ESCOBAR LOPEZ
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. ALEJANDRO ARNOLDO HERNÁNDEZ
VOCAL CUARTO	Br. JACOBO BOLVITO RAMOS
VOCAL QUINTO	Br. JOSÉ BALDOMERO SANDOVAL ARRIAZA
SECRETARIO	Ing. Agr. EDIL RENÉ RODRÍGUEZ QUEZADA

Guatemala, Mayo de 2000

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores miembros:

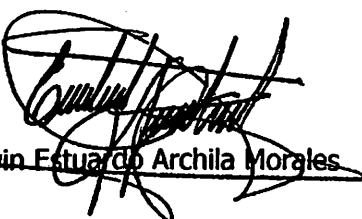
De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

"MANUAL DE PROPAGACION DE ORQUIDEAS *in vitro*"

Como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos necesarios para su aprobación, me suscribo.

Atentamente,



Erwin Estuardo Archila Morales

ACTO QUE DEDICO

- A:**
- DIOS** Fuente de Sabiduría.
- MI ESPOSA** LESBIA VICTORIA, por su apoyo moral en los momentos difíciles y su alegría en los momentos felices.
- MI HIJA** LAURA VICTORIA, con cariño muy especial.
- MIS ABUELOS** Francisco Archila Arreaga (Q.E.P.D.), Magdalena Euler Paaú (Q.E.P.D.), Olimpia Martínez Teos, Gildardo Morales De León.
- MIS PADRES** Oscar Archila Euler y Adeliúvia Morales de Archila, como muestra agradecimiento a su amor y apoyo.
- MIS HERMANOS** Oscar Francisco, Fredy Leonel, Sandra Elizabeth, Lesvia Jannette, Mabel Stefanla con mucho cariño y en especial a María Magdalena por su apoyo incondicional desde un lugar tan lejano.
- MIS SOBRINOS** Por ser fuente de cariño, inspiración y alegría en mi vida.
- MIS TIOS** Con respeto y admiración.
- MIS PRIMOS** Con cariño, en especial a Rodolfo por su apoyo de padre.
- MIS AMIGOS** Especialmente a Nelson Guzmán, Jorge Gaitán, Gabriel Rosales, César Enríquez, Mynor Ochaeta, David Mendieta, Julio Espinosa, Julio Estrada, Merwin Avila, Carol Pérez, Rosario escobar, Julieta Bátres, Héctor Sagastume, Luis Molina, Nobuhisa Susuki, Sergio Ortíz, Eduardo Robles, Filiberto Salvatierra, Mario Véliz, Estuardo Véliz Zepeda, Enrique Fong, Miguel Angel Cayax, Gustavo de Dios, Gerardo de León, Luis Ramírez, Edgar Marroquín, Selvin Paque, César de Paz, Rolando de Paz, Allan Scott, Edgar Fajardo, Juan Antonio Durán, Saúl Guerra, Erick Araujo, Luis Pérez y a los que escapan a mi memoria, como recuerdo de las experiencias compartidas y muestra de mi amistad.

TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS

MI PATRIA GUATEMALA, PAIS DE BELLEZA INIGUALABLE

PROGRAMA DE BECAS PARA LA EDUCACION SUPERIOR AID-UVG

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

A MIS PADRINOS ING. AGR. JULIO CURRUCHICHE, ING. AGR. ANIBAL
LOPEZ E ING. AGR. NOBUHISA SUSUKI

LOS INGENIEROS AGRONOMOS DE LA FACULTAD POR HABERME
BRINDADO APOYO Y AMISTAD INCONDICIONAL

INSTITUTO NORMAL MIXTO DEL NORTE "EMILIO ROSALES PONCE"

ESCUELA OFICIAL URBANA MIXTA DE APLICACIÓN "ARTURO DE LA CRUZ"

AGRADECIMIENTOS

A:

Mi asesor Ingeniero Agrónomo M. Sc. Domingo Amador Pérez, por su apoyo incondicional, orientación y asesoría en el presente trabajo.

Las familias Jauregui Hernández, García Archila, Curruchiche Orellana, Ortiz García por su apoyo en todo momento.

Silvia y Mario Palmieri, por su valiosa colaboración.

Bioplasmas de Guatemala, Biotec, S.A., Laboratorios Insignia e Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, que por su apoyo incondicional permitieron recopilar toda la información para llevar a cabo el presente documento.

Todas aquellas personas que han colaborado con la elaboración de este documento, pero que en este momento no tengo en memoria.

CONTENIDO

INDICE DE TABLAS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE ABREVIATURAS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCION	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
III. MARCO TEÓRICO	3
3.1. ORQUIDEAS GENERALIDADES	3
3.1.1 INTRODUCCION	3
3.1.2 PARTES DE LA PLANTA	8
A. Raíces	8
B. Tallos o Pseudobulbos	9
C. Hojas	10
D. Flor	11
3.2. PROPAGACION DE LAS ORQUIDEAS	13
3.2.1. METODOS TRADICIONALES	13
A. Propagación sexual	13
B. Propagación asexual	14
a. Propagación por esquejes de escapo o ejes de inflorescencia	15
b. Propagación por esquejes de tallo vegetativo	15
c. Propagación por medio de keikis	18
d. Propagación por división de la planta madre	19
3.2.2. PROPAGACION <i>in-vitro</i>	20
A. Propagación a partir de semilla	20
a. Siembra de cápsula cerrada	20
i. Elaboración del medio de cultivo	23
ii. Desinfección de la cápsula	23
iii. Siembra de la semilla	23
iv. Condiciones de incubación	25
b. Siembra de cápsula abierta	26
i. Elaboración del medio de cultivo	28
ii. Desinfección de la semilla	28
iii. Siembra de la semilla	28
iv. Condiciones de cultivo	30
c. Días a la germinación	30
d. Tiempo de maduración de cápsulas	30
B. Propagación asexual a partir de yemas	31
a. Propagación por yemas apicales y/o laterales	32
i. Desinfección	32
ii. Siembra	32
iii. Condiciones de cultivo	33
b. Propagación por secciones de nudos	33
i. Desinfección	34
ii. Siembra	34
iii. Condiciones de cultivo	34

c.	Propagación utilizando el pedúnculo floral	35
i.	Desinfección	35
ii.	Siembra	35
iii.	Condiciones de cultivo	37
C.	Medios de cultivo	38
a.	Preparación	38
b.	Esterilización	39
c.	Tipos de medio específicos para algunos géneros	39
i.	Medios de cultivo para el género <i>Phalaenopsis spp.</i>	39
ii.	Medios de cultivo para el género <i>Dendrobium spp.</i>	40
iii.	Medios de cultivo para el género <i>Cattleya spp.</i>	41
iv.	Medios de cultivo para el género <i>Cymbidium</i>	42
D.	Transplante o subcultivo de orquídeas	42
E.	Oxidación de tejidos	44
F.	Enraizamiento de plantas <i>in-vitro</i>	46
G.	Transplante a condiciones de invernadero	46
a.	Mezcla de sustrato	47
b.	Siembra de las orquídeas	48
c.	Fertilización	48
d.	Riego	48
e.	Aclimatización	48
IV.	OBJETIVOS	51
4.1	Objetivo general	51
4.2	Objetivo específico	51
V.	CONCLUSIONES	52
VI.	RECOMENDACIONES	53
VII.	BIBLIOGRAFIA	54
VIII.	APENDICE	57
IX.	GLOSARIO	74

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Días a la germinación y formación de protocormos de semillas en orquídeas.	30
2. Tiempo de cosecha para cápsulas de algunas especies de orquídeas, días después de la polinización.	31
3. Fases de cultivo y modificaciones en el medio para el cultivo de <i>Phalaenopsis</i> .	40
4A. Medio de cultivo para porciones basales de hojas (Champagnat, Morel & Mounetou, 1,970)	59
5A. Medio de cultivo Knudson C (1,946)	60
6A. Medio de cultivo Lindemann para meristemos de <i>Cattleya</i>	61
7A. Medio de cultivo Morel (1,965)	62
8A. Medio de Cultivo Murashige & Skoog (1,962)	63
9A. Medio de cultivo para yemas laterales de <i>Cattleya</i> (Reinert and Mohr, 1,967)	64
10A. Medio modificado para el cultivo de explantes de brotes vegetativos de <i>Dendrobium</i> y <i>Cattleya</i> (Vacin y Went 1,949)	65
11A. Medio de cultivo para meristemos de <i>Cymbidium</i> (Wimber, 1,963)	66
12A. Medio de cultivo para nudo de <i>Dendrobium</i>	67
13A. Medio para tallos florales jóvenes de <i>Dendrobium</i>	67
14A. Medio para yemas de <i>Dendrobium</i>	68
15A. Medio para cultivo de hoja de <i>Phalaenopsis</i>	68
16A. Medio de Cultivo Knop's modificado para el cultivo de secciones de nudo de <i>Dendrobium</i>	69
17A. Diferentes tipos de hormonas y sus respectivos solventes	71
18A. Preparación de soluciones madre de medio Murashige y Skoog (M&S)	72

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diferentes tipos de orquídeas según su tamaño y color.	4
2	Diferentes tipos de flores.	5
3	Diferentes tipos de flores.	6
4	Diferentes tipos de orquídeas según su crecimiento.	7
5	Diferentes tipos de raíces.	8
6	Diferentes tipos de tallos o pseudobulbos en orquídeas.	9
7	Diferentes tipos de hojas de las orquídeas.	10
8	Partes de que consta una flor de orquídeas.	11
9	Partes del aparato reproductor de las orquídeas.	12
10	Semilla de <i>Lycaste skinneri</i> var. <i>Alba</i> (Monja Blanca).	13
11	Propagación de una orquídea monopodial (<i>Vanda sp</i>) por medio de esquejes de tallo.	16
12	Propagación de una orquídea simpodial (<i>Dendrobium sp.</i>) por medio de esquejes de tallo.	17
13	Keikis en dos diferentes géneros de orquídeas simpodiales.	18
14	Procedimiento para la división correcta de una orquídea simpodial (<i>Cattleya</i>).	19
15	Diferentes tipos de cápsulas de la familia orchidaceae.	21
16	Almacenamiento de cápsulas de orquídeas cerradas.	22
17	Desinfección y siembra de cápsula cerrada.	24
18	Secuencia de germinación de la semilla de orquídea.	25
19	Cápsula de <i>Oncidium pusillum</i> mostrando dehiscencia.	26
20	Almacenamiento de semilla de orquídeas.	27
21	Siembra de semilla a partir de cápsulas abiertas.	29
22	Siembra de yemas de <i>Cymbidium</i> .	33
23	Siembra de nudos de <i>Dendrobium</i> .	34
24	Siembra de pedúnculo floral joven de <i>Phalaenopsis</i> .	36
25	Siembra de pedúnculo floral maduro de <i>Phalaenopsis</i> .	37
26	Frascos con alta densidad de plantas listas para ser subcultivadas.	43

Figura		Página
27	Transplante o subcultivo de orquídeas.	45
28	Orquídeas en diferentes fases de invernadero.	49
29	Transplante de <i>Phalaenopsis</i> a macetas individuales.	50

INDICE DE ABREVIATURAS

2,4-D	=	Acido 2, 4 diclorofenoxiacético.
°C	=	Grados centígrados.
AG₃	=	Acido giberélico
AIB	=	Acido indolbutírico.
ANA	=	Acido naftalenacético.
BA	=	6-Benciladenina.
BAP	=	6-Bencilaminopurina.
cm	=	Centímetros.
gr	=	Gramos.
HCl	=	Acido clorhídrico.
K	=	Potasio.
Kg/cm²	=	Kilogramo por centímetro cuadrado.
M&S	=	Murashige & Skoog.
mg	=	Miligramos.
mg/l	=	miligramos por litro.
ml/l	=	Mililitros por litro.
mm	=	Milímetros.
N	=	Nitrógeno.
NaOH	=	Hidróxido de sodio.
P	=	Fósforo.
v/v	=	Volumen/volumen.

“Manual de Propagación de Orquídeas *in-vitro*”

“Handbook of *in-vitro* orchid's propagation”

RESUMEN

Guatemala por su ubicación en Mesoamérica se constituye en un centro de origen de una gran cantidad de especies de orquídeas, todas amenazadas con extinguirse debido a su extracción inmoderada y principalmente a la deforestación, que según el Informe del Estado Mundial de los Bosques (FAO, 1997), en un período de 5 años se perdió en el país casi el 10% de la cobertura forestal. Debido a la problemática antes mencionada se hace necesario la conservación de este germoplasma, pero existen problemas para la propagación de orquídeas empleando métodos tradicionales. En primer lugar la semilla carece de endospermo, lo que la limita de una fuente de energía para poder germinar y crecer. Además la propagación asexual se constituye en una tarea que requiere de mucho tiempo y que al final la cantidad de plantas que se pueden obtener es muy reducida.

Basados en lo anterior se hace necesario contar con nuevas metodologías más eficientes para la propagación de las orquídeas. Una de las alternativas es la propagación *in-vitro*, que no es más que el proceso de propagación de plantas realizado experimentalmente en aislamiento, o sea separado del organismo, lo que nos permite propagar especies vegetales en períodos cortos de tiempo. A partir de estas bases se elaboró el presente manual de propagación de orquídeas *in-vitro*, concentrándose la mayor cantidad de información posible para la poder desarrollar una reproducción masiva y acelerada de dichas plantas.

El proceso inicia con la obtención del material que se empleará como explante inicial, este debe de obtenerse ya sea de campo o bien de colecciones privadas. Es importante que dicho material sea seleccionado tomando en cuenta la sanidad, para evitar que en el momento de la siembra se presenten problemas de contaminación que provoquen en un momento dado, que en lugar de adaptar un material a las condiciones del laboratorio, éste se sacrifique. Si la propagación se realiza sexualmente, es decir empleando semillas, se mantiene la variabilidad genética lo que nos permite tener una herramienta útil para programas de conservación de germoplasma. En el proceso de micropropagación sexual es preferible utilizar la cápsula que aún no ha mostrado dehiscencia debido a que en este momento las semillas aún se encuentran estériles y en el momento de la siembra los niveles de contaminación son bajos. Antes de realizar la siembra de las semillas es recomendable realizar observaciones al microscopio. Si en

las semillas se observa el embrión de forma redonda y de coloración verde, germinarán en período de tiempo mucho más reducido debido a que este es el indicativo del estado de madurez ideal del embrión.

Si la propagación se desarrolla asexualmente se deben utilizar diferentes tipos de explantes y los más comunes son yemas apicales o axilares, secciones de nudos y pedúnculos florales. Se debe tomar en cuenta que para cada tipo de explante existe un proceso de desinfección, del cual depende el éxito de su establecimiento bajo condiciones de laboratorio. Con la propagación micropropagación asexual se logra mantener la uniformidad genética de clones con características deseables y especiales como color, tamaño, forma, etc. Obtenido el explante se procede a su establecimiento bajo condiciones de laboratorio, para luego proceder a realizar subcultivos hasta la obtención de un número determinado de plantas. Como se menciona existen una gran diversidad de explantes y orquídeas así mismo una serie de medios de cultivo específicos para algunas de ellas, por lo que en ocasiones se hace necesario propiciar condiciones especiales de cultivo a determinado género o especie.

Luego de obtener plantas de provenientes laboratorio que alcanzan una altura de 5 a 6 cm y más de tres raíces son trasladadas a invernadero. Es necesario tener mucho cuidado y seguir las recomendaciones para su aclimatación, debido a que en este momento las plantas son muy susceptibles al cambio brusco al que serán sometidas. Es en este paso se marca el éxito de la micropropagación de las orquídeas, debido a que si se les proporciona un manejo adecuado, se obtiene un alto grado de supervivencia de las plantas y los costos serán bajos.

En síntesis contamos con la información necesaria para la propagación de las orquídeas y a la vez para su rescate de una desaparición inminente.

I. INTRODUCCIÓN

Las orquídeas como parte de la biodiversidad de Guatemala constituyen una familia de plantas muy numerosa presentando alrededor de 800 especies diferentes en el país. Existe un gran número de ellas incluida nuestra flor nacional la "Monja Blanca",⁽¹⁾ que son cotizadas como ornamentales y las cuales son propagadas y comercializadas principalmente por guatemaltecos de bajos recursos económicos quienes se ven beneficiados con esta actividad.

Actualmente la familia Orchidaceae se encuentran en peligro de extinción debido a problemas como depredación, tala inmoderada, el avance de la frontera agrícola y los incendios forestales, lo que provoca que paulatinamente desaparezcan. Todo esto se resume en extracciones inmoderadas y el más importante la destrucción del hábitat, en este caso Maldonado (28) reporta que en Guatemala se da una deforestación de 82,000 hectáreas anualmente y un dato aún más crítico es de que el 24.39% (20,000 hectáreas) del área deforestada se encuentra dentro de los límites de las áreas protegidas.

Con la elaboración del manual, se están aportando los conocimientos necesarios para poder propagar tanto sexual como asexualmente las orquídeas, es decir que se tienen los conocimientos necesarios para poder producir una gran cantidad de plantas que en principio contrarrestarán el proceso de extinción de dichas plantas, es decir métodos que contribuirán a propagar masivamente las especies sin recurrir a su depredación en el bosque. Estas luego de obtenerse por siembra en un laboratorio, en cualquier momento se pueden comercializar o bien se pueden utilizar para repoblación de áreas principalmente protegidas.

Es importante agregar que si la propagación *in-vitro* se realiza sexualmente tendremos la ventaja de que como toda siembra a partir de las semillas contribuirá a que se mantenga la variabilidad genética de las especies.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente en Guatemala, según reporta el Centro de Datos para la Conservación (CDC) del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON) existen aproximadamente 800 especies de la familia Orchidaceae. Todas estas especies se encuentran en peligro de extinción debido a factores como, deforestación y depredación.

En el primer caso Maldonado (28) reporta que en Guatemala en cinco años se perdieron 412,000 hectáreas de cobertura boscosa (el 10% de la cobertura forestal del país). Esto representa una pérdida anual de 82,000 hectáreas de las cuales el 24.39% (20,000 hectáreas) se han perdido en áreas que se encuentran bajo protección.

La deforestación considerada como el factor más importante ocasiona que desaparezcan los hábitats en donde además de las orquídeas se pierde una gran parte de la biodiversidad de nuestro país.

En el segundo caso es más selectivo pero en la mayoría de los casos las orquídeas que son extraídas de los bosques son vendidas a personas que desconocen de los cuidados que deben de darles y corren la misma suerte.

Por un período de quince años he dedicado tiempo al cultivo y propagación de orquídeas por métodos tradicionales así como por medio de cultivos *in-vitro*, pero los primeros han resultado ser demasiado lentos para la obtención de grandes cantidades de plantas.

Debido al peligro de extinción en que se encuentran sometidas las orquídeas y aprovechando la experiencia en Cultivo de Tejidos Vegetales, se elaboró el presente Manual de Propagación de Orquídeas *in-vitro* el cual presenta la información necesaria para tener una alternativa para la reproducción rápida de dichas plantas, ya sea sexualmente para mantener la variabilidad genética de las especies o asexualmente para propagar materiales en los cuales se requiere de uniformidad genética de clones seleccionados por alguna característica deseable. Esto se resume en conocimientos que permiten su propagación masiva y a la vez en el rescate de una desaparición inminente.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. ORQUIDEAS GENERALIDADES

3.1.1. INTRODUCCION

La familia Orchidaceae, constituye un grupo de plantas que se incluyen dentro de las más evolucionadas en la naturaleza y de mayor distribución en el ámbito mundial. Tyson(1970) reporta 13 tribus pertenecientes a dicha familia, con una cantidad aproximada de 25,000 especies. Se debe tomar en cuenta que año con año se descubren más.

Todas ellas presentan diversidad de hábitos y debido a esto se les clasifica como *epífitas, litófitas y terrestres*, principalmente. En lo que a tamaño se refiere existen desde grandes hasta llegar a las miniaturas (figura 1 a,b,). Presentan colores fuertes a pálidos en donde se incluyen casi todos los colores (figura 1 c,d,) la mayoría presenta combinaciones y muy pocas especies presentan flores de un solo color. Sus flores van de simples a muy complejas y asimétricas (figuras 2 y 3), es decir flores irregulares o zygomorfas, que solo pueden ser divididas en un único eje para obtener dos partes iguales. Por su vistosidad se resumen en plantas extremadamente bellas y raras a la vez.

Otra de las particularidades de las orquídeas es la gran gama de fragancias cuya función es la de atraer a los agentes polinizadores.

Existen especies que producen flores que permanecen abiertas un día o solamente parte del día mientras que hay otras en las que la inflorescencia puede tardar aproximadamente tres meses.

Las orquídeas entre el 80 y 90% se encuentran distribuidas en las zonas tropical y subtropical del Ecuador. En Guatemala se pueden localizar especímenes desde el nivel del mar hasta las montañas más altas de la región occidental, es decir que se pueden encontrar materiales en todo el país.

Dependiendo del tipo de crecimiento a las orquídeas se les divide en dos grupos, simpodiales y monopodiales; las primeras se caracterizan por presentar retoños individuales (figura No 4 a), de los rizomas que crecen horizontalmente, desarrollan brotes o retoños laterales que dan origen a otros tallos y hojas que al madurar producen flores. Normalmente dichos tallos son reservorios de alimentos y se les denomina *pseudobulbos*. Por otro lado las orquídeas monopodiales (figura No 4 b), poseen un tallo central en constante crecimiento y únicamente en una sola dirección usualmente en forma vertical, el cual produce hojas alternas y las inflorescencias emergen entre las hojas por lo que se les denomina inflorescencias axilares.



a) Orquídea grande

Paphiopedilum híbrido



b) Orquídea miniatura

Lephantes archilae

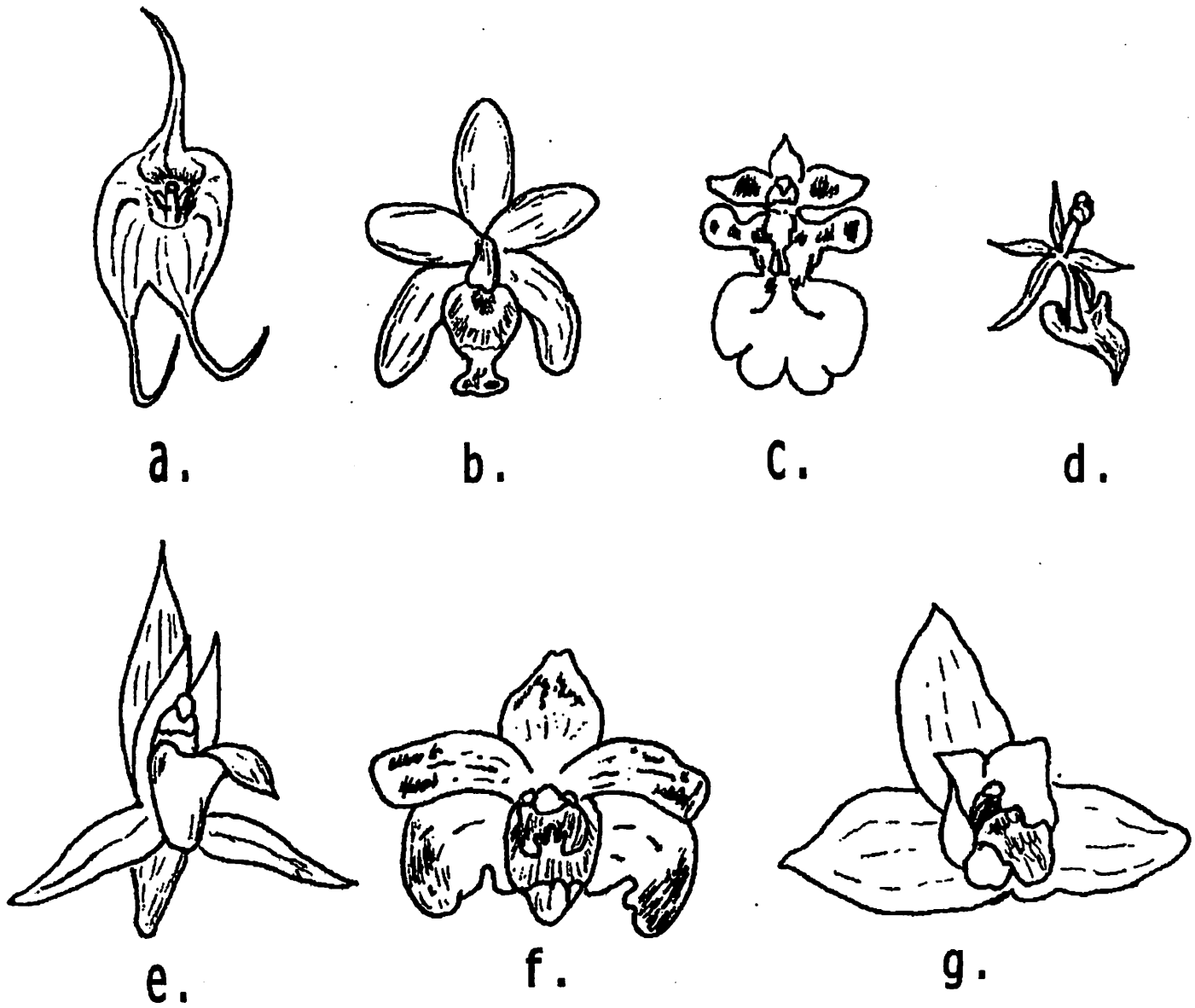


c) Diferentes colores en el
género *Cattleya*



d) diferentes colores en el
género *Phalaenopsis*

Figura 1 Diferentes tipos de orquídeas según su tamaño y color.



a) *Masdevallia*.

b) *Eriopsis biloba*.

c) *Oncidium cristagalli*.

d) *Sigmatostalix sp.*

e) *Maxillaria sp.*

f) *Chisis sp.*

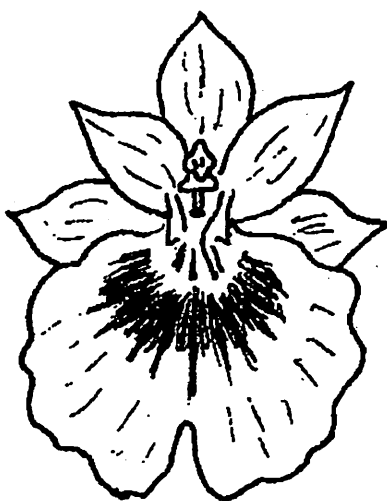
g) *Lycaste skinneri*.

Figura 2

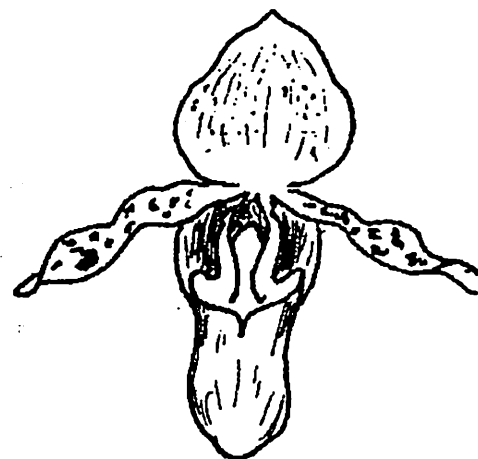
Diferentes tipos de flores.



h.



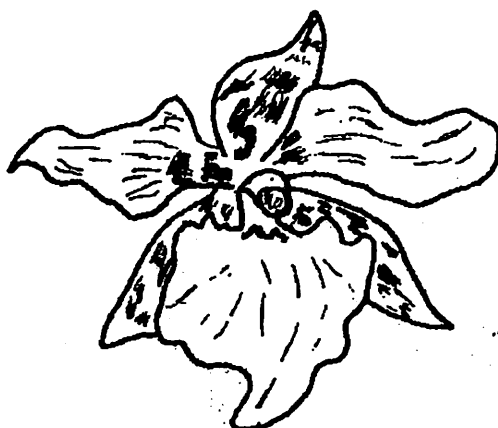
i.



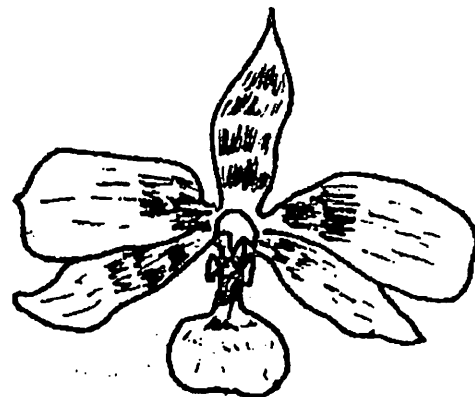
j.



k.



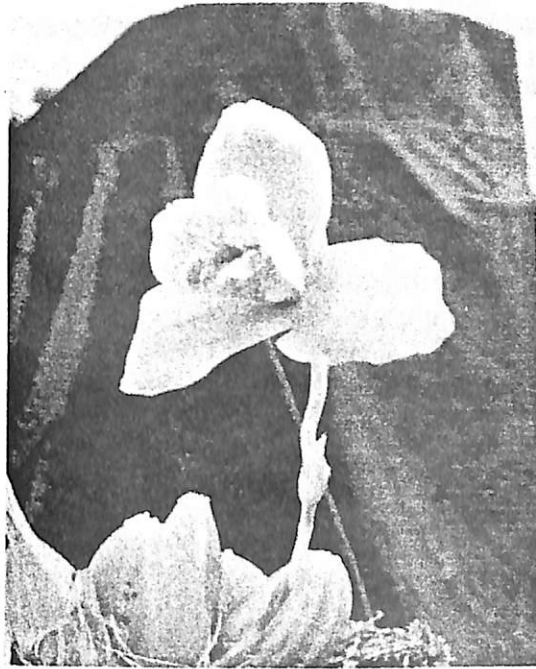
l.



m.

h) *Laelia sp.*j) *Paphiopedilum sp.*l) *Lemboglossum rossi.*i) *Miltonia*k) *Galeandra battemani.*m) *Roseoglossum williamsianum.*

Figura 3 Diferentes tipos de flores.



a) Crecimiento tipo SIMPODIAL.



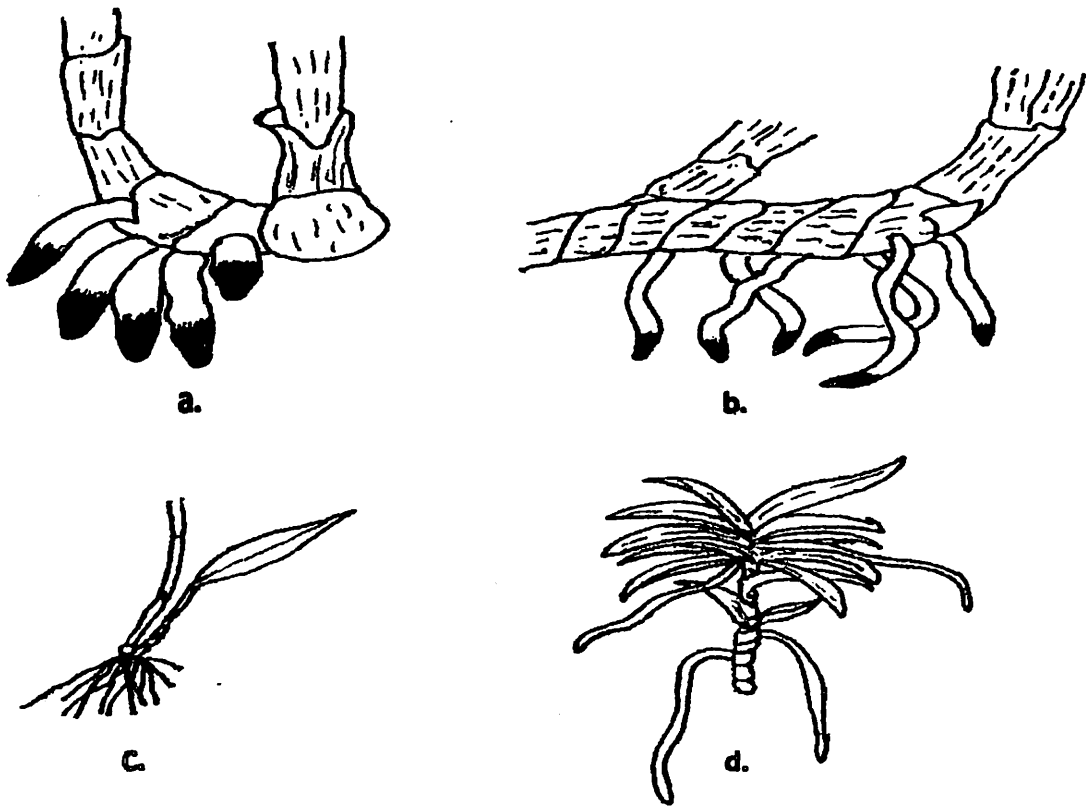
b) Crecimiento tipo MONOPODIAL

Figura 4 Diferentes tipos de orquídeas según su crecimiento.

3.1.2. PARTES DE LA PLANTA

La familia de las orquídeas debido a su gran número de especies presenta una gran variabilidad morfológica, característica que les permite adaptarse a una diversidad de ambientes.

A. Raíces: posee notables variaciones (figura 5) dependiendo del ambiente al cual se encuentren adaptadas, pero al igual que con el resto de plantas son empleadas para absorción de nutrientes y anclaje de la planta. La mayoría de las orquídeas tienen hábito epífita y a diferencia del resto, éstas desarrollan una serie de pelillos denominados "velamen" que les permite absorber agua y minerales del aire, agua de lluvia o de la superficie de troncos. También poseen la característica de que dichas raíces pueden fotosintetizar debido a esto se puede notar en la porción apical una coloración verdosa.



a) Raíces carnosas sin rizoma.

b) Raíces carnosas con rizoma.

c) Raíces fibrosas.

d) Raíces aéreas.

Figura 5 Diferentes tipos de raíces.

B. Tallos o Pseudobulbos: son de tamaño y formas muy variadas (Figura 6): ovalados, comprimidos, esféricos, alargados, cortos, lisos, etc. Poseen un solo entrenudo como en los géneros *Odontoglossum* o *Brassia* o bien varios entrenudos como en el género *Dendrobium*. Del ápice del pseudobulbo o de la parte media se originan una o varias hojas. Las inflorescencias se originan de diferentes partes, ya sea de la base, la parte media o el extremo apical.

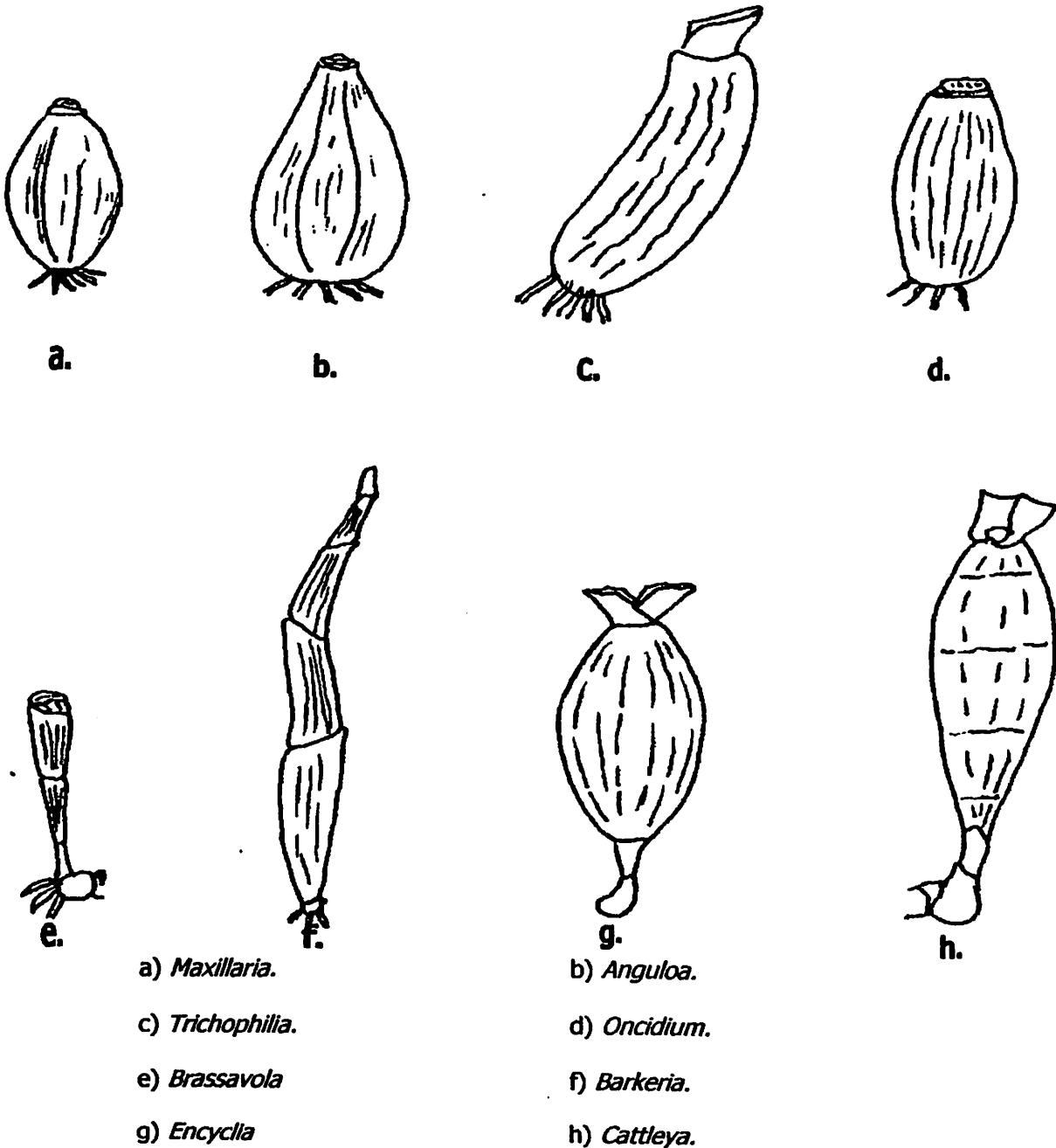
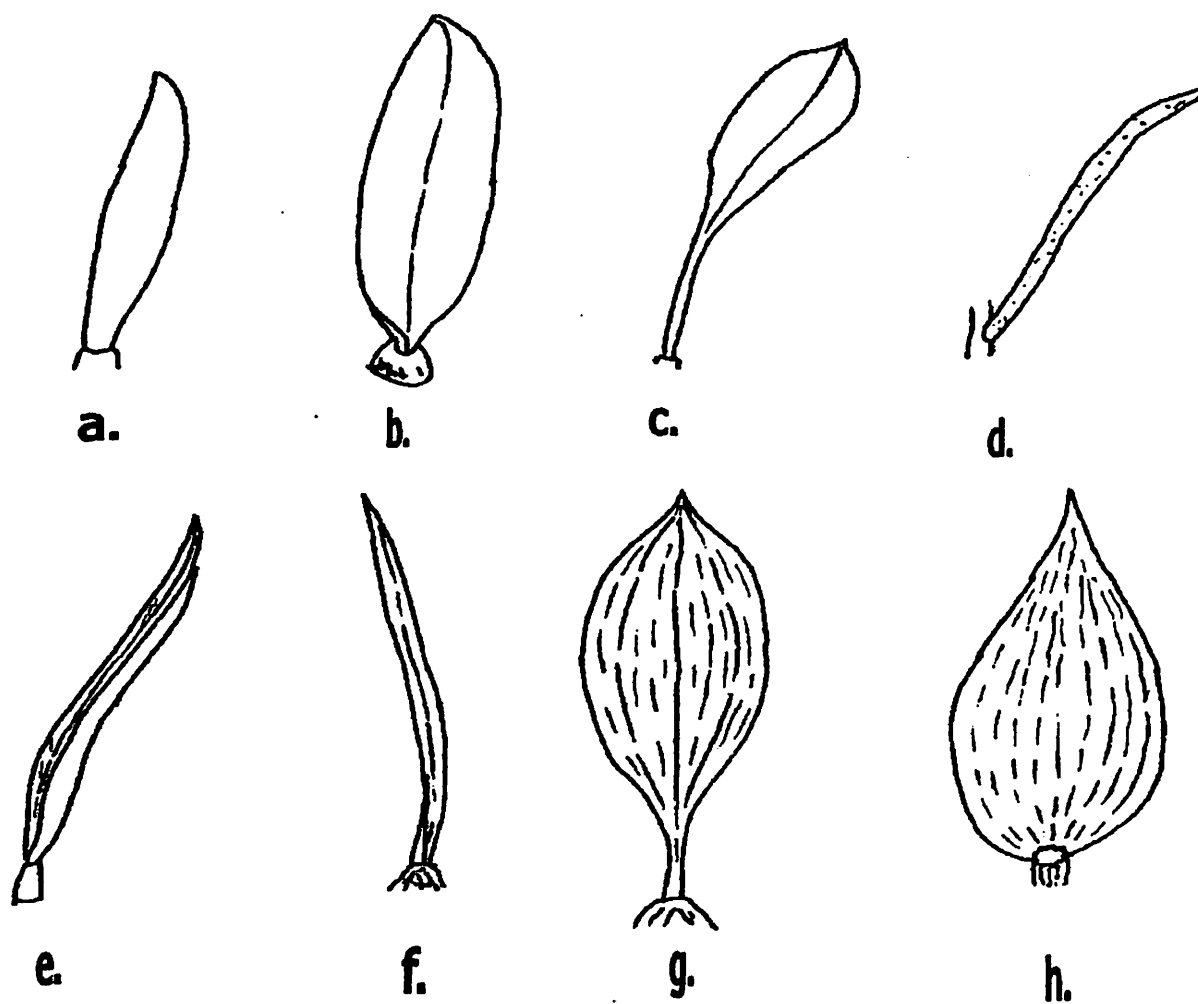


Figura 6 Diferentes tipos de tallos o pseudobulbos en orquídeas.

C. Hojas: las orquídeas poseen hojas simples con márgenes enteros y casi por regla general son angostas y alargadas (figura 7). Encontramos hojas membranosas y delgadas en las especies terrestres mientras que las epífitas tienen hojas gruesas, con cutícula gruesa y cerosa. También encontramos hojas cilíndricas en plantas de clima cálido característica que les ayuda a reducir la deshidratación y el sobrecalentamiento de la planta.



a) *Ornithocephalus*.

b) *Cattleya*.

c) *Masdevallia*.

d) *Vanda*.

e) *Brassavola*.

f) *Encyclia*.

g) *Stanhopea*.

h) *Sobralia*.

Figura 7 Diferentes tipos de hojas de las orquídeas.

D. La Flor: constituye la parte más atractiva de las orquídeas (figura 8). Se compone de: a) Sépalos: normalmente en estos la clorofila está ausente, conforman la funda del capullo y protegen la flor, al igual que con los pétalos sirven de órganos de atracción de polinizadores. b) Pétalos: se encuentran dentro de los sépalos como otra serie de segmentos, dos de ellos son denominados pétalos y el tercero *labelo o labio* usualmente es el más grande, complejo y vistoso y funciona al igual que los sépalos y pétalos para la atracción de polinizadores. c) Aparato reproductor: existe una gran diferencia entre las orquídeas y las flores de otras plantas a nivel del aparato reproductivo. Las flores de las orquídeas son bisexuales o perfectas, debido a que en cada una están presentes los órganos masculinos y femeninos. Se encuentran fusionados en una sola estructura denominada *columna* (figura 9), la cual en la parte inferior posee la parte receptiva del polen o superficie estigmática. En la parte superior se encuentra la antera con el polen, en la mayoría de los casos este se encuentra en forma compacta en cuerpos redondos y aplastados denominados *polinias*. Algunas están pegadas a una estructura alargada llamada *estípita* que en la base posee una sustancia pegajosa llamada *viscidio* que permite que el polen se adhiera al polinizador y pueda ser transportado a otra flor. Generalmente en la columna hay un apéndice denominado *rostellum* el cual separa la parte masculina de la femenina. En la base de la columna se encuentra el ovario el cual contiene los óvulos que al fertilizarse se convierten en las semillas. Existen excepciones como en el caso de los géneros *Catasetum* y *Cycnoches* las cuales presentan flores unisexuales.

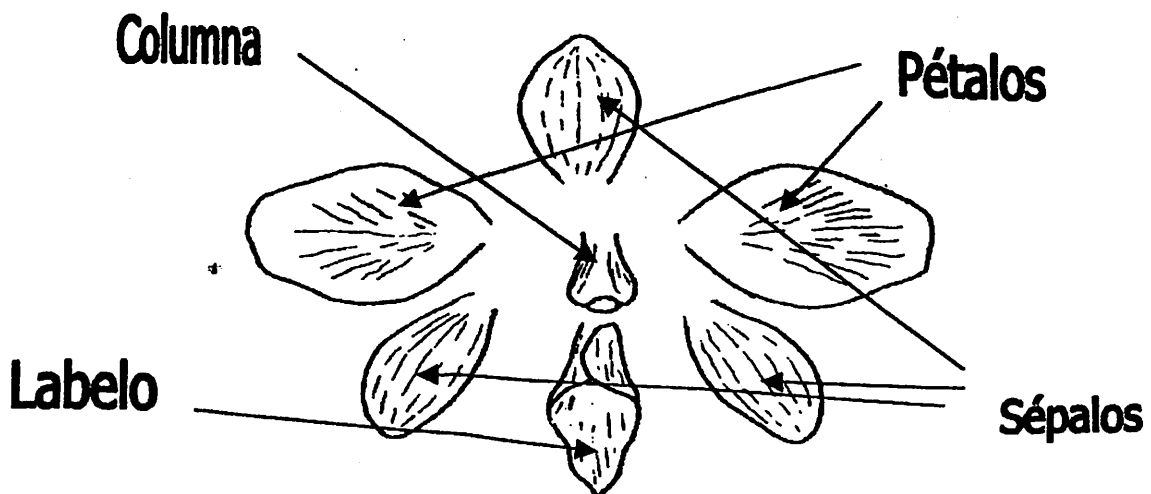
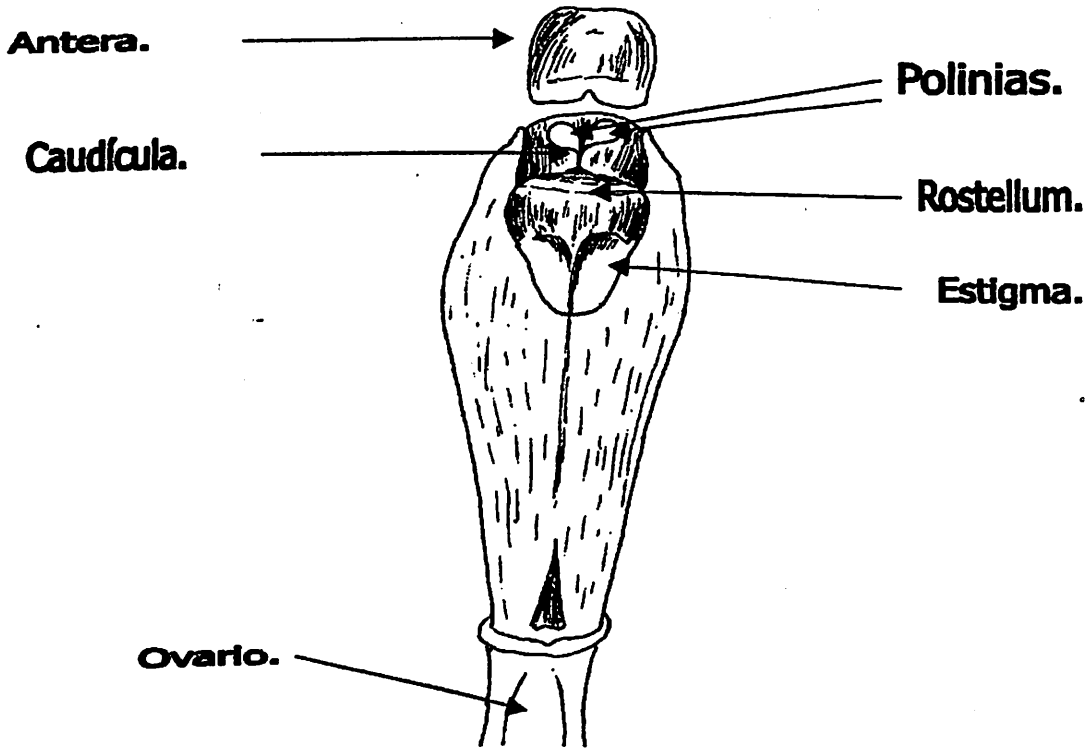


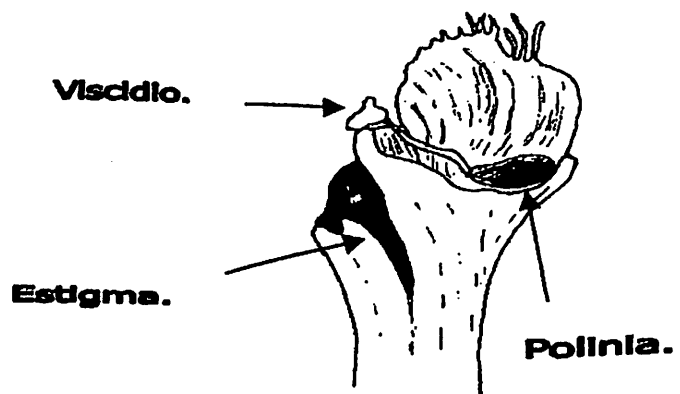
Figura 8 Partes de que consta una flor de orquídea.



a. Partes de la columna.



b. Vista frontal.



c. Corte longitudinal.

Figura 9 Partes del aparato reproductor de las orquídeas.

3.2. PROPAGACION DE LAS ORQUIDEAS

Existen tres métodos principales para incrementar la cantidad de plantas de orquídeas: por semilla; por división de plantas grandes o removiendo pseudobulbos y plántulas y por meristemas en cultivo *in-vitro*.

3.2.1. METODOS TRADICIONALES

A. Propagación sexual

Cultivar orquídeas a partir de semillas es una operación bastante delicada y compleja y aún más ambicioso el llegar a obtener plantas floreciendo a partir de semilla. Todo esto se resume en una operación en la que no será fácil tener éxito, es por eso que debe de existir siempre mucha paciencia y perseverancia.

Las semillas de las orquídeas son extremadamente pequeñas (figura 10) a manera de polvo, poseen un embrión rudimentario el cual no posee ningún tipo de reserva alimenticia que permita en un momento dado tener una fuente de energía para poder germinar y crecer.

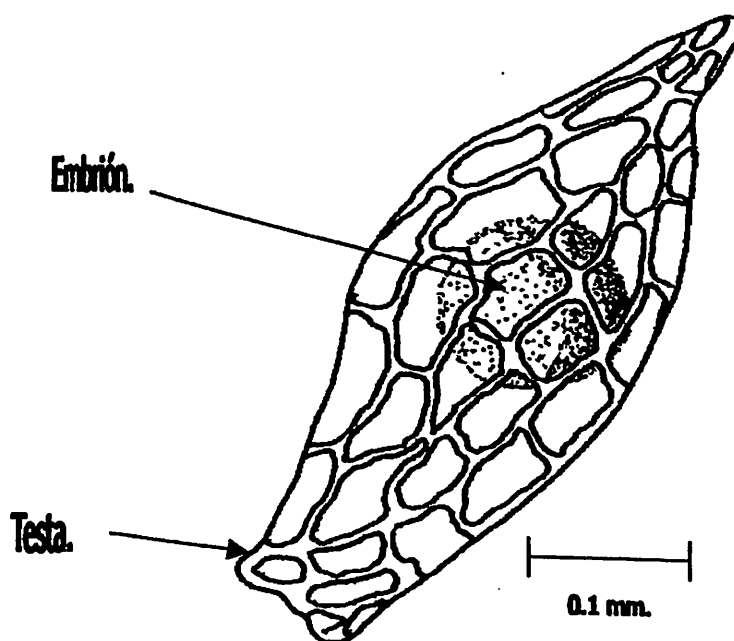


Figura 10 Semilla de *Lycaste skinneri* var. *Alba* (Monja Blanca).

Bajo condiciones naturales las semillas de orquídeas son liberadas en el momento de que las cápsulas abren y son esparcidas por acción del viento lejos de la planta madre. Estas pueden caer al suelo abierto, en el agua o bien encima de otras plantas pero dondequiera que se presenten las posibilidades de sobrevivir son escasas.

Existe una peculiar interrelación entre las orquídeas y hongos, un amplio conocimiento de esta relación es necesaria para entender los procesos de germinación de semillas de orquídeas. Las semillas sólo pueden germinar si entran en contacto con un hongo, siendo el más común el género *Rhizoctonia spp.*, llevando a cabo una coexistencia, cada uno se verá beneficiado de los alimentos producidos por el otro. Este proceso de beneficio mutuo es denominado *simbiosis*, y resulta de una situación en la cual la hifa extendida de la semilla de la orquídea produce excreciones que desdoblan compuestos orgánicos complejos a nutrientes simples, como carbohidratos y aminoácidos, los cuales son transportados al interior del hongo y se encuentran disponibles para que la semilla germine y el embrión crezca. El éxito de la simbiosis depende del más delicado balance entre el huésped y el invasor.

Las semillas de orquídeas también se pueden cultivar tomando en cuenta el sistema natural bajo el cual se propagan y una manera más fácil de realizarlo es dejando caer las semillas de la cápsula abierta sobre las raíces de otra orquídea en estado adulto o bien si se siembran en cultivos nutritivos en los cuales se han adicionado esporas de *Rhizoctonia*.

B. Propagación Asexual

En este sistema de propagación se incluyen un grupo de métodos tradicionales para otras plantas dentro de los cuales se incluyen los esquejes de tallo, esquejes de escapo floral (eje de inflorescencia), *keikis* y división. Dependiendo del tipo de crecimiento de la orquídea, como de su morfología así será el método que se emplee.

a. **Propagación por esquejes de escapo o ejes de inflorescencia:** Normalmente son pocos los géneros que se pueden propagar por medio de este método y son *Phaius* y *Phalaenopsis*. Además de esto el proceso es muy complicado debido a que se debe de cortar el eje floral cuando desaparece la última flor cortándose justo por debajo de donde estuvo la primera flor y cerca del pseudobulbo o base de la planta. Luego los ejes son colocados en recipientes conteniendo musgo húmedo, se recomienda que los extremos en los cuales se han hecho los cortes se deben cubrir con musgo también para evitar problemas de deshidratación. Luego de transcurridos aproximadamente 2 ó 3 meses empiezan a emerger plantas de los nudos, las cuales luego de comenzar a producir raíces son transplantadas a macetas.

b. **Propagación por esquejes de tallo vegetativo:** Este método se puede emplear para la propagación de orquídeas tanto *monopodiales* como *simpodiales*. Para las *monopodiales* se debe de tomar en cuenta que la especie a propagar debe tener determinada altura por medio de la cual se definirá el tamaño del esqueje, por ejemplo para el género *Vanda* (figura 11), los esquejes normalmente tienen una altura de 30 a 37 cm. con 12 hojas y presentan pocas raíces aéreas. Es importante mencionar que la gran mayoría de orquídeas *monopodiales* pueden propagarse por este método y el tamaño del esqueje oscila entre 7.5 a 10 cm. El procedimiento normal consiste en definir el punto de donde se obtendrá la nueva planta y con la ayuda de una tijera de podar se corta y se planta en una nueva maceta.

En el caso de las orquídeas *simpodiales* por ejemplo el género *Dendrobium* (figura 12), se procede a cortar el tallo y este se coloca en un recipiente conteniendo sustrato el cual después de un tiempo producirá nuevas plantas en los entrenudos.

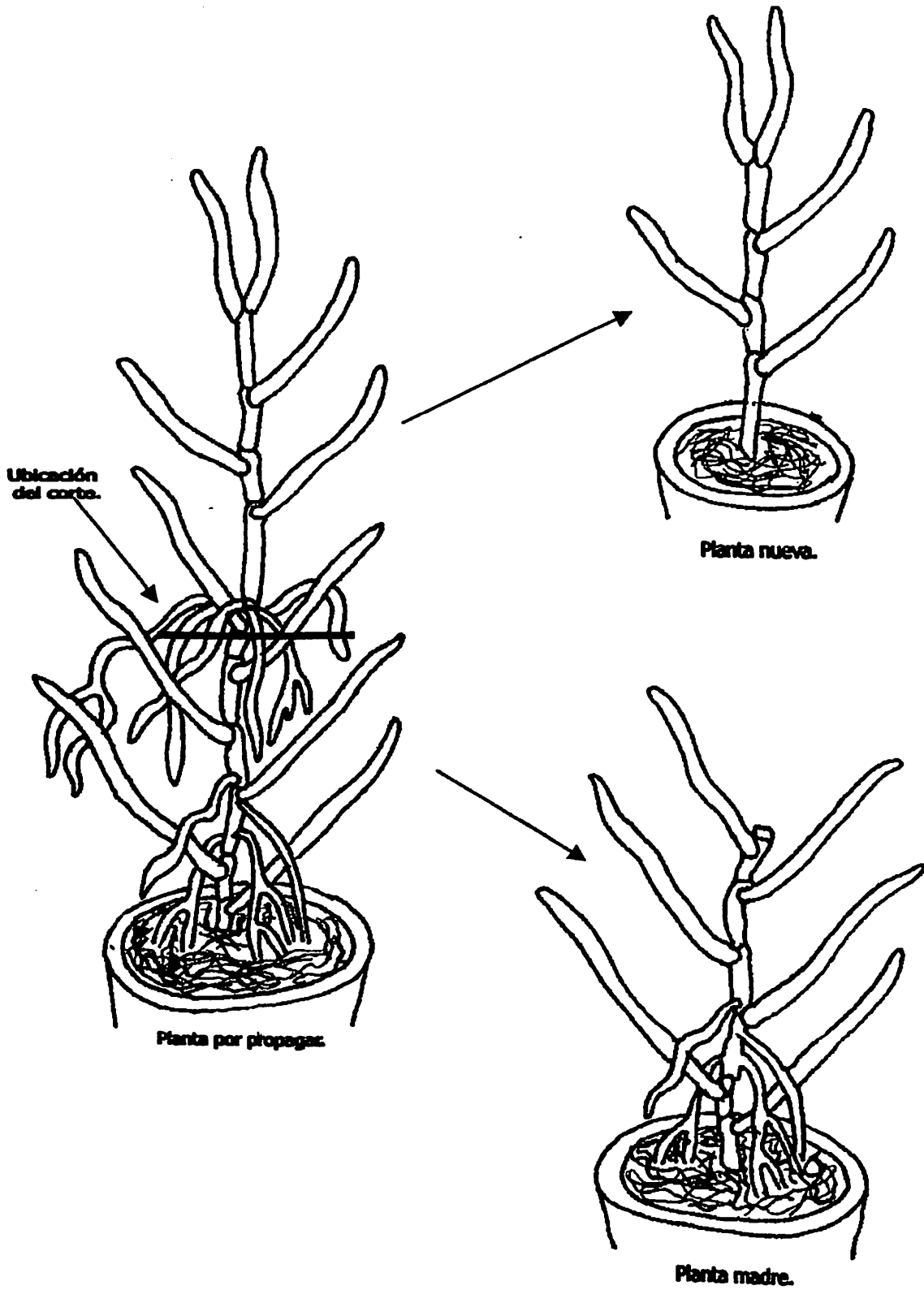


Figura 11 Propagación de una orquídea Monopodial (*Vanda sp*) por medio de esquejes de tallo.

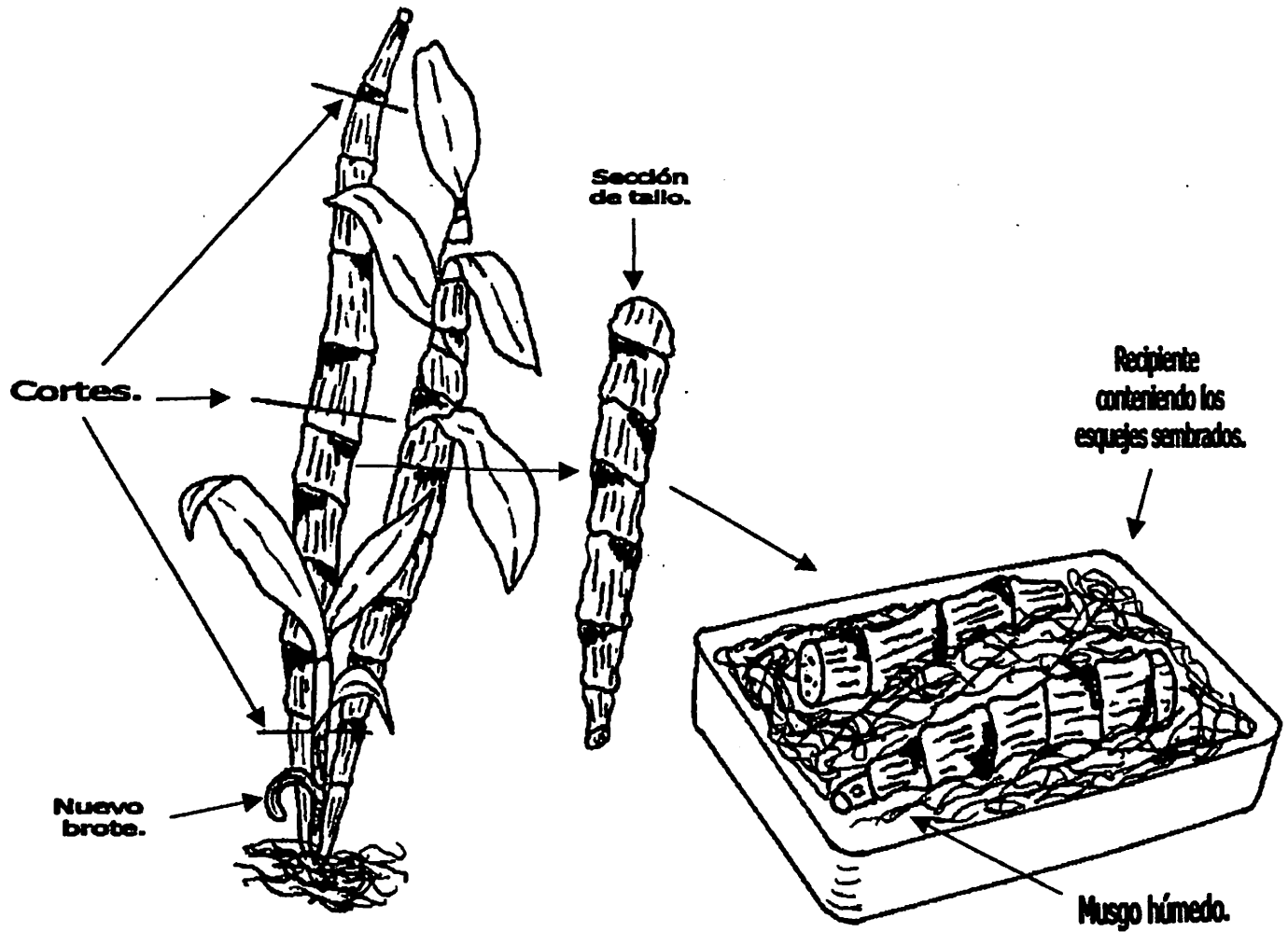
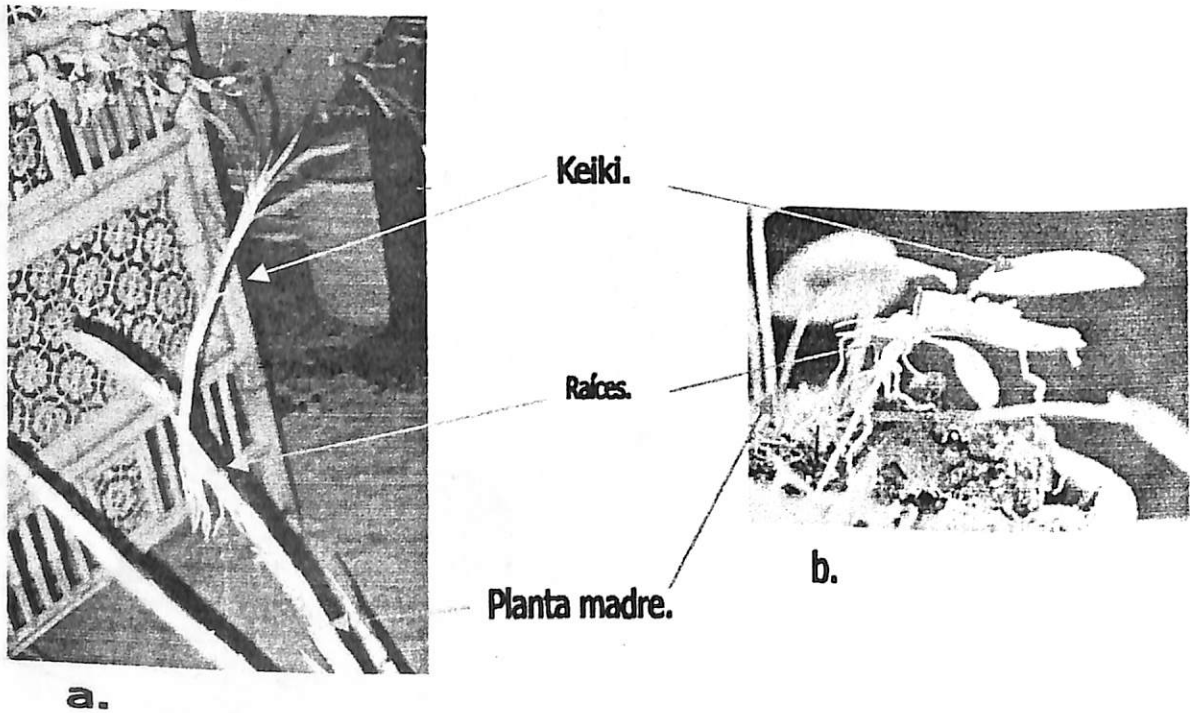


Figura 12 Propagación de una orquídea Simpodial (*Dendrobium sp.*) por medio de esquejes de tallo.

c. **Propagación por medio de keikis:** Estos se producen en orquídeas tanto simpodiales como monopodiales pero comúnmente se encuentran más en las primeras, y poseen la característica de ser plantas pequeñas que enraízan mientras están unidas a la planta madre (figura 13). Cuando tienen suficientes raíces pueden ser cortados de la planta madre y transferidos a una maceta. En algunos casos el keiki produce una inflorescencia y si se tienen los cuidados necesarios se puede separar de la planta madre y sembrar en una nueva maceta sin que la inflorescencia sufra algún daño.



a) *Dendrobium* tipo *Phalaenopsis*. b) *Pleurothallis* sp.

Figura 13 Keikis en dos diferentes géneros de orquídeas simpodiales.

d. **Propagación por división de la planta madre:** Las orquídeas con crecimiento simpodial pueden propagarse de esta manera, el procedimiento consiste en dividir la planta madre. Es importante mencionar que la planta madre debe de tener más de seis pseudobulbos. El momento indicado para realizar la división es cuando la planta deja de florecer, pues en este momento es cuando comienzan a emerger los hijos nuevos. Se debe tener una cuchilla o tijera debidamente esterilizada para podar, con la cual se hace un corte en medio de los pseudobulbos tercero y cuarto. El corte debe de ser a manera de cortar el rizoma que une dichos pseudobulbos (figura 14). Si la planta se ha extraído de la maceta se siembran las dos partes en macetas por separado, pero también se puede hacer el corte estando la planta en la maceta y los pseudobulbos más antiguos se trasladan a una nueva maceta y el resto de la planta permanece en la misma maceta.

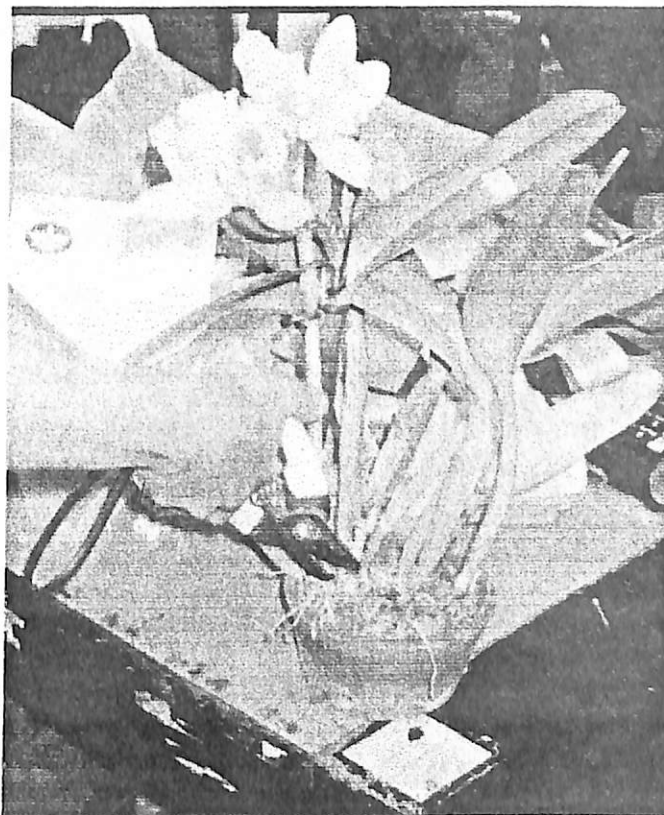


Figura 14 Procedimiento para la división correcta de una orquídea simpodial (*Cattleya*).

Es importante mencionar que todos los métodos que se describen en los párrafos anteriores son demasiado lentos y poco funcionales para la propagación masiva de las orquídeas principalmente para las que poseen valor comercial.

3.2.2 PROPAGACION *in-vitro*:

A diferencia de los métodos tradicionales para la propagación de orquídeas surge la propagación por medio de la técnica de cultivo de tejidos vegetales, específicamente la micropropagación, la cual proporciona una serie de ventajas por medio de las cuales se puede obtener una propagación masiva de materiales, principalmente orquídeas con alto valor comercial o bien materiales en peligro de extinción. Por este método se obtienen grandes cantidades de plantas para comercialización como ornamento y para obtención extractos de compuestos naturales (metabolitos secundarios) como en el caso de la vainilla. Es importante mencionar que se pueden propagar materiales desarrollando una multiplicación clonal o bien sembrando semilla lo cual permite mantener la variabilidad genética de determinada especie.

A. Propagación a partir de semilla: Las orquídeas forman parte de las pocas plantas que se propagan por medio de cultivo de tejidos utilizando semilla.

En el año de 1922 desarrollando investigación en la Universidad de Cornell, Louis Knudson (11), logró demostrar que las semillas de las orquídeas pueden germinar *in-vitro* si no está presente el hongo *Micorriza* para suplir las necesidades del embrión rudimentario. Esto lo logró incorporando al medio nutritivo artificial una fuente de carbono, en este caso se empleó sucrosa. Esta técnica actualmente se conoce como *germinación asimbiótica* y en la actualidad es la base para la propagación masiva en la industria de orquídeas a nivel mundial.

A este tipo de propagación también se le puede denominar *micropropagación sexual* de las orquídeas y no es más que la siembra de una manera aséptica, de las semillas en un medio de cultivo que permitirá mantener la variación genética. A diferencia de la propagación sexual que en condiciones naturales o métodos tradicionales se obtiene un porcentaje de germinación cercano al 5%, la propagación *in-vitro* permite obtener la germinación de casi el 100% de las semillas. El método permite propagar materiales híbridos que poseen alto valor comercial, propagar masivamente materiales que se encuentran en peligro de extinción, con lo que se obtiene plantas a un menor costo, lo que evitará que se siga depredando nuestra flora.

a. Siembra de cápsula cerrada: Se deben de obtener las cápsulas (figura 15) ya sea colectadas en el bosque o de colecciones privadas, dicha cápsula debe de poseer una madurez de alrededor del 60%, es decir que aún no ha ocurrido la dehiscencia; la manera más sencilla de detectarlo es cuando la cápsula empieza a cambiar de color verde a un verde amarillento. Es importante conocer el tiempo que tardan ciertas especies para lograr alcanzar

dicha madurez, lo que facilita que la persona que desarrolle la polinización controlada, conozca el momento en que debe de cosechar la cápsula.

Estando la cápsula cerrada la semilla permanece estéril. Si la cápsula no se almacena en condiciones adecuadas la siembra debe de hacerse en breve tiempo, ya que se corre el riesgo de que esta se abra o bien que pueda existir contaminación. Si la siembra no se realiza en breve tiempo se pueden almacenar en un recipiente hermético al cual se le coloca en la base una capa de unos 3 centímetros de Cloruro de Calcio, luego una capa de algodón y encima una capa de cartoncillo o cartón delgado, luego de esto se colocan las cápsulas debidamente identificadas y de preferencia colocarlas en tubos de ensayo o frascos pequeños con su debida tapadera (figura 16). Esto permite prolongar su vida sin que estas se abran y la semilla se contamine al entrar en contacto con el ambiente.

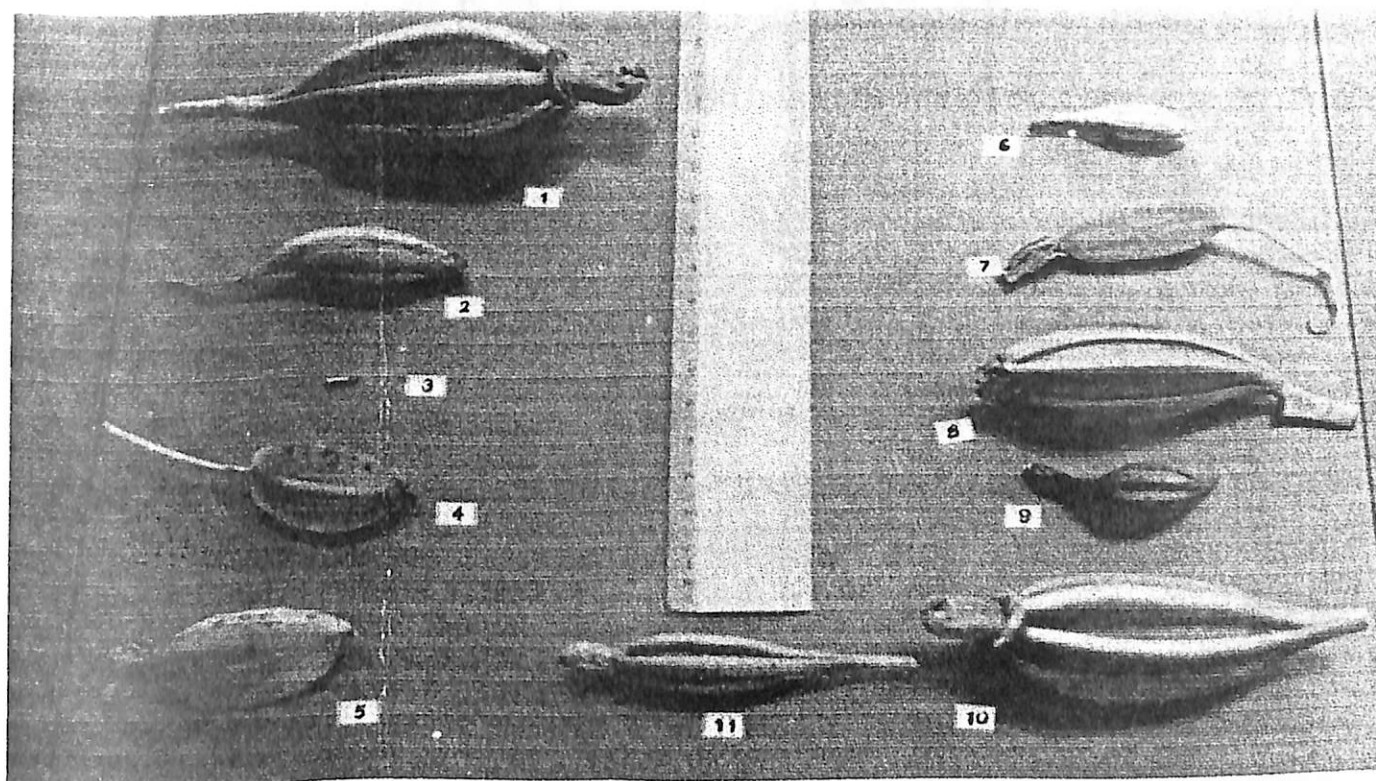


Figura 15 Diferentes tipos de cápsulas de la familia orchidaceae.

- | | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1) <i>Lycaste skinneri</i> var. <i>Alba</i> | 2) <i>Lemboglossum pulchelum.</i> | 3) <i>Stellis sp.</i> | 4) <i>Encyclia aromática.</i> |
| 5) <i>Encyclia radiata.</i> | 6) <i>Jackiniela gigantea.</i> | 7) <i>Encyclia sp.</i> | 8) <i>Encyclia baculus</i> |
| 9) <i>Encyclia alata.</i> | 10) <i>Lycaste guatemalensis.</i> | 11) <i>Lycaste cruenta.</i> | |

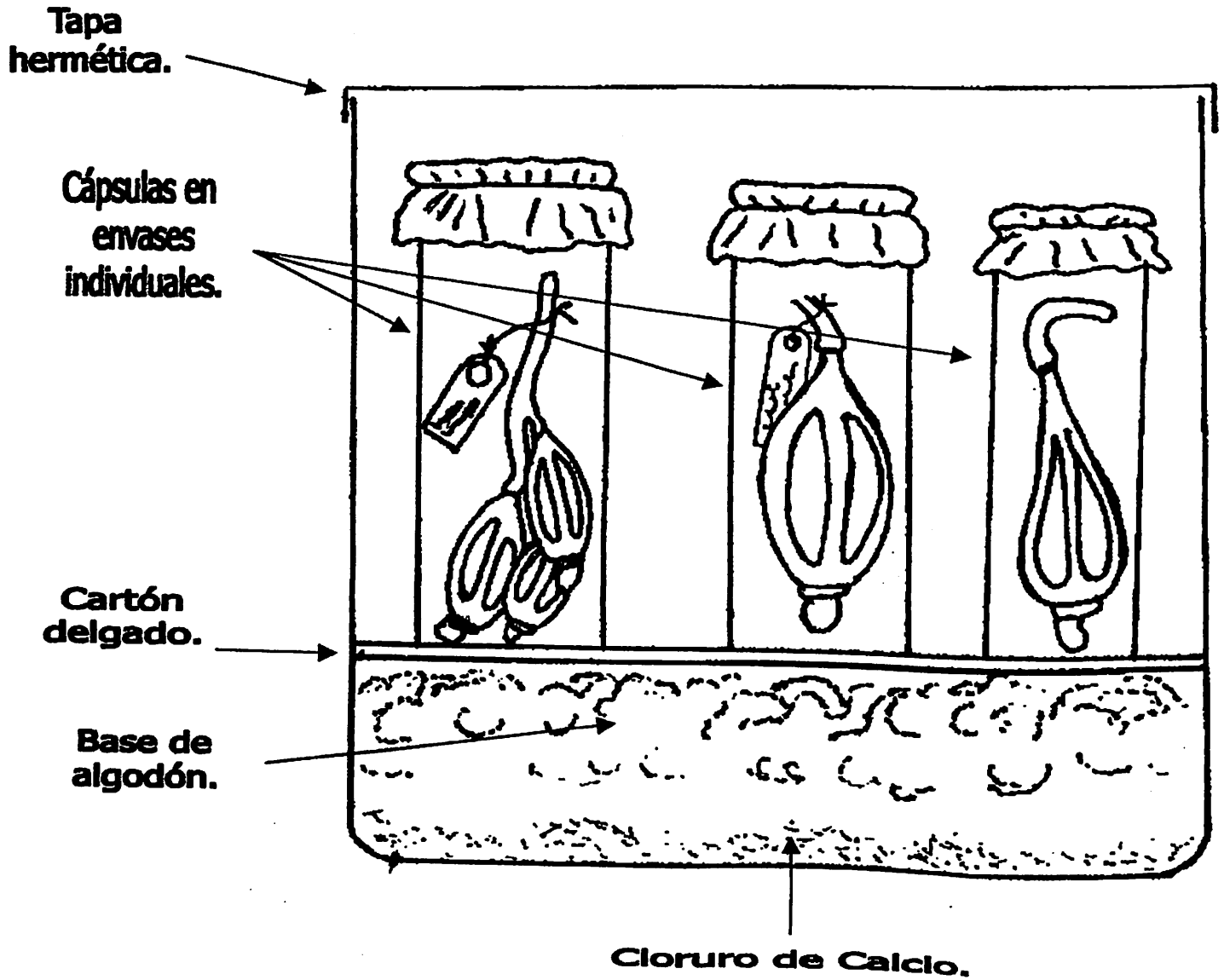


Figura 16 Almacenamiento de cápsulas de orquídeas cerradas.

i. Elaboración del medio de cultivo: Se preparan las soluciones madre (ver apéndice) evitando que estas precipiten y luego se mezclan en un recipiente conteniendo agua destilada estéril o bien agua desmineralizada. En el caso del azúcar u otros compuestos que se adiciona en cantidades grandes al medio de cultivo, no deben de prepararse en soluciones madre, sino que en el momento de la preparación del medio se pesan y aplican. Luego de esto se afora al volumen de medio que se desea preparar y se ajusta al pH y por último se mezcla el agente gelificante que puede ser agar, Phytigel®, Gelrite® o Gelcarin®. Se procede a calentar el medio para lograr disolver el agente gelificante, luego de esto se procede a verter el medio en los recipientes de cultivo, luego se tapan para proceder a esterilizar el medio con la ayuda de una autoclave de 15 a 20 minutos a 121° C y 1.1 kg/cm² de presión. El tiempo de esterilización dependerá del recipiente en el cual se vertió y del volumen de medio en dicho recipiente.

ii. Desinfección de la cápsula: Se cortan los extremos de la cápsula (figura 17) y se lava con detergente para eliminar cualquier tipo de impureza. Ya en condiciones asépticas, es decir dentro de la cámara de flujo laminar, se transfiere a una solución de etanol al 70% por 30 segundos y luego pasan a una solución de cloro que va del 2.5 al 15% dependiendo del tamaño de la cápsula. Se puede adicionar un agente surfactante como Tween 20 a razón de 2 a 3 gotas por litro de solución. Se realizan tres lavados con agua destilada estéril para eliminar los residuos del cloro. Finalmente se realiza un nuevo corte en los extremos para eliminar las partes quemadas por la solución de cloro.

iii. Siembra de la semilla: Colocar la cápsula sobre una caja de petri, vidrio o papel debidamente esterilizado, y con la ayuda de pinza y bisturí, se realiza un corte longitudinal de la cápsula, el cual permite que toda la semilla quede expuesta, y entonces con la ayuda de una espátula o bien con un bisturí se procede a tomar la semilla, la cual se distribuirá al golpear el instrumento en la boca del frasco que contiene el medio de cultivo (figura 17).

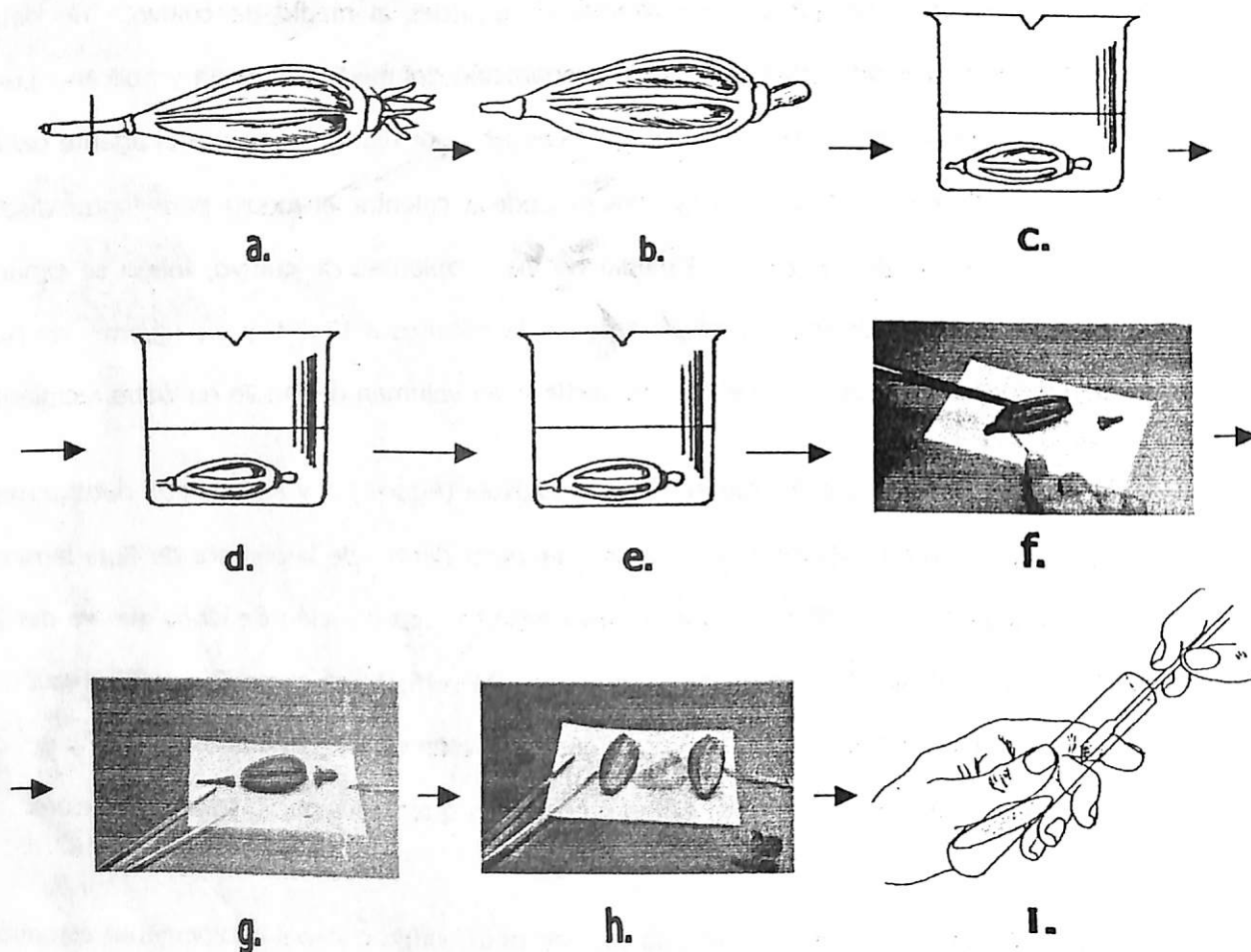


Figura 17 Desinfección y siembra de cápsula cerrada. a) Corte de pedúnculo y verticilos florales. b) Cápsula limpia y lavada con jabón. c) Etanol al 70% (30 segundos). d) Cloro 2.5 – 15% por 10 – 15 minutos. e) Tres lavados en agua destilada estéril. f) Corte de extremos. g) Cápsula con los extremos cortados. h) Cápsula partida longitudinalmente. i) Siembra de la semilla.

Es importante que el frasco empleado sea flameado junto con su respectiva tapa, antes y después de la siembra de la semilla. Se procede a la identificación de los recipientes de cultivo en donde se incluye un número correlativo, la fecha de siembra, un código o el nombre de la especie, etc.

iv. Condiciones de incubación: Los recipientes son transferidos al área de incubación en donde se colocarán en las estanterías bajo condiciones controladas. La temperatura del cuarto debe ser de aproximadamente 22° C con un fotoperíodo de 16 horas. Luego de transcurridos 2 ó 3 meses de la siembra, comenzarán a germinar las semillas y un mes después comenzarán a formarse los protocormos que finalmente darán origen a una nueva planta, (figura 18).

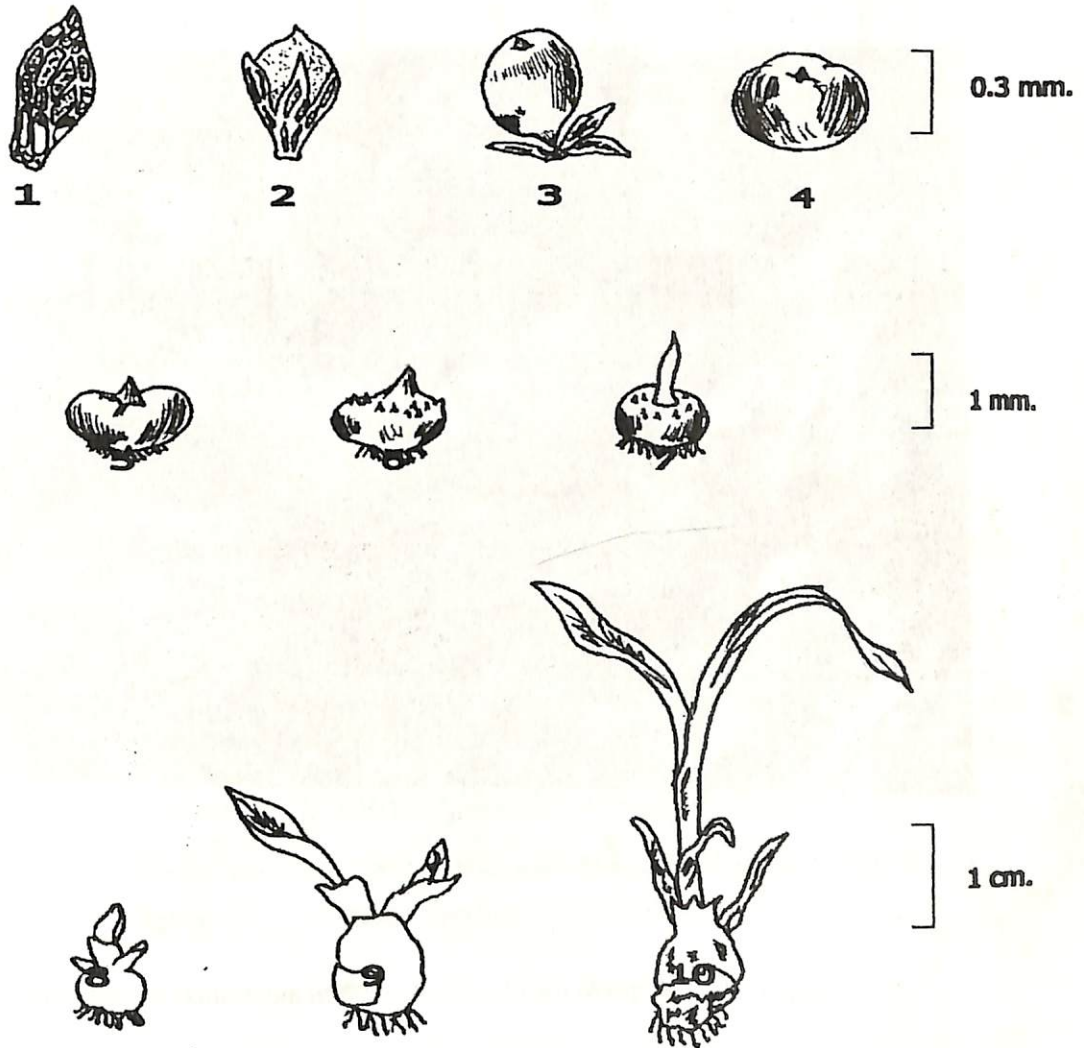


Figura 18 Secuencia de germinación de la semilla de orquídea. 1) Semilla con el embrión maduro. 2) Embrión rompiendo la testa. 3) Embrión desprendido de la testa. 4) Embrión engrosando. 5) Protocormo en formación. 6) Protocormo desarrollado. 7) Protocormo con raicillas y cotiledón. 8) Plántula en desarrollo. 9) Emisión de folíolos y raíces. 10) Plántula completa.

b. Siembra de cápsula abierta: Este procedimiento se realiza cuando las cápsulas por determinada circunstancia no pudieron ser almacenadas correctamente o bien maduraron en la planta madre y allí ocurrió la dehiscencia (figura 19). Si la cápsula liberó las semillas éstas también pueden ser almacenadas (figura 20) en condiciones similares al almacenamiento de las cápsulas sin abrir.

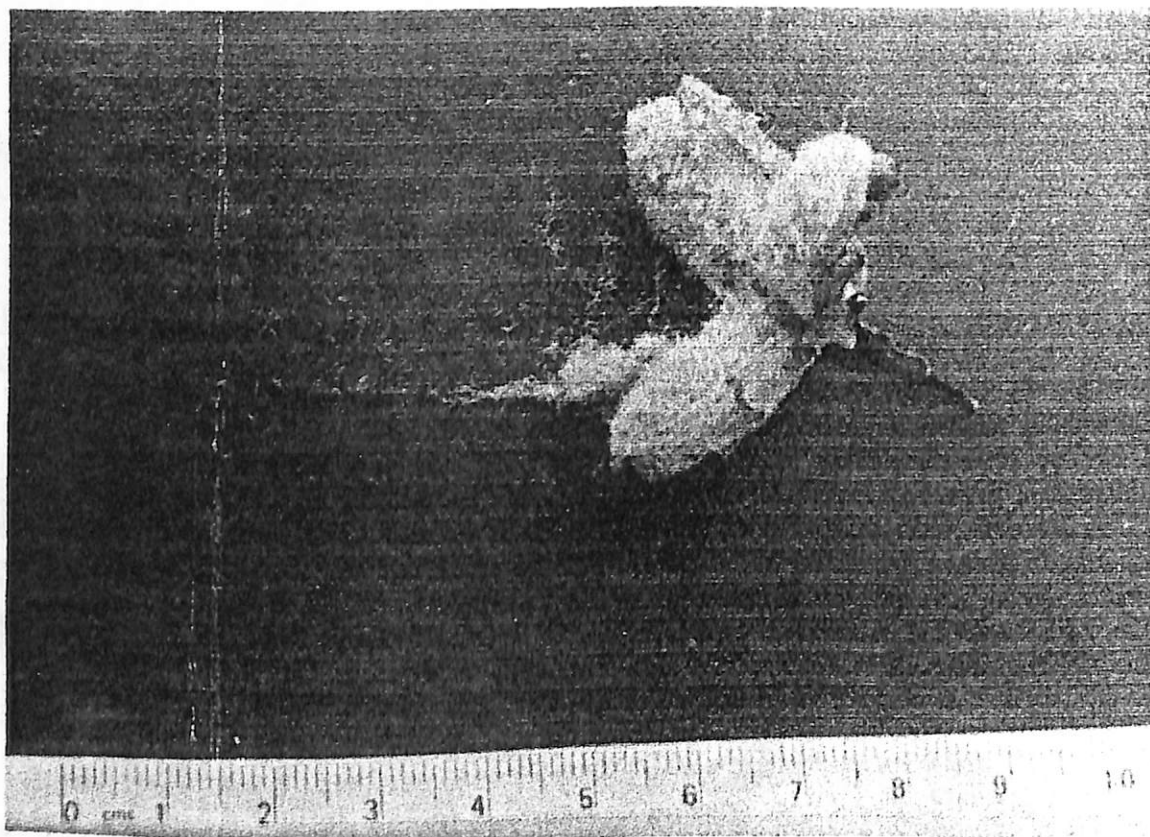


Figura 19 Cápsula de *Oncidium pusillum* mostrando dehiscencia.

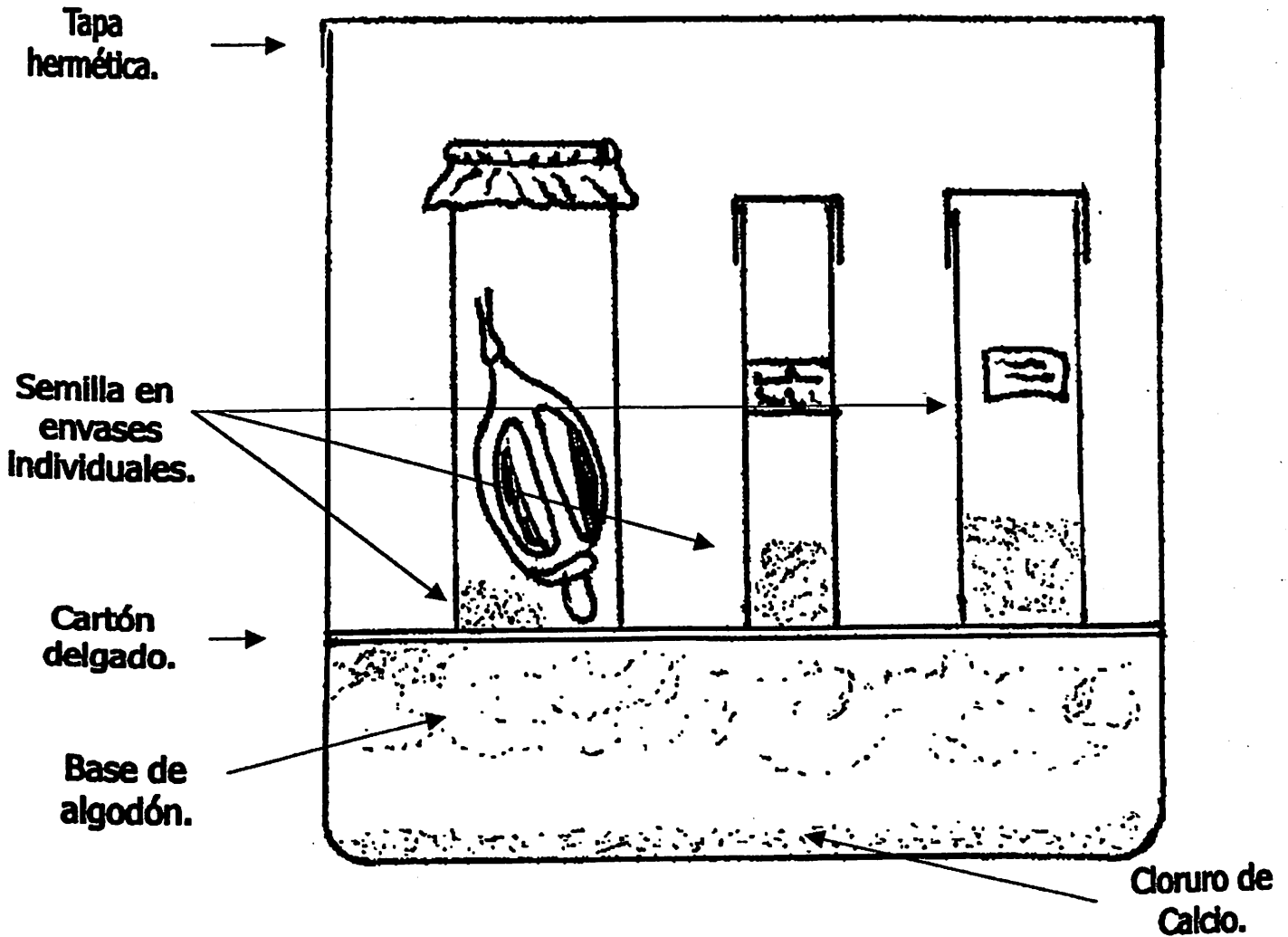


Figura 20 Almacenamiento de semilla de orquídeas.

Desde el momento en que la cápsula abre y permite el contacto de las semillas con el ambiente, asumimos que pueden estar contaminadas con esporas de hongos o bacterias, y de ser sembradas, todos los recipientes resultarían contaminados. Estas esporas de hongos muchas veces tienen una cubierta resistente a procesos de esterilización utilizando autoclave, y por otro lado las semillas no pueden ser esterilizadas utilizando el mismo procedimiento pues no sobrevivirían. Debido a esto las semillas deben ser sometidas a un proceso de esterilización eficiente para eliminar las esporas. Se pueden utilizar una gran cantidad de químicos para la esterilización de las semillas pero dentro de

estos se puede utilizar exitosamente hipoclorito de sodio proveniente de un producto de uso doméstico, de las marcas comerciales que comúnmente encontramos en los supermercados.

i. Elaboración del medio de cultivo: para la siembra de semilla de cápsula abierta se utiliza el mismo medio de cultivo que para cápsula cerrada y los procedimientos para lograr elaborarlo son los mismos que se detallan en el inciso anterior.

ii. Desinfección de la semilla: (figura 21) debido a que la semilla se encuentra descubierta se puede tomar una muestra y observarla al estereomicroscopio, si el embrión presenta forma redonda (figura 18 -1,2,3 y 4-), y coloración verde es indicativo del grado de madurez y viabilidad ideal para su siembra. Las semillas se colocan en un recipiente al cual se le agrega la solución de cloro comercial entre el 2 y el 10% v/v por un período de tiempo que puede ser de 3 a 15 minutos; a esta solución se le debe de aplicar el surfactante Tween 20 a razón de 2 a 3 gotas por litro de solución. El porcentaje de cloro y el tiempo de inmersión es variable ya que se debe de tomar en cuenta el tamaño y luego se debe considerar el tiempo que tiene la cápsula de haber abierto, para inferir sobre el estado de contaminación que esta pueda presentar.

Las semillas en la solución deben de ser agitadas para que la desinfección sea más efectiva, luego de transcurrido el tiempo se debe de decantar la solución con todo y semillas en un embudo al cual previamente se le ha colocado papel filtro, este proceso se realiza en la campana de flujo laminar. Luego se agrega agua destilada estéril casi al nivel de la parte alta del embudo con lo que se inicia la limpieza de las semillas de los residuos de cloro, debido a que las semillas pueden dañarse o morir por no eliminar los residuos del desinfectante. Este procedimiento se debe de repetir por tres veces consecutivas cada vez que el agua aplicada termine de pasar a través del papel filtro colocado en el embudo, para garantizar que las semillas desinfectadas estén libres de residuos de cloro.

iii. Siembra de la semilla: (figura 21) la semilla se puede sembrar de dos maneras, la primera es utilizando tal como en el inciso anterior, una espátula, un bisturí o bien una varilla de vidrio. Se toma un grupo de semillas, que al contacto con el agua se adhieren fácilmente a cualquiera de estos instrumentos y con mucho cuidado se acerca al medio de cultivo para colocar la semilla sobre la superficie de éste. La otra forma más común es transferir la semilla a otro recipiente y agregarle un poco de agua destilada estéril y luego con la ayuda de un gotero debidamente

esterilizado se succionan las semillas en suspensión y se van sembrando en a la superficie del medio de cultivo. Se debe tomar en cuenta el flameo de los recipientes que contienen el medio y sus tapaderas antes y después de hacer las siembras. Los frascos conteniendo la semilla sembrada deben de identificarse debidamente como se indica en la metodología para cápsulas cerradas.

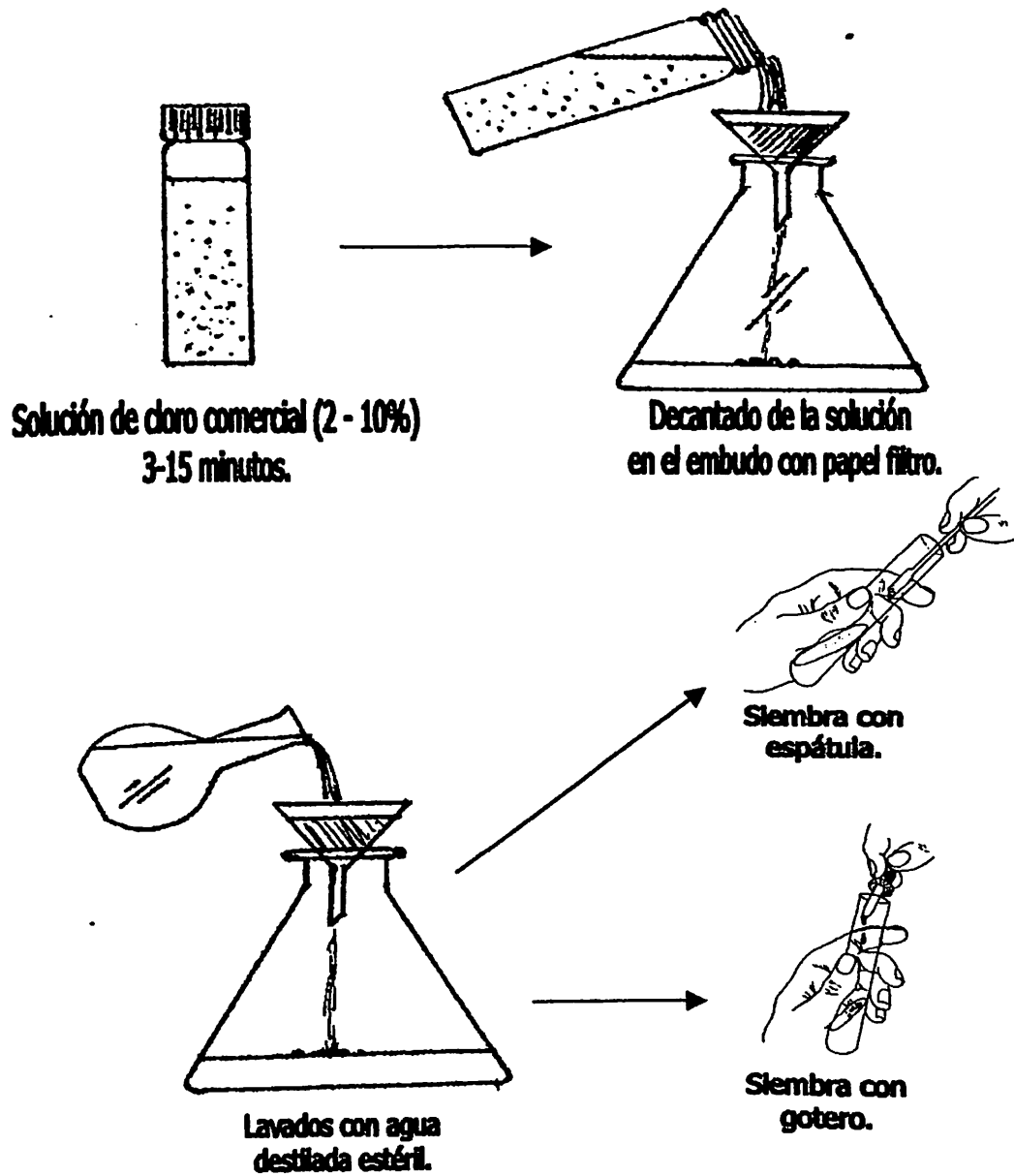


Figura 21 Siembra de semilla a partir de cápsulas abiertas.

iv. Condiciones de cultivo: al igual que con la semilla sembrada de cápsula cerrada, los recipientes son transferidos al área de incubación en donde se colocan en las estanterías bajo condiciones controladas. La temperatura del cuarto debe ser de aproximadamente 22° C con un fotoperíodo de 16 horas. El tiempo para la germinación de las semillas es de 2 a 3 meses después de realizada la siembra.

c. Días a la geminación: el tiempo que tardan las semillas de orquídeas en germinar es variable, y muchas veces el tiempo varía dentro de un mismo género. En la tabla 1 se detalla el tiempo en días para la germinación de algunas especies e híbridos, así también el tiempo que debe de transcurrir a partir de la siembra para que se inicie la formación de protocormos que den origen a las plantas de orquídeas.

Tabla 1 Días a la germinación y formación de protocormos de semillas en orquídeas.

Especie	Días a la germinación	Días a la formación de protocormos.
<i>Brassia girundiana</i>	11	58
<i>Brassia grandiflora</i>	21	60
<i>Chisis sp.</i>	60	62
<i>Encyclia baculus</i>	20	54
<i>Encyclia radiata</i>	12	19
<i>Lacaena sp.</i>	28	75
<i>Lyc.deppei x Anguloa sp.</i>	55	70
<i>Lycaste deppei</i>	56	80
<i>Lycaste guatemalensis</i>	54	70
<i>Lycaste skinneri</i>	42	56
<i>Lycaste skinneri var. Alba</i>	55	60
<i>Maxillaria sp.</i>	30	61
<i>Stanhopea oculata</i>	24	35

Fuente: investigación personal.

d. Tiempo de maduración de cápsulas: el tiempo que debe de transcurrir para la madurez de una cápsula, es decir para poder cosecharla para su siembra es variable según la especie o género de orquídea y puede ocurrir de 2 a 3 meses como en *Pleurothallis* o *Lephanthes* o bien hasta 9 meses como en *Lycaste skinneri*. En la Tabla 2 se detallan los períodos de tiempo para madurez de cápsulas de algunas especies de orquídeas a las cuales se les ha llevado un control luego de haberse efectuado la polinización.

Tabla 2 Tiempo de cosecha para cápsulas de algunas especies de orquídeas, días después de la polinización.

Especie.	Días después de la polinización.
<i>Angraecum sp.</i>	150
<i>Barkeria skinneri</i>	100
<i>Bulbophyllum sp.</i>	90
<i>Calanthe rosea</i>	120
<i>Cattleya skinneri</i>	270
<i>Cattleya aurantiaca</i>	120 - 140
<i>Cymbidium sp.</i>	210 - 270
<i>Cypripedium sp</i>	100 - 110
<i>Dendrobium phalaenopsis</i>	150
<i>Epidendrum sp</i>	120
<i>Laelia sp.</i>	120 - 170
<i>Lephanthes spp.</i>	60 - 90
<i>Lycaste guatemalensis</i>	240 - 270
<i>Lycaste skinneri var. Alba</i>	270
<i>Masdevallia sp.</i>	200
<i>Miltonia spectabilis</i>	110
<i>Odontoglossum</i>	210
<i>Oncidium spp.</i>	120 - 210
<i>Paphiopedilum</i>	300
<i>Phalaenopsis sp.</i>	120
<i>Stanhopea</i>	210
<i>Vanda teres</i>	180

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje de Costa Rica (INA).

B. Propagación asexual a partir de yemas: el empleo de esta técnica tiene como objetivo obtener plantas libres de patógenos principalmente de problemas ocasionados por virus así como también la propagación masiva de ciertos clones de los cuales existen muy pocos materiales y que tienen alto valor comercial o bien que se encuentren en peligro de extinción. También se le puede denominar micropropagación asexual y para poder llevarla a cabo se deben de utilizar diferentes tipos de explantes dependiendo del tipo de crecimiento que presenten las orquídeas o bien de la complejidad de su propagación por otros métodos.

La propagación asexual *in-vitro* de orquídeas además de la limpieza y pureza de los materiales, garantiza también la uniformidad genética.

Dentro de los explantes empleados para la propagación de orquídeas tenemos las yemas ya sea apicales y/o laterales, las secciones de nudos, los pedúnculos florales, que son los que comúnmente se emplean por los resultados obtenidos en corto tiempo.

a. Propagación por yemas apicales y/o laterales: La yema constituye un punto de crecimiento formado por un conjunto de células meristemáticas en constante división, situación que favorece el crecimiento en corto tiempo. Este tipo de yema se obtiene de un hijo nuevo, y en la base de esta estructura se encontrarán yemas laterales lo que permite obtener varios meristemas para la siembra. Es importante mencionar que si únicamente se tiene un ejemplar de la orquídea, no es recomendable la utilización de esta técnica porque puede representar el sacrificar o perder dicha planta. Si empleamos esta técnica bajo las condiciones estériles recomendadas podemos llegar a tener grandes cantidades de plantas genéticamente iguales, aunque por la utilización de hormonas se puede inducir a mutaciones. Para garantizar que dichos materiales no presentarán variaciones, se recomienda reproducir alrededor de 10,000 plantas a partir de un meristemo, como máximo.

i. Desinfección: se selecciona un brote o hijo nuevo el cual debe estar sano y vigoroso, con una altura de 3 a 10 cm. y con la ayuda de un cuchillo con bastante filo o bien con un bisturí debidamente desinfectado se debe de separar el brote de la planta madre realizando un corte lo más cercano posible a la base (figura 22). Si se trata de una planta en la cual se observa bien el rizoma entonces hacer el corte en éste. Si la planta posee hojas grandes, entonces se procede a eliminar las mismas. El explante se lava con abundante agua y jabón preferiblemente detergente antibacterial, para luego colocarlo en una solución de cloro comercial al 10% agregando Tween 20 a razón de 2 ó 3 gotas por litro. Luego se introduce a la cámara de flujo laminar y después de transcurridos 10 ó 15 minutos se procede a efectuar un lavado con agua destilada estéril.

Se procede a eliminar dos hojas más y se vuelve a colocar el explante en una solución de cloro comercial al 5% con Tween 20 por un período de 5 a 8 minutos y luego de esto se procede a lavar el explante tres veces con agua destilada estéril. Con la ayuda de un estereoscopio se procede a obtener la yema de aproximadamente 2 mm.

ii. Siembra: Luego de obtener la yema, con la ayuda de una espátula delgada o bien con un bisturí de punta fina, se procede a la siembra (figura 22) en el medio de cultivo, el cual puede ser el medio basal Murashige & Skoog o bien un medio recomendado específicamente para la especie o variedad que se esté trabajando.

iii. Condiciones de cultivo: El material sembrado, luego de ser identificado se transfiere al área de incubación en donde permanecerá con un fotoperíodo de 16 horas, a una temperatura promedio de 26° C, en donde se llevarán los controles respectivos. Si el material libera fenoles, se detecta fácilmente solo con observar si el material o la parte del medio de cultivo que está en contacto con el explante se torna de una coloración café. Al explante se le debe de renovar el medio de cultivo hasta que inicie la formación de yemas laterales, que luego podrán ser multiplicadas para lograr los incrementos deseados.

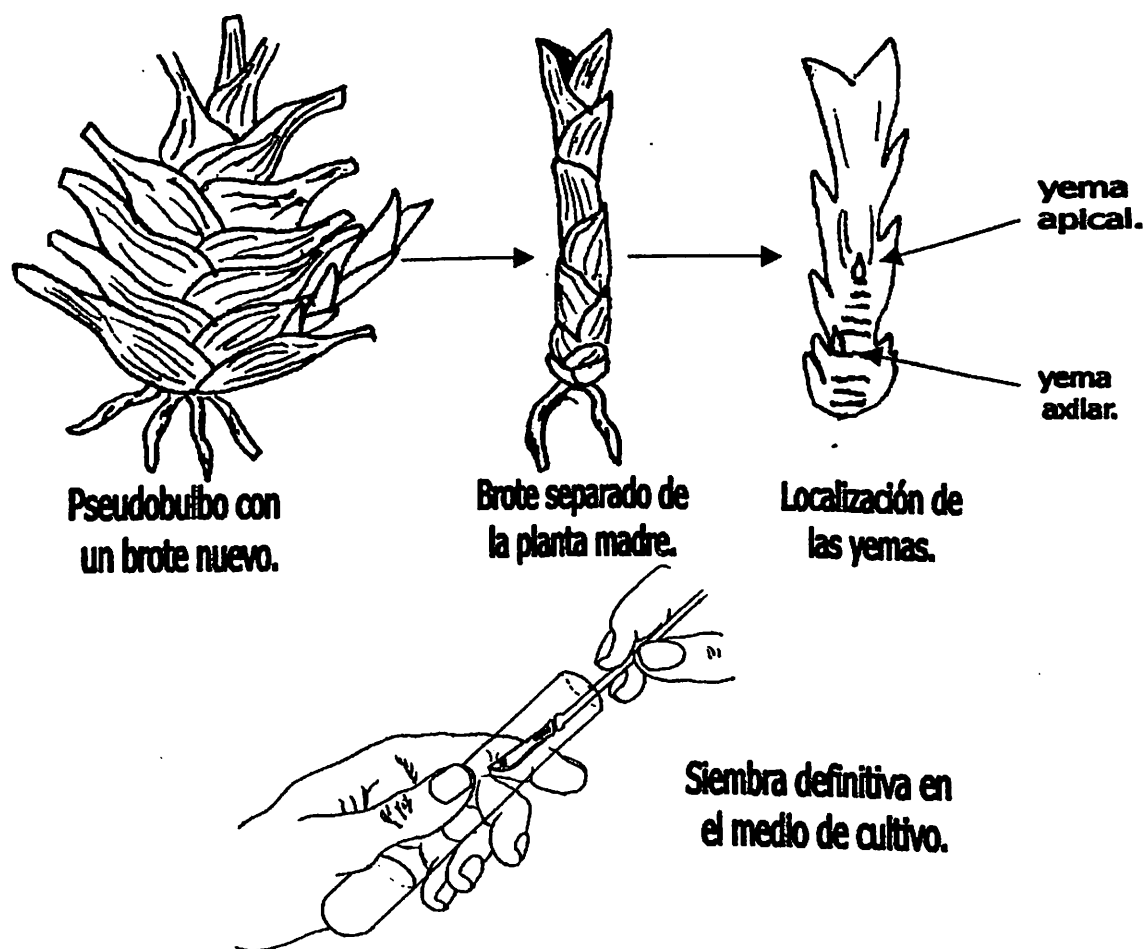


Figura 22 Siembra de yemas de *Cymbidium*.

b. Propagación por secciones de nudos: Este tipo de explante se utiliza para la propagación del género *Dendrobium*. Dicho género presenta dentro de su morfología pseudobulbos delgados y alargados en los cuales se pueden observar varios nudos y entrenudos (figura 23). En cada uno de los nudos existe una yema latente la cual puede ser estimulada para obtener de ella muchas plantas más.

i. Desinfección: Para obtener los explantes se debe de cortar un tallo de aproximadamente 6 a 8 cm. de longitud, el cual se sumerge en una solución de fungicida a razón de un gramo por litro. El tratamiento se realiza por espacio de una hora y luego se procede a realizar un lavado con agua y jabón, de preferencia antibacterial.

El tallo debidamente lavado es introducido a la cámara de flujo laminar en donde se le hace una inmersión en alcohol al 70% por 30 segundos, luego se coloca en una solución de cloro comercial al 50% por un período de 15 minutos. Luego de transcurrido este tiempo se procede a realizar tres enjuagues con agua destilada estéril.

El material nuevamente es colocado en una solución desinfectante de cloro comercial al 20% por un período de 3 minutos y después se procede nuevamente a realizar tres enjuagues con agua destilada estéril.

ii. Siembra: ya teniendo el tallo desinfectado se procede a seccionarlo, las secciones deben tener una longitud aproximada de 1 a 1.5 cm. las cuales son sembradas en el recipiente conteniendo el medio de cultivo Knop's sin agar (Cuadro 13A).

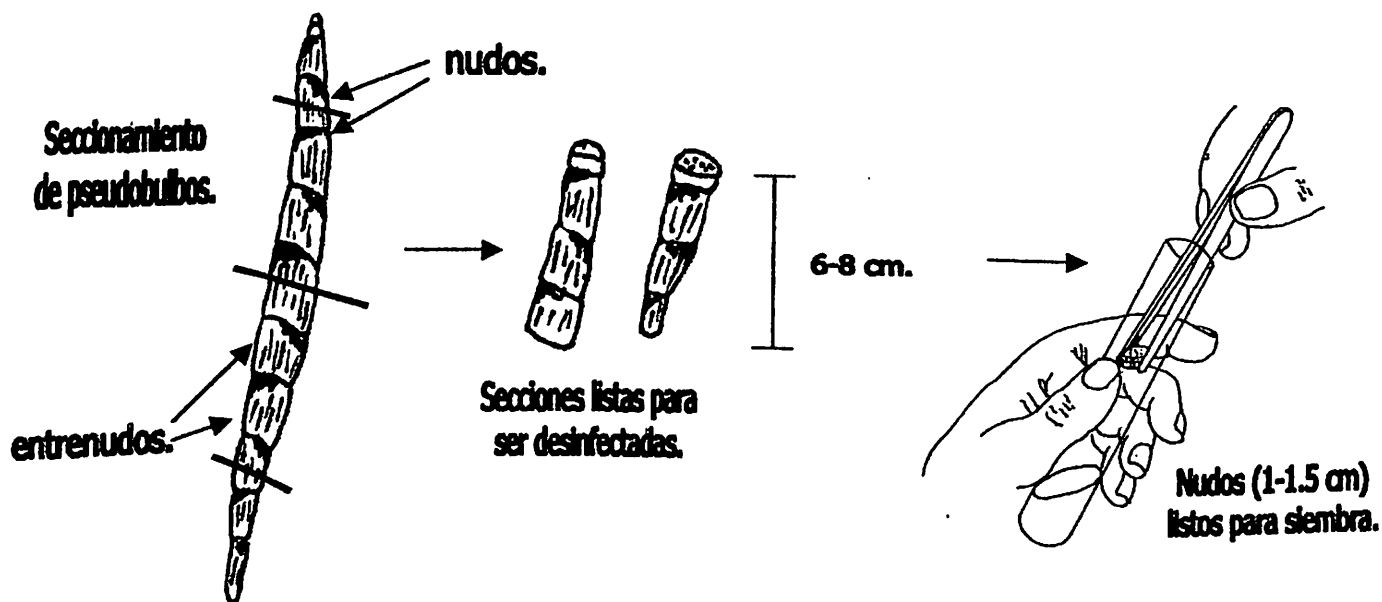


Figura 23 Siembra de nudos de *Dendrobium*.

iii. Condiciones de cultivo: Ya sembradas las secciones en el medio líquido, los cultivos son transferidos al área de crecimiento con un fotoperíodo de 16 horas y una temperatura entre 24 y 26° C. Bajo estas condiciones los cultivos permanecen por cuatro días y después son transferidos a medio fresco con las mismas características pero en estado sólido en donde permanecen por un lapso de 2 meses, si dentro de este tiempo se presentan problemas de

oxidación se debe de realizar subcultivos a medios frescos . Transcurrido este tiempo, si no existen problemas de contaminación los explantes comienzan a formar protocormos, el explante tiene que ser seccionado en cuatro partes iguales las cuales son sembradas en medio líquido nuevamente por cuatro días para volver a medio sólido, en donde al mes de transferido comienza la inducción múltiple de brotes.

c. Propagación utilizando el pedúnculo floral: El grupo de orquídeas con crecimiento monopodial presentan mucho problema para su propagación por medio de las dos técnicas anteriormente descritas, debido a que solamente poseen un meristemo apical y su utilización implica el sacrificio de la planta madre. Es por eso que se ha desarrollado otra técnica en el género *Phalaenopsis*, la cual permite cultivar *in-vitro* los pedúnculos florales ya sean los jóvenes (figura 24) que aún no han florecido o bien los maduros (figura 25) que han dejado de florecer.

i. Desinfección:

a) Pedúnculo floral joven: Consiste en un eje floral con 4 ó 5 nudos de una planta que todavía no ha empezado a florecer, la cantidad de nudos se cuentan de la parte superior del *escapo* hacia abajo. El eje se lava con agua y jabón para eliminar cualquier tipo de suciedad superficial, después se introduce a la cámara de flujo laminar en donde se coloca en una solución de alcohol al 70% por 2 ó 3 minutos, luego se transfiere a una solución de cloro comercial al 20% a la cual se le agregan unas gotas de Tween 20. En esta solución el tejido permanecerá por un período de 20 a 25 minutos. Después se realizan tres lavados con agua destilada estéril. Luego el material es cortado en secciones de aproximadamente 1 cm., ya sean nudos o entrenudos, son colocados en una solución de cisteína-HCl (100 mg/l) por 10 minutos para finalmente proceder a la siembra.

b) Pedúnculo floral maduro: Consiste en un eje floral en el momento de que ha caído la última flor. La parte del eje que se toma es precisamente la que se encuentra por debajo de la primera flor que se abrió. En este caso a diferencia del pedúnculo joven, se utilizan únicamente los nudos, realizando un corte 2 cm. por debajo y 2 cm. por arriba de cada nudo. Los segmentos que se obtienen son introducidos a la cámara de flujo laminar y colocados en una solución de cloro de 10 a 20 % con unas gotas de Tween 20 por 10 ó 15 minutos, para luego proceder a realizar tres lavados vigorosos con agua destilada estéril. Teniendo el material vegetal debidamente desinfectado se procede a eliminar los extremos con ayuda de bisturíes y pinzas estériles para realizar la siembra.

ii. Siembra: Al obtener los explantes de pedúnculos florales jóvenes, éstos son sembrados en un medio líquido en agitación constante por cuatro semanas, después son transferidos a medio de cultivo sólido en donde se dará la

proliferación de protocormos, los cuales dan origen a nuevas plantas. Para el caso de pedúnculos florales maduros el explante es sembrado directamente en el medio sólido y luego de tres meses empezará a formarse una nueva planta a partir de una yema ubicada en el nudo, la cual se transfiere a un medio para estimular la proliferación de yemas laterales y así obtener más plantas.

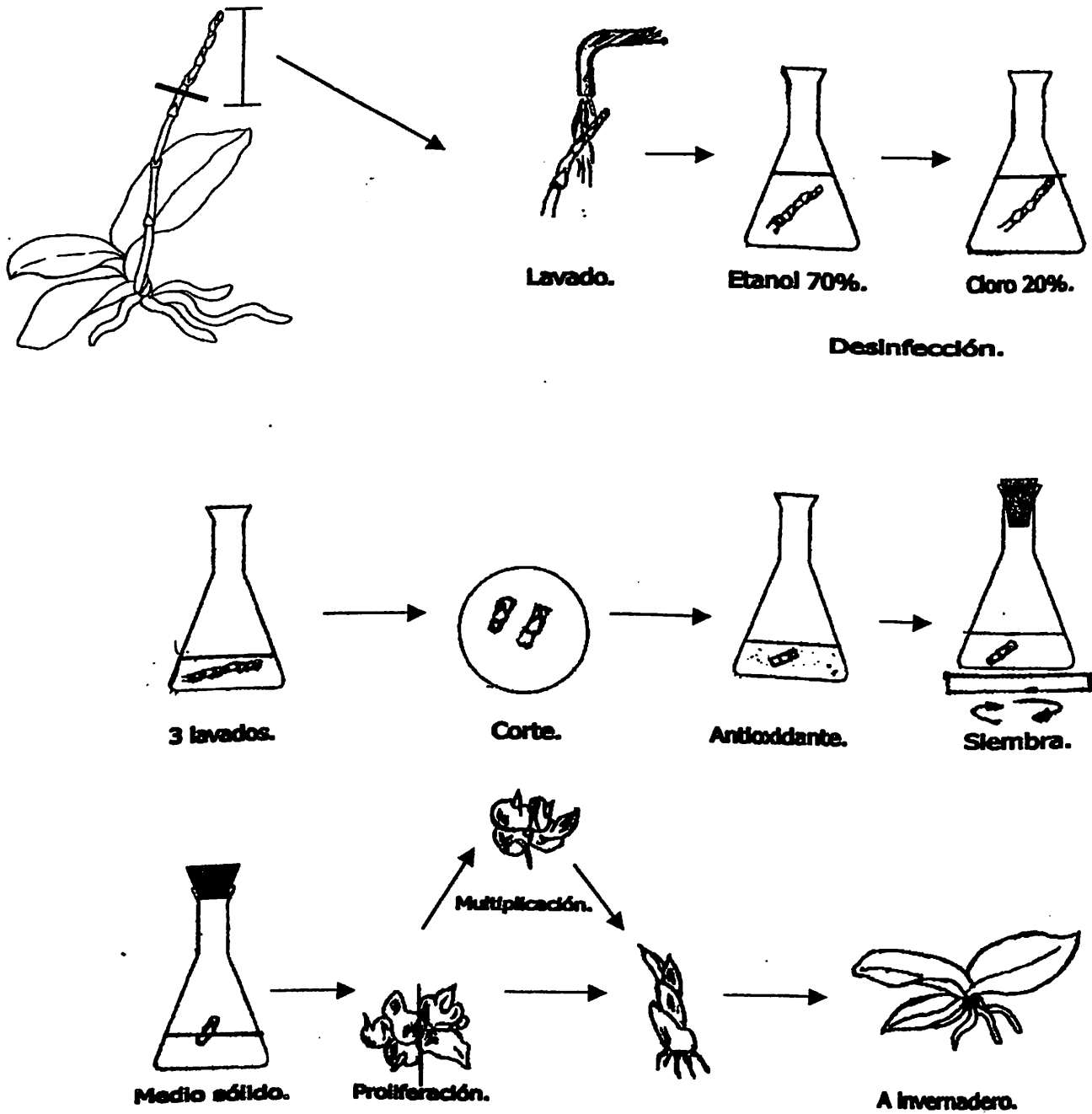


Figura 24 Siembra de pedúnculo floral joven de *Phalaenopsis*.

iii. Condiciones de cultivo: independientemente del tipo de explante utilizado y de las variaciones empleadas en el medio de cultivo, el material debe de tener un fotoperíodo de 16 horas, una temperatura promedio de 26° C y una intensidad lumínica de 2000 lux.

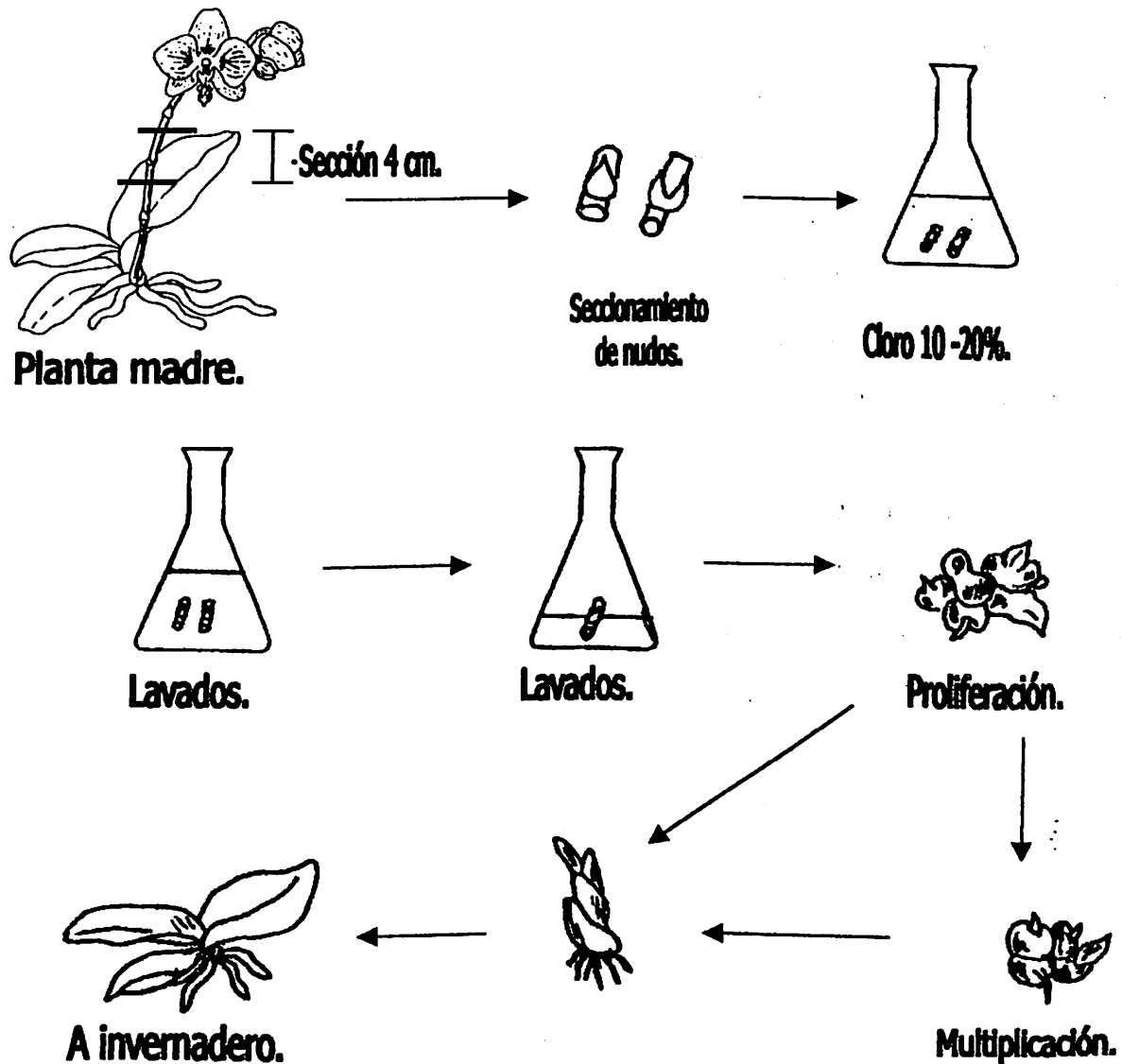


Figura 25 Siembra de pedúnculo floral maduro de *Phalaenopsis*.

C. Medios de Cultivo: Para el cultivo de las orquídeas es necesario utilizar un medio de crecimiento que permita proveer a la planta de los nutrientes básicos, que junto con condiciones ambientales como luz, humedad relativa y temperatura van a incidir en el éxito del cultivo.

El medio de cultivo esta constituido por una serie de compuestos dentro de los que se incluyen macronutrientes, micronutrientes, quelatos de hierro, carbohidratos (normalmente sacarosa). Además de lo anterior puede adicionarse al medio compuestos orgánicos como las vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento los cuales permitirán que se obtengan mejores resultados con el cultivo.

En la mayoría de los casos se emplea un agente gelificante o material inerte el cual le da la consistencia al medio de cultivo y a la vez le sirve de soporte al inóculo. El que más frecuentemente se emplea para este propósito es agar, aunque existe una serie de materiales de soporte de marcas comerciales como Phytigel ®, Gelrite ® o Gelcarin ®.

Para tener éxito en los cultivos es muy importante la esterilización de dicho medio.

a. Preparación: Todos los ingredientes que se utilizarán y dependiendo de la fórmula a preparar, deben de ser pesados cuidadosamente con la utilización de una balanza de precisión, preferiblemente una balanza analítica, luego se procede a mezclar todos los ingredientes uno por uno para evitar cualquier tipo de reacción no deseada en el medio de cultivo. Normalmente al preparar un litro de medio de cultivo se agrega una cantidad de alrededor de 300 a 400 ml de agua destilada, luego se disuelven los compuestos o sales inorgánicas, luego las vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento; algunas fórmulas caseras contemplan la adición de extractos de algunas frutas como banano, manzana o tomate. En muchas fórmulas desarrolladas a nivel de laboratorio se agrega agua de coco en cantidades que van desde 100 ml hasta 250 ml por litro de medio. Y finalmente se agrega la sacarosa (2-4 %). Luego de mezclar todos los compuestos se procede a aforar el medio en un recipiente volumétrico, que preferentemente sea de alta precisión como un balón de aforar; se ajusta el pH del medio con la ayuda de soluciones 0.01 - 1.0 N de NaOH y/o 0.01 - 1.0 N de HCl. Es importante que tanto para el ajuste del pH como para las mezclas anteriores, el medio que se está preparando debe de estar en agitación. Como último paso en la elaboración del medio de cultivo se procede a la aplicación del agente o compuesto de soporte, el agar, y este debe de disolverse en agitadores con plancha de calentamiento (estufa con agitador). Si no se cuenta con este equipo se puede calentar y agitar constantemente con una espátula, mientras se calienta hasta llegar a punto de ebullición para luego ser distribuido en los recipientes de cultivo que se utilizarán en forma definitiva para la siembra. No se debe dejar que el

medio hierva por mucho tiempo, debido a que los compuestos orgánicos son termolábiles y pueden degradarse y restarle efectividad al medio.

b. Esterilización: El proceso de esterilización es variable y depende en gran parte de la cantidad de medio preparado y del volumen que se coloque en los recipientes de cultivo. Normalmente cuando se utilizan recipientes que contienen alrededor de 20 ml de medio de cultivo, el proceso de esterilización se realizará en una autoclave u olla de presión a 1.1 Kg/cm² por un periodo de 15 a 20 minutos a 121° C. El medio ya estéril puede ser almacenado por un periodo aproximado de un mes, si se refrigera se puede lograr más tiempo de vida.

c. Tipos de medio específicos para algunos géneros: Existe una serie de orquídeas las cuales poseen características especiales de flor en cuanto a su comercialización, dentro de las cuales se pueden mencionar el color, tamaño, cantidad de flores, tiempo de duración después de corte, etc. Esto representa que dichas especies posean un alto valor económico por lo que es necesario propagarlas por métodos asexuales para así poder mantener dichas características. Esto representa la utilización de diversos tipos de explantes, para lo cual también los medios de cultivo tendrán que cumplir otro tipo de requerimientos en cuanto a los componentes o bien presentar ciertas variaciones, dentro de las cuales puede haber aumento o disminución de componentes o bien adiciones de otros compuestos ya sean inorgánicos o naturales. Es importante mencionar que así como existen diferentes tipos de medios de cultivo para cada tipo de explante, se emplean diferentes medios de cultivo para una misma especie y normalmente es el medio de iniciación, el de multiplicación y en algunos casos el de enraizamiento, las diferencias para cada uno de ellos se detallan en el apéndice.

i. Medios de Cultivo para el género *Phalaenopsis spp.* El género *Phalaenopsis* posee un gran número de especies y todas con inflorescencias largas, en algunos casos de aproximadamente 50 centímetros de longitud, con muchas flores de colores variados y muy vistosos, lo cual justifica su multiplicación por clonación. Para poder desarrollar su multiplicación se puede emplear diferentes tipos de explantes y como consecuencia diferentes tipos de medio.

Para el cultivo de explantes provenientes de pedúnculo floral se emplea una modificación del medio basal Murashige & Skoog (Tabla 8), tanto para la fase de iniciación como para el medio de multiplicación, mientras que en la fase de enraizamiento se utiliza un medio preparado a partir de un fertilizante foliar sintético de uso en ornamentales de interior llamado Hyponex ® [7(N) - 6(P) - 19(K)]. El ciclo de propagación empleando este tipo de

explante normalmente se realiza en un período de 12 meses. Las especificaciones de los medios se detallan en la tabla 3.

También se pueden cultivar explantes provenientes de porciones de hoja de *Phalaenopsis* y para esto se puede utilizar otro tipo de modificación del medio Murashige & Skoog (Tabla 15).

Tabla 3 Fases del cultivo y modificaciones en el medio para el cultivo de *Phalaenopsis*.

Fases del cultivo.	Duración.	Medio de Cultivo.
Iniciación.	1 mes	1/2 M & S + 0.5 mg/l de 2,4-D + 3 mg/l de BA + 2 mg/l de Kin + 5 mg/l adenina + 200 cc de agua de coco + 10 g de manitol + 10 g de glucosa + 10 de sucrosa.
Multiplicación.	Subcultivos cada 30 días (máximo 6)	Medio de cultivo igual al de iniciación adicionándole 8 g de agar.
Enraizamiento.	2 meses	Hyponex 2.5 g + carbón activado 1.2 g + sacarosa 30 g + agar 8 g + vitaminas (M & S).

Nota: el ciclo total de cultivo es de 12 meses.

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje, (INA), Costa Rica.

ii. Medios de Cultivo para el género *Dendrobium spp*: El género *Dendrobium* posee también una gran diversidad de plantas con diferentes tipos de inflorescencia. Específicamente *Dendrobium* tipo *Phalaenopsis*, posee inflorescencias alargadas de aproximadamente 50 centímetros y son muy cotizadas para flor de corte en la confección de arreglos florales, es por eso que en países como Tailandia se propagan grandes cantidades por medio del cultivo de tejidos vegetales.

Para el cultivo de este género se emplean diferentes tipos de explantes y como consecuencia diferentes tipos de medio de cultivo. Para el cultivo de explantes de brotes vegetativos se emplea una modificación del medio de cultivo de Vacin y Went (1949), al cual se le agregan 150 ml de agua de coco y 20 gramos de sacarosa (Tabla 10). Para la siembra de ejes florales jóvenes se puede utilizar un medio resultante de la modificación del medio basal Murashige & Skoog al 50%, al cual se le adiciona 0.5 mg de 2,4-D, 3.0 mg de BAP, 2.0 mg de cinetina y 5.0 mg de adenina así como 200 ml de agua de coco y 10 gramos de cada uno de los siguientes compuestos: manitol, glucosa y sacarosa.

Para la siembra de nudos de este tipo de orquídea se emplea el medio de cultivo Knop's (Tabla 16) al que se le adicionan 2.0 mg de BAP por litro y 20 gramos de azúcar.

En el caso de brotes vegetativos y de explantes de ejes florales, el medio de cultivo es líquido y los explantes se dejan cultivando en agitación por un período de 45 días, tiempo durante el cual se formará una masa verde, y a los tres meses de efectuada la siembra se observará la formación de protocormos. Luego de este tiempo el material se subcultiva por períodos de 6 semanas, el proceso es mucho más exitoso si se multiplican los tejidos que aún no presentan hojas bien formadas, o bien si los explantes con estas características son cortados longitudinalmente. A diferencia de los explantes anteriores, los nudos son sembrados en medio sólido, introduciendo la mitad del explante en el medio de cultivo, en donde las yemas comienzan a emerger después de 4 semanas y las plantas se desarrollan aproximadamente a los 45 días, para luego enraizar en aproximadamente 2 semanas más. Existen otros medios de cultivo empleados por el Instituto Nacional de Aprendizaje de Costa Rica, los cuales se emplean para cultivo de nudos, tallos florales jóvenes y para yemas, los cuales se detallan en el apéndice (Tablas 12, 13 y 14 respectivamente).

iii. Medios de Cultivo para el género *Cattleya spp.* Este género es uno de los más variados en cuanto a especies y variedades, con inflorescencias cortas con flores grandes y en variados y llamativos colores. Este es uno de los géneros más importantes en lo que a flor de corte se refiere y debido a esto se han desarrollado muchas formas y medios para su propagación clonal y dentro de estas tenemos las siguientes:

Para la siembra de yemas de *Cattleya* se emplea el medio de cultivo Lindemann *et-al*, 1970 (Tabla 6), para el primer estado se siembra el explante en medio líquido conteniendo 0.1 mg de ANA, 0.2 mg de cinetina, 150 ml de agua de coco y 0.5 gramos de sacarosa, esto por un período aproximado de 2 meses en un agitador orbital. El explante ya engrosado se transfiere al mismo tipo de medio con 0.18 mg de ANA, 0.35 mg de ácido giberélico, 0.22 mg de cinetina, de 50 a 150 ml de agua de coco, 100 mg de caseína hidrolizada y 20 gr de sacarosa, en donde comienza la proliferación de protocormos y callo. Se realizan los subcultivos cada 2 ó 3 meses para alcanzar un buen número de plantas para luego ser transferidos a medio de cultivo Knudson C (Tabla 5), medio en el cual se iniciará el enraizamiento después de dos semanas.

Otras alternativas de propagación incluyen el cultivo de yemas pero utilizando otros medios de cultivo y dentro de estos podemos mencionar los medios de Reinert and Mohr, 1967 (Tabla 9); Vacin and Went, 1949 (Tabla 10); Knudson C modificado (Tabla 5) y Morel, 1965 (Tabla 7). En los primeros dos medios después de la desinfección del

explante se siembra en medio líquido en donde el meristemo se desarrollará entre 3 a 8 semanas y se forma callo o bien protocormos, los cuales son transferidos a un medio sólido y después de 3 ó 5 semanas inicia la proliferación de protocormos. Es importante mencionar que dichos protocormos producen raíces, por lo que no es necesario utilizar algún medio de cultivo especial para el enraizamiento de dichos explantes. Para los medios Knudson y Morel, el explante se siembra directamente en un medio sólido, en donde después de 2 meses comenzará a proliferar tejido verde, el cual dará origen a protocormos, los cuales se convertirán en plantas.

Para la siembra de porciones basales de hojas de *Cattleya*, se utiliza el medio Champagnat, Morel & Mounetou, 1970 (Tabla 4), suplementado con 1.0 mg de cinetina, 20.0 gr de sacarosa y 8 gr de agar, en dicho medio comienzan a proliferar protocormos los cuales darán origen a nuevas plantas. Este mismo medio puede utilizarse sin agar para la siembra de ápices de hojas, las cuales al mantenerse en agitación constante producirán una masa de tejido después de 10 ó 15 semanas de donde se originarán protocormos, que luego se transfieren a un medio de cultivo Knudson C para la formación de plantas.

Existe otro gran número de medios de cultivo utilizados para *Cattleya* (Arditti, 1974) pero los que se utilizan con más frecuencia son los mencionados anteriormente.

iv. Medios de Cultivo para el género *Cymbidium*: Esta fue la primera orquídea propagada a partir de meristemas (Morel, 1960) y al igual que los géneros antes mencionados poseen una gran variabilidad en cuanto a color y tamaño. Existen varios medios de cultivo, los cuales se emplean para propagación, pero se utilizan básicamente para la propagación de yemas obtenidas de pseudobulbos jóvenes que empiezan a crecer. Dentro de los medios que se utilizan con mas frecuencia se encuentra Vacin & Went, 1949, suplementado con 20 gr de sacarosa y 16 gr de agar; Wimber, 1963 (Tabla 11), suplementado con 2 gr de triptona y 20 gr de sacarosa.

Después de sembrado el material y transcurridas de 6 a 8 semanas, comienzan a formarse los protocormos, los cuales pueden ser subcultivados ya sea enteros o bien seccionándolos. Los primeros al ser colocados en medio fresco comienzan a formar primordios y raíces, mientras que los otros siguen multiplicándose. Si no son alterados los protocormos darán origen a nuevas plántulas después de transcurridos 2 ½ meses.

D. Transplante o Subcultivo de orquídeas: Se define como la transferencia de las plántulas de orquídeas de un ambiente con una densidad alta (figura 26) en un medio nutritivo agotado en el cual existe competencia por alimentos y espacio, a otro medio fresco o nuevo en el cual se disminuye la cantidad de plantas en el

espacio disponible para la siembra. Para los subcultivos se necesita utilizar pinzas o espátulas que permitan la dispersión o siembra del material en el medio nuevo. En el caso de los protocormos, se debe de tomar en cuenta de que son muy susceptibles a la manipulación, por lo que es necesario esperar a que se diferencien un poco para que sean más manejables con los instrumentos empleados para su trasplante. Una de las consideraciones que se deben de tomar en cuenta es que las plántulas o bien los protocormos que se empiezan a diferenciar son muy pequeños, en el momento en que se desarrolla el trasplante crecerán en el medio fresco, por lo que se deben sembrar a una densidad tal que en el momento de crecer no permita que exista mucha competencia que obligue a realizar nuevos subcultivos muy frecuentes.



a) *Miltonia híbrido*.



b) *Cattleya guatemalensis*.

Figura 26 Frascos con alta densidad de plantas listas para ser subcultivadas.

Es importante mencionar que el tiempo entre cada subcultivo es variable y depende en gran parte del género, la especie o la variedad, y se tiene un rango que va de 6 semanas a 3 meses. Después de realizar 3 ó 4 subcultivos y cuando las plántulas están grandes, la densidad será de aproximadamente 10 ó 15 plantas por frasco de cultivo de 100 ml de capacidad o bien de 20 ó 30 plantas por erlenmeyer de 500 ml.

El proceso del trasplante o subcultivo de orquídeas consta de varios pasos que se describen a continuación (figura 27): Primero se toma uno de los recipientes que contienen las plantas o protocormos a transferir y debidamente desinfectado se introduce a la cámara de flujo laminar. De la misma manera se introducen los frascos conteniendo medio fresco debidamente esterilizado. Se flamea la parte superior del frasco luego se destapa y se procede a flamear también la tapadera y la boca de dicho recipiente para luego con la ayuda de instrumentos (pinza

y/o espátula) esterilizados se extraen las plántulas. Si es necesario se realiza la separación de los grupos de plántulas, todo esto se realiza sobre una superficie estéril que puede ser una caja de petri, un bloque de vidrio o bien hojas de papel. Es importante mencionar que si en el grupo de plántulas que se extraen, se observan plantas con malformaciones o bien amarillentas, éstas se deben de eliminar, debido a que normalmente estos materiales al ser sembrados tienen la tendencia a morir y liberar fenoles los cuales pueden afectar el crecimiento de las plantas que estén sanas.

Siguiendo el mismo procedimiento de flameo para los frascos con medio fresco, se procede entonces a transferir o subcultivar las orquídeas, dependiendo del desarrollo, en grupos o plantas individuales. Las plántulas en el momento de ser transferidas, deben de quedar ligeramente sumergidas en el medio de cultivo y a la vez distribuidas homogéneamente dentro de la superficie del medio que se tiene disponible para la transferencia. Por último, cuando tenemos las plantas ya sembradas, flameamos nuevamente la boca y la tapadera del recipiente para luego proceder a sellarlo. Se identifica correctamente ya sea individualmente o por lotes y luego son trasladados al área de incubación para esperar ya sea el próximo subcultivo o bien el desarrollo de las plantas para su trasplante final a condiciones de invernadero.

E. Oxidación de Tejidos: Tanto en la fase de iniciación como en la fase de multiplicación o subcultivos de las orquídeas, existe el riesgo de oxidación como producto de la liberación de derivados de fenoles y polifenoles por el explante, y éstos al acumularse en el medio de cultivo pueden llegar a intoxicar las plantas provocando la pérdida del material, por lo que se recomienda que si esta situación se presenta, tomar alguna de las siguientes medidas:

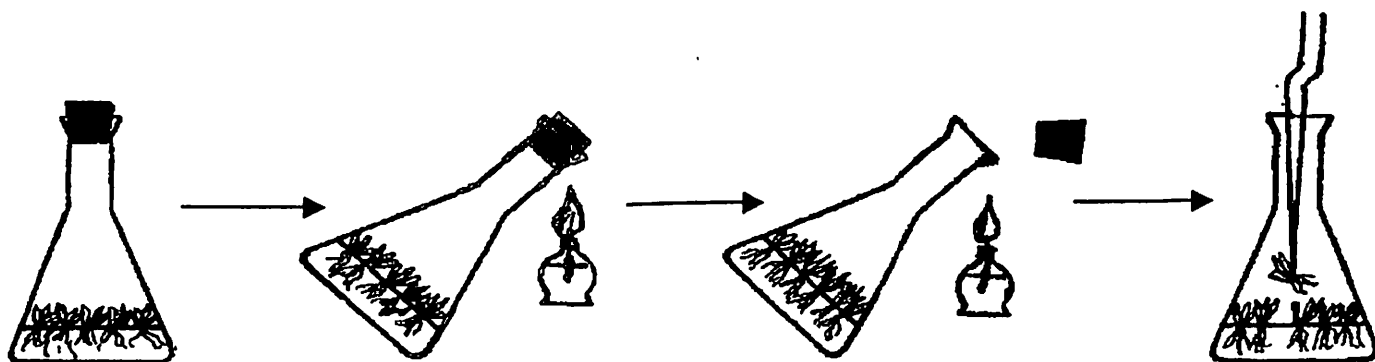
a. Adicionar carbón activado: a razón de 0.5 – 1 g por litro de medio.

b. Adicionar un agente antioxidante así:

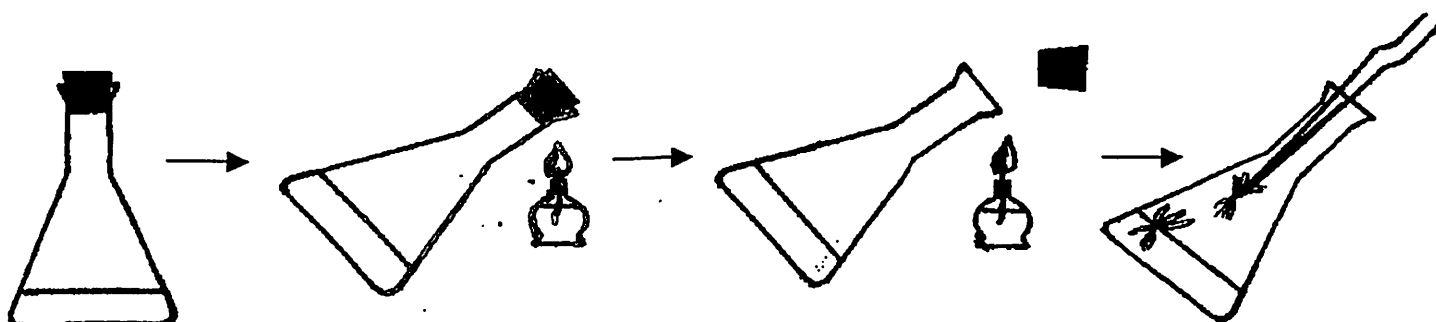
- L-Cisteína a razón de 1 – 2 mg por litro de medio.
- Acido ascórbico a razón de 5 – 10 mg por litro de medio.
- Acido cítrico a razón de 5 – 10 mg por litro de medio.

c. Utilizar medio líquido en agitación constante.

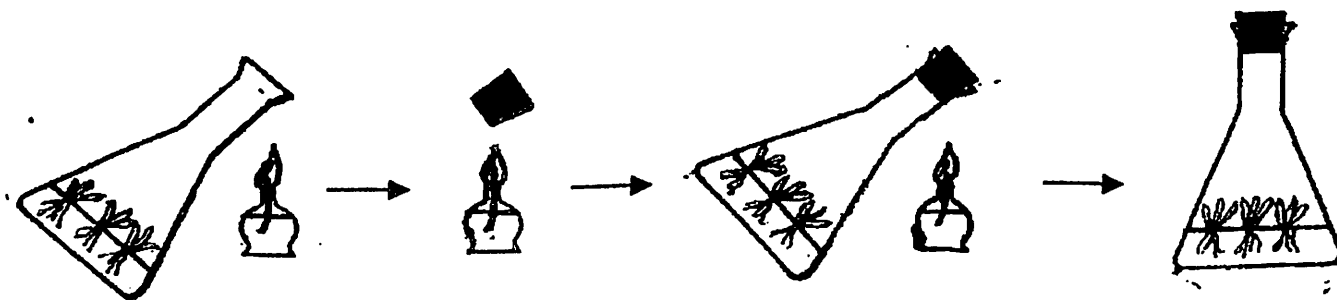
d. Utilizar medio líquido con puentes de papel filtro.



Frasco con plántulas por transplantar.



Frasco con medio fresco.



Frasco con plántulas transplantadas.

Figura 27 Transplante o subcultivo de orquídeas.

F. Enraizamiento de plantas *in-vitro*: Normalmente todas las orquídeas al ser cultivadas en el laboratorio producen inicialmente pequeñas raicillas, las cuales luego se convertirán en raíces que permitirán que las plantas estén listas en determinado momento para ser transplantadas a condiciones de invernadero. Es importante mencionar que en casos muy aislados existe el problema de que algunas especies o variedades presentan problemas a la hora de enraizar.

Cuando empleamos inicialmente semillas, los protocormos producen raíces por arriba de un 90%. Debido a la cantidad de semillas que germinan, el material que no llegase a enraizar se puede desechar, mientras que cuando utilizamos un explante inicial diferente, es decir vegetativo, el número de protocormos obtenidos será mucho menor el número de plantas que se obtienen, y se deben de aprovechar todas las que se obtengan. Es por eso que si no enraizan se pueden transferir a un medio de cultivo suplementado con agua de coco como Knudson C modificado, en dicho medio los explantes enraizarán debido a la gran cantidad de compuestos orgánicos (aminoácidos, vitaminas, hormonas, etc.) que presenta el agua de coco.

G. Transplante a condiciones de invernadero: La adaptación de las plantas a estas condiciones es el punto que marca el éxito de la micropropagación de orquídeas, debido a que el buen manejo que se les proporcione en esta etapa, dará como resultado el alto grado de supervivencia de las plantas y los costos serán bajos.

Un punto muy importante a considerar está dado por las diferencias que existen entre plantas propagadas por los métodos tradicionales y las plantas producidas por micropropagación.

Dentro de las principales características de las plantas obtenidas *in-vitro* están:

- El cultivo *in-vitro* se desarrolla bajo condiciones asépticas.
- Las condiciones de cultivo durante la propagación son controladas (temperatura, humedad relativa y luz).
- Es necesario durante el proceso proporcionar una fuente de carbono exógena debido al crecimiento heterotrófico de las plantas.
- La humedad relativa en la que se desarrollan es alta (cerca del 100%).
- Presentan células en las hojas con grandes espacios intercelulares y la presencia de estomas es baja.

- La fotosíntesis se da en condiciones anormales.
- Normalmente la cutícula se encuentra disminuida o ausente.

Cuando las plantas van a ser sembradas en invernadero es deseable que tengan una altura aproximada de 5 ó 6 centímetros y aproximadamente 3 ó más raíces. En la mayoría de las ocasiones es preferible realizar un proceso de climatización la cual consiste en colocar los frascos conteniendo el material vegetal en el invernadero por un período de 2 ó 3 semanas. Los factores que más afectan el crecimiento de las plantas al momento de la aclimatación son la humedad relativa, la temperatura, la iluminación y la estación del año.

a. Mezcla de Sustrato: El sustrato a utilizar en el Invernadero no es el que comúnmente se emplea para la siembra de las orquídeas adultas y debe ser especialmente preparado para el efecto. Existen diferentes tipos de mezclas de sustrato, las más utilizadas son las siguientes:

Mezcla de sustrato	Proporción de Mezcla
Turba : Carbón vegetal : Arena pómez	1:1:1
Sphagnum : Chipe : Arena pómez	1:1:1
Sphagnum : Duroport (estereofón) : Fibra de coco	2:1:1
Corteza de encino : arena	3:1

Es importante que los componentes de la mezcla a utilizarse deben de ser pasados por un tamiz. Por ejemplo en el caso de la corteza de encino se debe utilizar un tamiz de ¼ de pulgada. En el caso de la arena pómez debe de utilizarse un diámetro aproximado de 2 a 3 mm y el carbón debe de ser granulado.

Si los componentes de la mezcla no están desinfectados se pueden esterilizar utilizando vapor húmedo, exposición directa a los rayos del sol o bien aplicando algún compuesto químico.

La mezcla preparada y debidamente esterilizada debe colocarse en los recipientes (macetas, bandejas, bolsas), debe de tener la capacidad de mantener la humedad, pero no debe de compactarse mucho para evitar problemas por

mal drenaje o aireación. Es importante agregar inicialmente a los recipientes material de drenaje a 1/3 de su profundidad y luego se agrega el sustrato llenando hasta dejar libre entre 1 ½ y 3 cm al borde del recipiente.

Si es segunda vez que los recipientes se van a utilizar se pueden desinfectar por inmersión en una solución de cloro comercial al 10% por un período de 10 ó 15 minutos.

b. Siembra de las orquídeas: Para la siembra se procede a la extracción de las plantas con la ayuda de una pinza y se colocan en un recipiente con agua a temperatura ambiente; se eliminan los residuos de medio de cultivo con agitación y si están muy adheridos se utiliza una pinza o bien una espátula pequeña. Las plantas se clasifican por tamaño y luego los grupos son sumergidos en una solución de fungicida (Dithane ®, Benlate ®,) a razón de 1 a 2 gramos por litro de solución por 2 ó 3 minutos. Con la ayuda de una pinza o una espátula se hace un pequeño agujero en el sustrato con un tamaño similar al del sistema radicular y se siembran las plantas para luego presionar suavemente el sustrato alrededor de las raíces. Es importante que mientras se esta realizando la siembra con un atomizador se debe aplicar agua para evitar el daño por deshidratación. Se debe de identificar cada uno de los recipientes (fecha, especie, número de plantas, etc.) para luego ser transferidos al invernadero.

c. Fertilización: Luego de tener los materiales ordenados en el invernadero se realiza una fertilización leve con Peters ® [20(N) – 20(P) – 20(K)+Elementos menores] a razón de 15 gramos por galón y luego se sigue fertilizando cada 5 días, incrementando el fertilizante en 2 gramos por cada fertilización hasta establecer una aplicación de 42 gramos de fertilizante por galón. A partir de este momento la fertilización debe de realizarse cada 15 días. En ocasiones se coloca un techo extra de sarán para mantener alta la humedad relativa.

d. Riego: El riego debe de realizarse de preferencia con nebulizadores y el tiempo en intervalos depende de cada una de las especies.

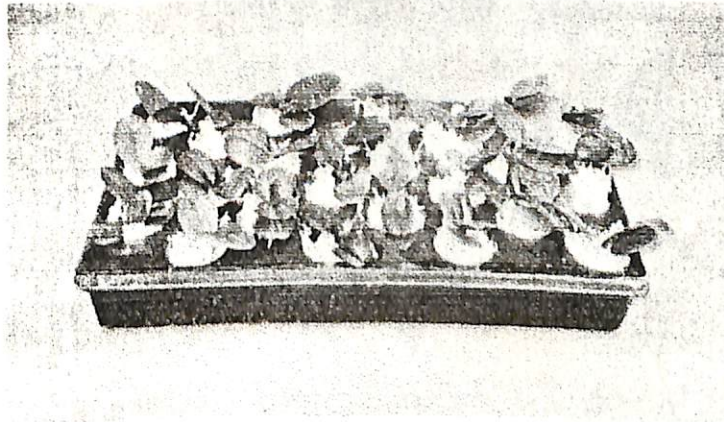
e. Aclimatización: Inicialmente las plantas deben ser sembradas en macetas comunales (figura 27 a), es decir se siembran un gran número de ellas en una sola maceta y conforme transcurre el tiempo las plantas desarrollaran y el espacio en el que están sembradas será insuficiente, por lo que deben de ser trasladadas a recipientes individuales (figura 27 b), un poco más grandes.

Tomando en cuenta los géneros o especies que se propagan *in-vitro*, se pueden obtener plantas floreciendo a los dos años como en *Phalaenopsis* (figura 28 b) o bien a los 6 años como en *Cattleya*.

Cuando se necesitan aclimatar plantas con mucha urgencia, pero estas aún no han formado raíces con un tamaño aceptable para ser adaptadas a condiciones de invernadero, se pueden sacar a invernadero y si se cumple con el programa de fertilización estas se adaptarán y las raíces desarrollarán (**enraizamiento *ex-vitro***). La característica ideal es que la planta posea al menos 3 raíces de aproximadamente 2.5 cm y determinada altura para poder ser aclimatada. Si las plantas se sacan con raíces muy pequeñas pueden ser causa de pérdida de algunas plantas por lo que es preferible tener bastante paciencia y esperar a tener un buen desarrollo del sistema radicular.



a) Maceta comunal con plantas de *Brassia sp.*



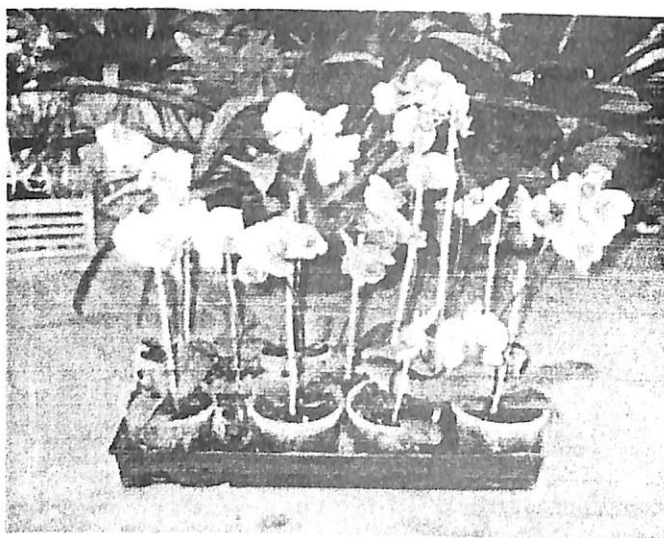
b) Bandeja con plantas de *Phalaenopsis* en pilones individuales.

Figura 28 Orquídeas en diferentes fases de invernadero.





a) Operarias sembrando en macetas individuales.



b) Plantas de *Phalaenopsis* floreciendo después de 2 años en invernadero.

Figura 29 Transplante de *Phalaenopsis* a macetas individuales.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Elaborar un manual de propagación de orquídeas por medio de cultivo de tejidos, el cual permita en un futuro su propagación masiva, así mismo su rescate de una inminente extinción.

4.2 OBJETIVO ESPECIFICO:

Describir las principales metodologías para la propagación de orquídeas por medio de cultivo de tejidos.

V. CONCLUSIONES

- 5.1 La familia Orchidaceae al igual que un sinnúmero de plantas, se encuentran en la actualidad en peligro de desaparecer debido a extracciones inmoderadas y a los niveles de deforestación que se tienen a nivel nacional.
- 5.2 La propagación de las orquídeas por métodos tradicionales, tanto sexuales como asexuales es una tarea que se lleva a cabo de una forma bastante lenta y permiten que un lapso grande de tiempo se obtenga una cantidad muy reducida de plantas.
- 5.3 El cultivo de tejidos vegetales, es una alternativa para la propagación masiva de las orquídeas. Lo que permite que en un período de reducido tiempo se pueda obtener un gran número de plantas.
- 5.4 La utilización de las cápsulas como explante inicial para la propagación masiva de las orquídeas, es decir la micropropagación sexual, permite mantener la variabilidad genética de las especies por propagar.
- 5.5 La utilización de la cápsula cerrada para siembra de semilla, ayuda a bajar los niveles de contaminación.
- 5.6 Cuando la semilla presenta el embrión redondo y de color verde, es el momento adecuado para la siembra de la semilla de las orquídeas, debido a que el proceso de germinación es mucho más rápido.
- 5.7 La mayoría de especies sembradas a partir de semilla, germinan y desarrollan sin ningún problema en el medio de cultivo Knudson C modificado.
- 5.8 La micropropagación asexual, es una herramienta importante para la clonación de orquídeas que poseen características especiales en cuanto a color, tamaño, forma, etc.

VI. RECOMENDACIONES

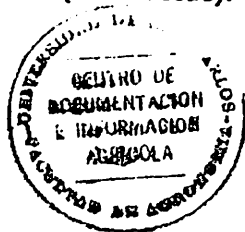
- 6.1 La utilización de las metodologías de propagación de orquídeas por medio de cultivo de tejidos vegetales, se pueden emplear para propagar masivamente las orquídeas y rescatarlas de su inminente extinción.
- 6.2 Utilizar la siembra de semilla de las orquídeas para fines de conservación de germoplasma.
- 6.3 En el momento de la siembra de orquídeas a partir de semilla, es importante observar la sanidad superficial de la cápsula así como también es preferible que se mantenga cerrada, sin haber liberado sus semillas.
- 6.4 En la micropropagación asexual se deben tomar en consideración los procesos de desinfección de explantes para tener éxito en el establecimiento de la especie bajo condiciones de laboratorio.
- 6.5 Al igual que Hyponex ®, realizar ensayos con abonos foliares sintéticos, para la propagación de orquídeas, para que en un momento dado se puedan reducir los costos.

VII. BIBLIOGRAFIA

01. ALFONSO, J. A. 1,995. Introducción a ornamentales tropicales; Botánica de las orquídeas. San Pedro Sula, Honduras, Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. p. 27-35.
02. AMES, O.; CORREL, D.S. 1,985. Orchids of Guatemala and Belize. New York, U.S.A., Dover Inc. 779 p.
03. ARCHILA, E. et-al. 1,996. Rescate de orquídeas en peligro de extinción a partir de cultivo de tejidos vegetales. En Simposio Nacional Sobre Cultivo de Tejidos Vegetales. (1., 1,996 Villa Nueva Guatemala). Memoria. Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala, ICTA. p. 106-108.
04. ARCHILA, F. 1992. Recolección, cultivo y reproducción de orquídeas. Práctica Profesional Agrícola y Forestal Supervisada. Informe técnico. Barcena, Villa Nueva, Guatemala, Escuela Nacional Central de Agricultura. 37 p.
05. ARDITTI, J. 1,977. Orchid biology, reviews and perspectives. New York, U.S.A., Cornell University Press Ltd. V. 1 p. 177-293
06. ASOCIACION ALTAVERAPACENSE DE ORQUIDEOLOGIA. 1,993. Las orquídeas; guía práctica para su cultivo. 2 ed. Cobán A.V., Guatemala. 192 p.
07. ATWOOD, j. T. 1,988. The vascular flora of La Selva biological station; Costa Rica; Orchidaceae. Selbyana, (C.R.) 10:76-145.
08. AYALA, H. 1999. Conservando los recursos genéticos de Guatemala; Estrategia nacional para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad. Guatemala, CONAMA, Estrategia Nacional de Biodiversidad. 39 p.
09. AZURDIA, C. 1999. Usando los recursos genéticos: Un acercamiento al acceso y tecnología; Estrategia Nacional para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad. Guatemala, CONAMA, Estrategia Nacional de Biodiversidad. 89 p.
10. BOLIVAR, J. 1,992. Manual de prácticas de laboratorio; Curso principios y prácticas en el cultivo de tejidos vegetales. San José, C. R., Instituto Nacional de Aprendizaje, Departamento técnico docente Agropecuario. p. 83-99.
11. CHU, C. C.; MUDGE, K. W. 1,995. Novel laboratory exercises in plant tissue culture. *In-vitro* Asymbiotic germination of orchid seeds, HortTechnology. USA. 12 p. [http://www.cals.cornell.edu/dept/flori/hort400/orchid/orchid\].html](http://www.cals.cornell.edu/dept/flori/hort400/orchid/orchid].html)
12. CLARK, D. E. 1,986. Sunset orchids. Menlo Park, California, USA, Lane Publishing Co. 64 p.

13. COHEN, B. 1,999. Seed sowing manual. Vista, California, USA., G & B Orchid laboratory & Nursery, Inc. 7 p. <http://www.orchidsource.com/GBSeedManual.html>.
14. CRONQUIST, A. 1,971. Introducción a la botánica. 2 ed. trad. Por Antonio Marino Ambrosio. México D.F., Continental. 848 p.
15. DRESLER, R.. 1,993. Phylogeny and clasifcation of the orchid family. Portland, Oregon, U.S.A., Dioscorides Press. 314 p.
16. FONT QUER, P. 1,979. Diccionario de botánica. Barcelona, España, Labor. 1244 p.
17. GEORGE, E. F., et-al. 1987. Plant culture media; Formulations and uses. Westbury, England, Exegetics Limited. V. 1 567 p.
18. GONZALEZ V., L. 1,993. Manual de prácticas; Curso de introducción al cultivo y manejo de las orquídeas. San José, C. R. Instituto Nacional de Aprendizaje, Departamento técnico docente agropecuario. 42 p.
19. GUATEMALA. COMISION NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE. ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD. Estrategia nacional para la conservación y uso sostenible de la Biodiversidad y Plan de acción Guatemala. Guatemala, CONAMA, Estrategia Nacional de Biodiversidad. 129 p.
20. GUATEMALA. MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y ALIMENTACION; DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS AGRICOLAS; INSTITUTO NACIONAL FORESTAL. 1,982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala. 20p.
21. GUATEMALA. MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y ALIMENTACION. UNIDAD DE COMUNICACIÓN SOCIAL 1,986. Algunos aspectos sobre las orquídeas. Guatemala. 20 p.
22. HAMER, F. 1,974. Las orquídeas de el Salvador. El Salvador, Ministerio de educación de el Salvador. v.2, 426 p.
23. _____. 1,988. Orchids of Central America; An illustrated field guide. Selbyana (U.S.A.)11(Suppl.):423-860.
24. HARTMANN, H.; KESTER, D. 1989. Propagación de plantas. México, D.F., Continental 760 p.
25. HURTADO, D. V.; MERINO M., M. E. 1,991. Cultivo de tejidos vegetales. México, D.F., Trillas. 232 p.
26. INSTITUTO NACIONAL DE APRENDIZAJE. 1,993. Guía básica para la producción y manejo de orquídeas por Semilla; Curso práctico. San José, Corta Rica, Universidad de Costa Rica. 31 p.

27. KUAN, C.; OSPINA, I. C. 1990. Introducción a la técnica de cultivo de tejidos. San José, Costa Rica. Instituto Nacional de Aprendizaje-Misión Técnica Agrícola de China. p. 33.
28. MALDONADO, O.; TAVICO, O.; NAVAS O. 1999. Las áreas silvestres de Guatemala, ¿tienen amenazas?; Estrategia nacional para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad. Guatemala, CONAMA, Estrategia Nacional de Biodiversidad. 59 p.
29. MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Annual Review of Plant Physiology, (EE.UU.) 25:135-166.
30. ORANTES, P.; MALDONADO, O.; HERNANDEZ, J. F. 1999. La vida silvestre uso y conservación. Estrategia nacional para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad. Guatemala, CONAMA, Estrategia Nacional de Biodiversidad. 119 p.
31. RICHTER, W. 1977. Orchid care, a guide to cultivation and breeding. New York, U.S.A. Van Nostrand Reinhold Company. 212 p.
32. STEAM, W. T. 1992. Botanical latin. 4 ed. Portland, Oregon, U.S.A., Timber Press. 546 p.
33. THOMPSON, P. A. 1980. Orchids from seed. London, England, Royal botanical gardens Kew. 29 p.
34. TYSON NORTHEN, R. 1970. Home orchid growing. 3 ed. New York, USA., Van Nostrand Reinhold. 374 p.
35. USUI, K. et-al. 1996. Principios básicos de cultivo de tejidos vegetales. Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. 166 p.
36. WATSON, J. et-al. 1996. Your first orchid; A guide for beginners. Florida, USA , American Orchid Society, West Palm Beach,. 64 p.
37. WILLIAMS, L.O. 1980. Orchids of Panamá (orchidaceae). U.S.A., Annals of the Missouri Botanical Garden. v. 4, 245 p.



vo. B°.

Miriam De La Roca

VIII.- APENDICE

Tabla 4A. Medio de Cultivo para porciones basales de hojas (Champagnat, Morel & Mounetou, 1,970)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	1 gr
Cloruro de potasio, KCl	1 gr
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	125 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃).4H ₂ O	500 mg
Fosfato de Potasio, KH ₂ PO ₄	125 mg
Microelementos:	
Sulfato de zinc, ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 mg
Sulfato de manganeso, MnSO ₄ .4H ₂ O	0.010 mg
Sulfato de cobre, CuSO ₄ .5H ₂ O	0.030 mg
Cloruro de aluminio, AlCl ₃	0.030 mg
Cloruro de níquel, NiCl ₂ .6H ₂ O	0.030 mg
Ioduro de potasio, KI	0.010 mg
Cloruro férrico, FeCl ₃ .6H ₂ O	1 mg
Hormonas:	
Cinetina	1 mg
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	8 gr

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Tabla 5A. Medio de Cultivo Knudson C (1,946)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	500 mg
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	250 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃).4H ₂ O	1 gr
Fosfato de potasio, KH ₂ PO ₄	250 mg
Sulfato ferroso FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8 mg
Na ₂ EDTA	37.3 mg
Microelementos:	
Sulfato de zinc, ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.331 mg
Sulfato de manganeso, MnSO ₄ .4H ₂ O	7.5 mg
Sulfato cúprico anhidro, CuSO ₄ .	0.040 mg
Acido bórico H ₃ BO ₃	0.056 mg
Acido molibdico, MoO ₃	0.016 mg
Hormonas:	
ninguna	
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	8 gr

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Nota: El medio Knudson C modificado a diferencia del anterior únicamente se le agregan 100 ml de agua de coco.

Tabla 6A. Medio de Cultivo Lindemann para meristemas de *Cattleya*

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	1 gr
Cloruro de potasio, KCl	1050 mg
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ ·7H ₂ O	120 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	500 mg
Fosfato de potasio, KH ₂ PO ₄	135 mg
Citrato de hierro, FeC ₆ H ₅ O ₇ ·3H ₂ O	5.4 mg
Microelementos:	
Sulfato de zinc, ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.565 mg
Sulfato de manganeso, MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.068 mg
Sulfato de cobre, CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.019 mg
Cloruro de aluminio, AlCl ₃	0.031 mg
Cloruro de níquel, NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.017 mg
Ioduro de potasio, KI	0.099 mg
Acido bórico, H ₃ BO ₃	1.014 mg
Hormonas:	
ANA	0.1 mg
Cinetina	0.2 mg
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	0.50 gr
Otros:	
Agua de coco	150 ml

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Tabla 7A. Medio de cultivo Morel (1,965)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	1 gr
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	250 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃).4H ₂ O	500 mg
Fosfato de potasio, KH ₂ PO ₄	250 mg
Sulfato ferroso FeSO ₄ .7H ₂ O	25 mg
Nitrato de amonio, NH ₄ NO ₃	500 mg
Cloruro de potasio, KCl	250
Microelementos:	
Sulfato de manganeso, MnSO ₄ .4H ₂ O	7.5 mg
Hormonas:	
ninguna	
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	8 - 16 gr

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Tabla 8A. Medio de Cultivo Murashige & Skoog (1,962)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Nitrato de amonio, NH_4NO_3	1650 mg
Nitrato de potasio, KNO_3	1900 mg
Cloruro de calcio, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440 mg
Sulfato de magnesio, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370 mg
Fosfato de potasio, KH_2PO_4	170 mg
Microelementos:	
Sulfato de zinc, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6 mg
Sulfato de manganeso, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	16.9 mg
Sulfato de cobre, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025 mg
Acido bórico, H_3BO_3	6.18 mg
Ioduro de potasio, KI	0.83 mg
Molibdato de sodio, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.24 mg
Cloruro de cobalto, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.024 mg
Hierro:	
Sulfato férrico, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	27.8 mg
Na_2EDTA	37.2 mg
Vitaminas:	
Tiamina HCl	0.1 mg
Acido nicotínico	0.5 mg
Piridoxina HCl	0.5 mg
Myo-inositol	100 mg
Aminoácidos:	
Glicina	2.0 mg
Hormonas:	
IBA	1.75 mg
ANA	1.75 mg
Cinetina	1.0 mg
Azúcar:	
Sacarosa	15 - 30 gr
Solidificante:	
Agar	6 gr
Otros	
Acido cítrico	150 mg

Fuente: Hurtado y Merino 1,991.

Tabla 9A. Medio de Cultivo para yemas laterales de *Cattleya* (Reinert and Mohr, 1,967)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	400 mg
Cloruro de potasio, KCl	500 mg
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	400 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃).4H ₂ O	1000 mg
Fosfato de potasio, KH ₂ PO ₄	250 mg
Microelementos:	
Sulfato de zinc, ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.03 mg
Sulfato de manganeso, MnSO ₄ .4H ₂ O	7.5 mg
Sulfato de cobre, CuSO ₄ .5H ₂ O	0.001 mg
Acido bórico. H ₃ BO ₃	0.030 mg
Hierro:	
Sulfato férrico, Fe ₂ (SO ₄) ₃	10.70 mg
Na ₂ EDTA	22.40 mg
Vitaminas:	
Tiamina HCl	0.1 mg
Acido nicotínico	0.5 mg
Piridoxina HCl	0.5 mg
Myo-inositol	100 mg
Aminoácidos:	
Glicina	2.0 mg
Hormonas:	
IBA	1.75 mg
ANA	1.75 mg
Cinetina	1.0 mg
Azúcar:	
Sacarosa	15 - 30 gr
Solidificante:	
Agar	6 gr
Otros	
Acido cítrico	150 mg

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Tabla 10A. Medio Modificado para el Cultivo de explantes de brotes vegetativos de *Dendrobium* y *Cattleya* (Vacin y Went 1,949)

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Trifosfato de calcio, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200 mg
Nitrato de potasio, KNO_3	525 mg
Sulfato de magnesio, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg
Fosfato de potasio, KH_2PO_4	250 mg
Sulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500 mg
Tartarato férrico, $\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3$	28 mg
Sulfato de manganeso, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.5 mg
Hormonas:	
ninguna	1 mg
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	9 gr
Otros:	
Agua de coco	250 ml

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

**Tabla 11A. Medio de Cultivo para meristemas de *Cymbidium*
(Wimber, 1,963)**

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Fosfato dicálcico, CaHPO_4	200 mg
Nitrato de potasio, KNO_3	525 mg
Sulfato de magnesio, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg
Fosfato de potasio, KH_2PO_4	250 mg
Sulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500 mg
Hierro:	
Tartarato férrico, $\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3$	300 mg
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Otros:	
Tryptona	2 gr

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Tabla 12A. Medio de Cultivo para nudo de *Dendrobium*

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Nitrato de calcio, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500 mg
Nitrato de potasio, KNO_3	125 mg
Sulfato de magnesio, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	125 mg
Fosfato de potasio, KH_2PO_4	125 mg
Citrato de hierro, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	10 mg
Acido bórico, H_3BO_3	0.056 mg
Cloruro de manganeso, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.036 mg
Cloruro de zinc, ZnCl_2	0.152 mg
Cloruro de cobalto, CoCl_2	0.02 mg
Cloruro de cobre, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.054 mg
Molibdato de sodio, $\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025 mg
Cloruro férrico, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
Na_2EDTA	0.8 mg
Tiamina HCl	0.4 mg
BAP	2.0 mg
Azucar	20 gr
Agar	13 gr

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje C.R.

Tabla 13A. Medio para tallos florales jóvenes de *Dendrobium*.

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
MS al 50%	
2, 4-D	0.5 mg
BAP	3.0 mg
Cinetina	2.0 mg
Sulfato de adenina	5.0 mg
Agua de coco	200 mg
Mannitol	10 gr
Glucosa	10 gr
Sacarosa	10 gr
Agar	8 gr

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje C.R.

Tabla 14A. Medio para yemas de *Dendrobium*.

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200 mg
KNO_3	525 mg
KH_2PO_4	250 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500 mg
$\text{Fe}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3$	28 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.5 mg
Azucar	20 gr
Agua de coco	150 ml

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje C.R.

Tabla 15A. Medio para cultivo de hoja de *Phalaenopsis*

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
MS al 75%	
ANA	1.0 mg
BAP	10.0 mg
Sulfato de adenina	10.0 mg
GA3	1.0 mg
Azucar	20 gr
Agua de coco	200 ml
Agar	6.5 gr

Fuente: Instituto Nacional de Aprendizaje C.R.

Tabla 16A. Medio de Cultivo Knop's modificado para el cultivo de secciones de nudos de *Dendrobium*.

Componente	Cantidad a agregar por litro de medio
Macroelementos:	
Nitrato de potasio KNO ₃	125 mg
Sulfato de magnesio, MgSO ₄ .7H ₂ O	125 mg
Nitrato de calcio, Ca(NO ₃).4H ₂ O	500 mg
Fosfato de potasio, KH ₂ PO ₄	125 mg
Hierro	
Citrato férrico, FeC ₆ H ₅ O ₇ .3H ₂ O	10 mg
Na ₂ EDTA	0.8 mg
Microelementos:	
Cloruro de zinc, ZnCl ₂	0.152 mg
Cloruro de manganeso, MnCl ₂ .4H ₂ O	0.036 mg
Sulfato de cobre, CuSO ₄ .5H ₂ O	0.030 mg
Cloruro de cobalto, CoCl ₂	0.02 mg
Cloruro de cobre, CuCl ₂ .2H ₂ O	0.054 mg
Cloruro férrico, FeCl ₃ .6H ₂ O	0.5 mg
Molibdato de sodio, NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.025 mg
Acido bórico H ₃ BO ₃	0.56 mg
Hormonas:	
Acido trans-cinámico	1.5 mg
6-Bencilaminopurina	2.0 mg
Vitaminas	
Tiamina-HCl	0.4 mg
Azúcar:	
Sacarosa	20 gr
Solidificante:	
Agar	13 gr

Fuente: Arditti, Joseph. 1,977.

Procedimiento para la preparación de medios de cultivo

La preparación de los medios de cultivo es un proceso que debe llevarse a cabo minuciosamente. Utilizando como base el medio de cultivo más común para micropropagación es decir el medio básico M&S o Murashige & Skoog, a continuación se explica el procedimiento para la preparación de un medio de cultivo.

1. PREPARACION DE SOLUCIONES MADRE: normalmente estas soluciones se preparan por separado (Tabla 18) y se dividen en soluciones madres de macronutrientes, micronutrientes, quelatos de hierro, vitaminas, hormonas, antioxidantes, etc., y se elaboran de la siguiente manera:

Macronutrientes y Micronutrientes:

- Se coloca una pequeña cantidad de agua destilada o bien agua desmineralizada en un recipiente de 1 litro.
- Pesar con mucha precisión cada uno de los reactivos y luego agregarlos al recipiente conteniendo el agua.
- Revolver con la ayuda de un agitador para que se disuelva. En la mayoría de las soluciones se mezcla mas de un reactivo. No se deben incorporar varios reactivos a la vez debido a que ocurren problemas de precipitación, se deben de ir disolviendo uno a uno.
- Cuando tenemos todos los componentes en la solución se cambia a un recipiente de mayor precisión (balón de aforar), teniendo el cuidado de lavar dos veces el primer recipiente y el agua agregarla al recipiente nuevo para luego ajustar al volumen deseado.
- Ya teniendo la solución preparada se cambia a un recipiente de polietileno o bien de vidrio principalmente de color ámbar, para evitar el paso de la luz y por último se almacena en el refrigerador.

Quelatos de Hierro:

- a diferencia de la solución anterior, esta se compone únicamente de dos compuestos los cuales se disuelven por separado en agua caliente.
- Luego de estar disueltos se mezclan en otro recipiente con la capacidad de la solución que se desea preparar.
- Se espera a que se enfríe la solución para poder agregar el resto de agua para alcanzar el volumen deseado.
- Almacenar en un recipiente que no deje pasar la luz y luego refrigerar.

Vitaminas:

- Se preparan igual que la primera solución con la diferencia de que en el momento de tener el volumen deseado de solución se procede a congelar.
- Cada vez que se utilice la solución se debe de esperar a que descongele por completo.

Hormonas: para preparar una solución madre de 500 ml a una concentración de 100 mg/ 1,000 ml.

- Pesar 50 mg de la hormona y depositarlo en recipiente de 500 ml.
- Agregarle el reactivo que ayude a disolverla (Tabla 17) y agitar levemente hasta que la solución se vuelva transparente.
- Adicionar agua destilada o desmineralizada hasta llegar a un volumen aproximado de 400 ml.
- Transferir a una probeta de 500 ml y agregar agua hasta completar el volumen de 500 ml.
- Se debe de guardar congelada en la refrigeradora.
- Cuando se va a utilizar, se espera hasta que la solución descongele por completo.

Tabla 17A. Diferentes tipos de hormonas y sus respectivos solventes.

Forma de Disolución	Nombre de la Hormona						
	BA	Cinetina	ANA	AIA	AIB	2,4-D	GA ₃
Agua caliente 50°C	*	*	*	—	—	—	—
5-10 ml de alcohol al 99 %	*	*	*	—	—	—	—
1 ml de alcohol al 99 %	—	—	—	*	*	*	—
@ ml de NaOH al 0.1 N	*	*	—	—	—	—	—

* Adecuado — Inadecuado

Fuente: Principios Básicos de Cultivo de Tejidos, ICTA, JOCV.

Tabla 18A. Preparación de Soluciones Madres de Medio Murashige y Skoog (M&S)

Nombre de la Solución Madre	Cantidad de solución a preparar	Nombre Del compuesto	Cantidad del compuesto a agregar por litro de medio (mg/l)	Cantidad de compuesto a agregar para preparar la solución madre (gr/l)	Cantidad de solución a agregar para preparar un litro de medio
Macro I	1 Litro	Nitrato de amonio	1650	16.50	100 ml
		Nitrato de potasio	1900	19.00	
		Cloruro de calcio	440	4.40	
Macro II	1 Litro	Sulfato de magnesio	370	3.70	100 ml
Macro III	1 Litro	Fosfato de potasio	170	1.70	100 ml
Micro	1 Litro	Sulfato de zinc	8.6	8.600	1 ml
		Sulfato de manganeso	16.9	16.900	
		Sulfato de cobre	0.025	0.025	
		Acido bórico	6.18	6.18	
		Yoduro de potasio	0.83	0.83	
		Molibdato de sodio	0.24	0.24	
		Cloruro de cobalto	0.024	0.024	
Hierro	1 Litro	Sulfato ferroso	27.8	2.78	10 ml
		Na ₂ EDTA	37.2	3.72	
Vitaminas	1 Litro	Acido nicotínico	0.5	0.25	2 ml
		Tiamina	0.1	0.05	
		Piridoxina	0.5	0.25	
		Glicina	2	1	
		Myo-Inositol	100	50	
BAP	100 ml	Bencilaminopurina	3	0.1	3 ml
ANA	50 ml	Acido naftalenacético	1	0.05	1 ml
Antioxidante	500 ml	L-Cysteina	2.5	0.50	2.5 ml
		Carbón activado	500 - 1000		
		Agar	8000		
		Azúcar	30000		

Fuente: Investigación personal.

2. PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO: Para preparar un litro de medio de cultivo se procede de la siguiente manera:

- Se agrega de primero alrededor de 300 a 400 ml de agua destilada en un recipiente adecuado.
- Adicionar el volumen necesario de cada una de las soluciones madre preparadas con anterioridad. Por ejemplo de la solución madre denominada **Micro** (microelementos), solamente se agrega 1 ml para preparar el litro de medio de cultivo.
- Se agrega el azúcar de acuerdo con la Tabla 17.
- Se agrega el volumen necesario de la hormona u hormonas.
- Transferir a un balón de aforar o una probeta y agregar agua destilada hasta alcanzar el volumen requerido.
- Regular el pH del medio entre 5.7 y 5.8, agregándole una solución de KOH o NaOH 1 N. para aumentar el valor o bien HCl 1 N. para reducir el valor.
- Agregar el agente gelificante o de soporte, calentar y mantener en agitación para disolverlo.
- Ya disuelto por completo el agente gelificante se distribuye el medio en los recipientes que se utilizarán para el cultivo.
- Esterilizar en autoclave a 120°C, por un tiempo de 15 a 25 minutos.
- Almacenar en lugar fresco, seco y libre de contaminantes.

3. AGENTES GELIFICANTES VENTAJAS Y DESVENTAJAS:

Agar: Se utiliza con mucha más frecuencia que otros agentes, debido a la facilidad de conseguirlo en el mercado nacional. Sin embargo, se debe de utilizar con alto grado de pureza, pues de lo contrario el crecimiento de las plantas se puede ver inhibido. Normalmente se adiciona al medio en una proporción que va del 0.6 al 1 %.

Gelrite® (Phytigel®): Fue desarrollado para micropropagación de plantas. Requiere de un ión positivo para gelificar, puede ser K⁺, Ca⁺ (35). Es más transparente que el agar. Gelifica utilizando cantidades menores a las del agar. Se puede volver a disolver por recalentamiento. Es resistente al calor y a enzimas y produce una mezcla homogénea.

Gelcarfn®: Se utilizan las mismas cantidades que el agar, pero su costo constituye aproximadamente una quinta parte del costo del agar. Es transparente al igual que Gelrite®.

4. DIFERENTES TIPOS DE MEDIO PARA CADA FASE DEL CULTIVO: a pesar de que las plantas de orquídeas se multiplican y enraízan en un mismo medio de cultivo, a continuación se da una breve explicación sobre la utilización de diferentes medios para cada fase del cultivo:

Medio de Iniciación: Este medio tiene como función básica, el ser utilizado para establecer el explante bajo condiciones asépticas y luego obtener diferentes resultados como: a) geminación de semillas, b) inducción a la formación de yemas o brotes adventicios a partir de diferentes partes de la planta, y c) inducción a la formación de callo. Es importante mencionar que el tiempo de esta fase puede ser muy variable dependiendo de la especie y va de 5 a 8 semanas, esto puede provocar que durante este período se realicen cambios a medio fresco pero con las mismas especificaciones.

Medio de Multiplicación: Ya establecido el explante, se traslada al medio de multiplicación. En este medio nuevo lo que se pretende es de que el explante sea inducido a formar un gran número de brotes, todos emergiendo de una base común. Es este medio el más utilizado debido a que la fase de multiplicación normalmente se divide en varios subcultivos dentro del mismo medio. Muchas veces se utiliza el mismo medio que se empleó en la iniciación pero con la diferencia de que a este se le aumenta la concentración de hormonas específicamente de citocininas.

Medio de Enraizamiento: Con este medio lo que se pretende es preparar las plantas para ser transplantadas de su ambiente heterótrofo al ambiente autótrofo de un invernadero y luego a un recipiente definitivo. Normalmente a este medio se le suprimen las citocininas y se le adicionan auxinas. En algunas ocasiones se pueden reducir las sales inorgánicas. El medio en esta fase también puede ser preparado sin adicionarles hormonas.

IX. GLOSARIO

2,4-D: Auxina sintética. Se utiliza en dosis altas como herbicida. Aunque funciona estimulando la división celular y la formación de callo. Puede causar mutaciones.

Ácido Giberélico: (AG₃) hormona perteneciente al grupo de las giberelinas las cuales se utilizan para inducir a la proliferación de yemas adventicias y su elongación.

Agente Gelificante: También se le llama solidificante y es la sustancia que le da la consistencia sólida o semisólida a un medio de cultivo. Dentro de los compuestos utilizados el Agar y el Gelrite son los más comunes.

Agente humectante o surfactante: Agente para disminuir la tensión superficial.

AIB: hormona del grupo de las auxinas, se utiliza para promover la división celular y principalmente para la inducción a la formación y diferenciación de raíces.

ANA: hormona del grupo de las auxinas y se utiliza para promover la división celular y la diferenciación de raíces.

Antioxidante: Sustancia que se adiciona al medio de cultivo para evitar o reducir la oxidación del explante.

Asépsia: Hace referencia a condiciones de trabajo libre de agentes contaminantes, tales como: hongos, bacterias, virus, etc.

Asimbiótico: proceso que se da en ausencia de simbiosis.

BAP: regulador de crecimiento, perteneciente al grupo de las citocininas, que actúa sobre la división celular y la elongación celular.

Cámara de flujo laminar: aparato que contiene un filtro del tipo HEPA, que elimina el 99.99% de las partículas mayores de 0.3 micras y proporciona condiciones asépticas de trabajo.

Cápsula: del latín capsula, que significa caja; término empleado ya por Gómez Ortega en su traducción de Duhamel "Tratado de Siembras". Fruto sincárpico seco y dehiscente. Dentro de este género de frutos cabe una grandísima variedad de ellos. Para Beckey de Pascher y Pohl, el concepto todavía resulta menos preciso, porque para ellos no es menester que el fruto sea seco para que constituya una cápsula.

Carbón activado: se adiciona al medio nutritivo para absorber los materiales inhibitorios del crecimiento vegetal. Sin embargo, se debe tener cuidado ya que puede ser que absorba también algunos nutrimentos necesarios para el vegetal.

Caudícula (estípita): rabillo o pedículo (soporte) que sostiene las polinias en las flores de las orquídeas.

Cinetina: fitohormona perteneciente al grupo de las citocininas y se adiciona al medio para promover la división celular y la diferenciación de yemas y brotes adventicios de callos y órganos.

Clonación: obtención de plantas propagadas asexualmente, provenientes de un mismo individuo y que son genotípica y fenotípicamente iguales a la planta madre. Progenie vegetativa obtenida a partir de un ancestro común.

Columna: dentro de las orquídeas la estructura en la cual se encuentran fusionados los órganos reproductivos.

Cuarto de incubación: Es el sitio o lugar donde se colocan los materiales sembrados para su crecimiento. Estos cuartos están provistos de condiciones ambientales favorables para el crecimiento de las plantas como temperatura, fotoperíodo, humedad relativa e intensidades de luz.

Epífita (hábito): Adjetivo, aplícase a los vegetales que viven sobre otras plantas si obtener de ellas su nutrimento; no se trata por lo tanto de parásitos, ya que el hospedante, en este caso no presta más que soporte.

Escapo floral (eje de inflorescencia): (Del latín *scapus*, tallo de las plantas) es el tallo que, arrancando del rizoma, bulbo, etc., está desprovisto de hojas y trae las flores en el ápice. Los escapos son frecuentes en las monocotiledóneas.

Esquejes: (del latín *schidia*) fragmento de un tallo o rama, cogollo, que se introduce en un sustrato (tierra, arena, etc.) para que prenda y poder así multiplicar la planta.

Explante: parte de la planta que se cultiva a nivel *in vitro* para la micropropagación de una especie. Un explante puede ser una yema apical o axilar, una porción de hoja, raíces, polen, cotiledones, embriones, etc.

Fenoles: al igual que los polifenoles son productos liberados por el tejido del explante al momento de realizarse un corte.

Flamear: (lat. *flammare*) quemar alcohol para esterilizar algo. Colocar un objeto en la llama del alcohol para desinfectarlo.

Fotoperíodo: Término propuesto por Garner y Allard 1,920, usado para designar la duración del tiempo diario en que los organismos están expuestos a la acción de la luz.

Gelificante: agente o compuesto encargado de darle soporte o consistencia gelatinosa al medio de cultivo.

Geminación asimbiótica: en las orquídeas, se le denomina así al proceso de germinación de las semillas en ausencia del hongo *Micorriza*, todo esto bajo condiciones de laboratorio.

Heterotrofismo u Heterótrofo: aplícase al vegetal que según su forma de alimentarse, no puede sintetizar los hidratos de carbono de elementos inorgánicos y necesita tener a su alcance una fuente para de ellos para poder crecer.

Hifa: en los hongos, cada uno de los elementos filamentosos que constituyen su aparato vegetativo.

Hyponex ®: Abono foliar sintético.

In-vitro: Se refiere a aquel proceso biológico realizado experimentalmente en aislamiento, es decir, separado del organismo. Literalmente hace referencia a "en vidrio", por ejemplo, en tubo de ensayo.

Keikis: plántula pequeña que se origina en la parte media o alta de los pseudobulbos de las orquídeas y que tiene la característica de enraizar mientras está unida a la planta madre.

Labelo o labio: pétalo modificado en las orquídeas y usualmente es el más vistoso y al igual que el resto de verticilos florales sirve de atrayente para los polinizadores.

Latencia o latente: yema fructífera que permanece en estado rudimental, que no se desarrolla.

Litófitas: plantas propias del suelo físicamente seco, por consistir en la roca viva.

Lux: Unidad de medida de iluminación. Cantidad de iluminación irradiada por una bujía a una distancia de 1 metro, sobre una superficie de un metro cuadrado.

Medio M & S: medio nutritivo de Murashige & Skoog. Se desarrolló originalmente para el cultivo de callos de tabaco, pero actualmente es el más utilizado.

Meristemo: tejido embrionario o no diferenciado que se encuentra en los puntos o regiones de crecimiento de los vegetales. Dase el nombre a todo tipo de tejido cuyas células crecen y se multiplican. Punto de crecimiento en que la división celular es muy activa. Tiene forma de cúpula.

Micropropagación: propagación masiva de plantas mediante técnicas *in-vitro*.

Monopodial: tipo de crecimiento que se compone de un eje principal, en cuyo ápice se halla perdurablemente el punto vegetativo.

Polinia (polinio): masa de granos de polen que comprende la totalidad de los granos de cada teca en la antera.

Protocormos: en las orquídeas, cuerpo tuberiforme que se desarrolla para propiciar la diferenciación embrional, el cual se fija al substrato mediante rizoides.

Pseudobulbos: engrosamiento bulbiforme caulinar (tallo) de algunas orquídeas.

Rostelo (lat. Rostellum): órgano de las flores de las orquídeas constituido por una masa de tejido generalmente un poco prolongada a modo de piquito y correspondiente al estigma impar anterior estéril. Su función es la de mantener la humedad del estigma fértil.

Saran: Malla que se utiliza para cubrir parcialmente la luz.

Simbiosis: vida en común de dos o más organismos distintos con beneficio mutuo.

Simpodial: tipo de crecimiento que consiste en una serie de brotes unidos por sus extremos en un solo cuerpo axial.

Sphagnum: género de muscíneas (musgos), crece en el seno de las aguas de los pantanos con poco oxígeno.

Turba: materia carbonacea blanda, parda, mas o menos obscura constituida por restos vegetales variados en diverso grado de descomposición.

Tween: véase agente humectante o surfactante.

Viscidio: cuerpo viscoso o pegajoso.

Zygomorfa: se le denomina al tipo de flor que únicamente puede ser dividida en único eje para poder obtener dos partes iguales.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA
CIUDAD UNIVERSITARIA, ZONA 12
GUATEMALA, CENTROAMÉRICA

10 de mayo de 2000

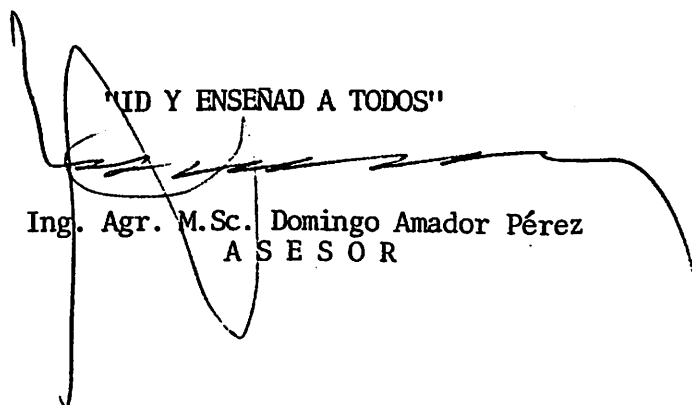
Ingeniero Agrónomo
Alvaro Gustavo Hernández Dávila
DIRECTOR
Instituto de Investigaciones Agronómicas -IIA-
Facultad de Agronomía
Su Despacho.

Ingeniero Hernández Dávila:

En cumplimiento del nombramiento que el Instituto de Investigaciones Agronómicas me hiciera, por este medio hago de su conocimiento que de conformidad con el "Programa Extraordinario para la Realización de Tesis de Grado para la Carrera de Ingeniero Agrónomo", he procedido a asesorar el trabajo del estudiante ERWIN ESTUARDO ARCHILA MORALES, Carné No. 88-13203, Titulado: "MANUAL DE PROPAGACION DE ORQUIDEAS in vitro"

Luego de incorporadas las sugerencia y atendidas las observaciones realizadas, considero que dicho trabajo satisface los requisitos para su aprobación como Documento de Graduación.

Atentamente,

"DID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. M.Sc. Domingo Amador Pérez
A S E S O R

DAP/.
cc. Archivo.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

DOCUMENTO DE GRADUACION: 'MANUAL DE PROPAGACION DE ORQUIDEAS in vitro'

DESARROLLADO POR EL ESTUDIANTE: ERWIN ESTUARDO ARCHILA MORALES.

CARNE No.: 88-13203.

HA SIDO EVALUADO POR EL PROFESIONAL:

Ing. Agr. M.Sc. Domingo Amador Pérez.

El Asesor y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las Normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, enmarcados en el "PROGRAMA EXTRAORDINARIO PARA LA REALIZACION DE TESIS DE GRADO PARA LA CARRERA DE INGENIERO AGRONOMO"; Aprobado por Junta Directiva de la Facultad de Agronomía, según el Punto Cuarto del Acta No. 43-98 de Sesión celebrada el 17 de septiembre de 1998.

Ing. Agr. M.Sc. Domingo Amador Pérez
A S E S O R

Ing. Agr. M.Sc. Alvaro Gustavo Hernández Díaz
DIRECTOR I.I.A.



I M P R I M A S E

Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco
D E C A N O



AGHD/Oscar E.
cc. Archivo
Control Académico
I.I.A.