



Obtención de cápsulas y germinación del producto del cruce entre *Schomburgkia crispa* Lindl. x *Cattleyopsis lindenii* (Lindl.) Cogn.

Emma Grillo Mensa, Esperanza Peña García y Dalia Pérez Montesino, Jardín Botánico Nacional

RESUMEN

Se estudiaron el efecto de la polinización intergenérica y las posibilidades del desarrollo de cápsulas, así como la germinación "*in vitro*" de las semillas resultantes en Orchidaceae. Las flores de *Schomburgkia crispa* se polinizaron artificialmente con *Cattleyopsis lindenii* por los métodos tradicionales, en marzo. Se reportan datos relacionados con el ritmo de desarrollo y con algunos caracteres fenológicos de los frutos hasta su maduración.

Las semillas obtenidas de cápsulas abiertas maduras germinaron masivamente "*in vitro*", después de trece días en medio de Knudson iluminación continua, de baja intensidad y temperatura controlada. Se discuten los resultados.

ABSTRACT

Effect of intergeneric polinization and possibilities of fruit development in addition to "*in vitro*" germination of the resulting seeds were studied. *Schomburgkia crispa* flowers were artificially pollinated with *Cattleyopsis lindenii* by traditional methods in March. Date related to development and some phenologic characters of the fruits up to maturation are reported.

The obtained seeds from open-mature capsules germinated massively "*in vitro*" after thirteen days in Knudson's medium, continuous low intensity illumination and controlled temperature. Results are discussed.

INTRODUCCIÓN

La propagación masiva de orquídeas, utilizando la técnica del cultivo "*in vitro*", cobra cada día mayor interés por sus múltiples ventajas. Es importante señalar que en el caso de las orquídeas esta novedosa técnica, no sólo ahorra tiempo y espacio, sino que es la vía para la obtención masiva de plántulas a partir de semillas y de los más complejos y variados híbridos.

El surgimiento de las técnicas del cultivo "*in vitro*", aplicadas a estudios de hibridización, amplió sus posibilidades comerciales debido, por una parte, a lo común que resulta obtener híbridos en esta familia y a la diversidad de las interesantes flores logradas.

El primer híbrido artificial en orquídeas se logró desde mediados del siglo XIX y en los años siguientes la práctica de hibridización se desarrolló hasta tal punto que treinta y cuatro años después se habían logrado exitosamente doscientos nuevos cruces (Menninger, 1956); hoy día existen cientos de miles, cifra que se eleva cada año con el conocimiento de la genética y la aplicación del cultivo "*in vitro*".

Si se considera que la hibridización entre especies muy diferentes puede traer consigo una descendencia muy variable en las distintas características de los parentales, lo cual puede verse incrementado si se trata de heterocigóticos, el cultivo de semillas de una misma cápsula daría como resultado una gran variación para cada carácter, siendo infinitas las posibles combinaciones a obtener.

Si unido a lo expuesto antes, se tiene en cuenta las ventajas de la técnica de propagación, resulta evidente su empleo con objetivos básicos y prácticos.

En el presente trabajo se reportan los resultados obtenidos de la polinización intergenérica de flores de *Schomburgkia crispa* con *Cattleyopsis lindenii* hasta la obtención masiva de protocormos

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utilizaron plantas de *Schomburgkia crispa* Lindl. y *Cattleyopsis lindenii* (Lindl.) Cogn. que crecen en los umbráculos del Jardín Botánico Nacional.

Las flores recién abiertas de *Schomburgkia crispa*, especie guyanesa, se polinizaron en el mes de marzo con la especie cubana *Cattleyopsis lindenii*.

Para evitar la influencia del conjunto de flores y/o del desarrollo de otras cápsulas sobre el ritmo fisiológico del de cada una, se polinizó una flor por planta, eliminando el resto.

Después de la polinización, se registró el ritmo de crecimiento del fruto sobre la base del diámetro máximo de la cápsula en desarrollo hasta su dehiscencia.

También se evaluó el color de las cápsulas semanalmente y hasta que la apertura se hizo visible a simple vista.

Para el estudio de las posibilidades de germinación masiva "in vitro" de las semillas resultantes del cruce, se utilizaron las cápsulas recién abiertas, y las semillas se esterilizaron y se sembraron según ha sido descrito antes (Grillo, Peña y Pérez, 1985).

Las condiciones de cultivo empleadas también se corresponden con las aplicadas a otras especies de orquídeas en nuestro laboratorio (Grillo, Peña y Pérez, 1985). Se controló a diario el estado de la siembra para determinar el momento en que ocurre el cambio de coloración a verde de la totalidad del inóculo, considerado para estos fines como un indicador adecuado de la germinación masiva de semillas (Grillo, Peña y Pérez, 1985 y Grillo, Peña y Pérez, 1986).

RESULTADOS

1. DESARROLLO DE CÁPSULAS

El ritmo de crecimiento promedio de las cápsulas y la coloración del fruto en cada etapa desde su formación hasta el inicio de la dehiscencia se reflejan en la figura 1.

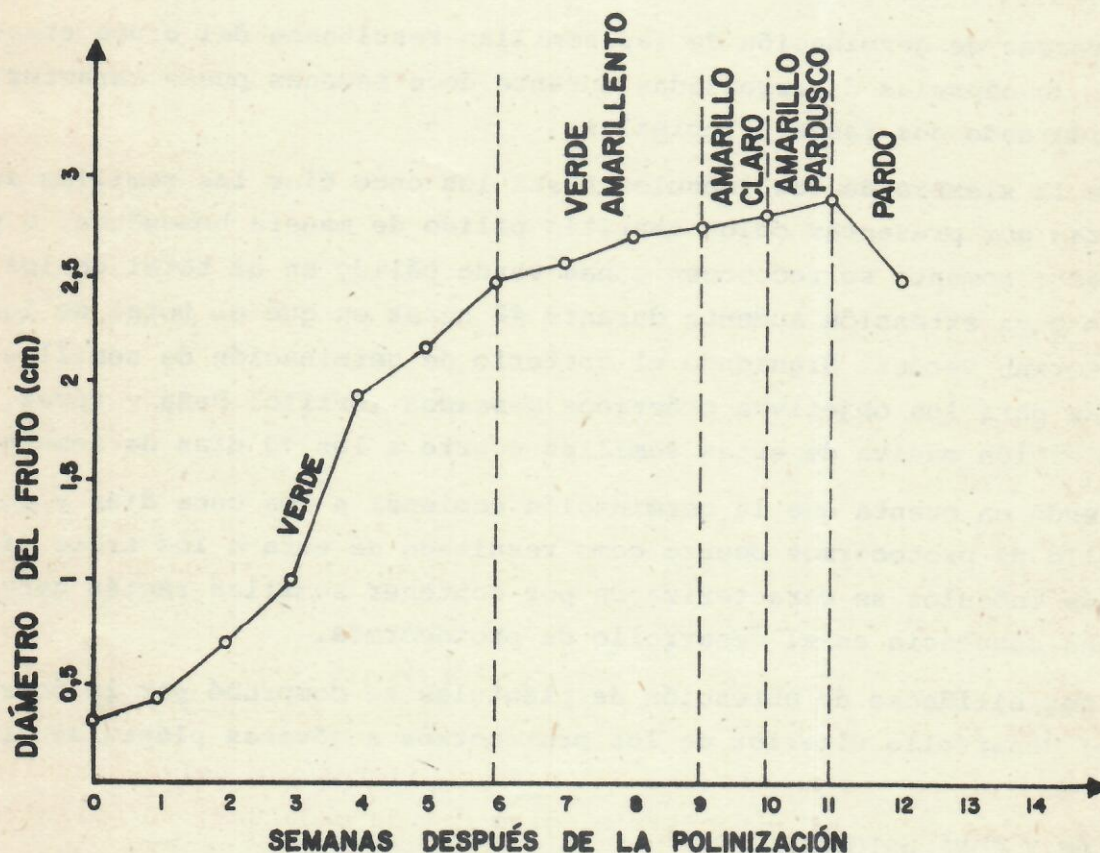


Figura 1. Cambios en la talla (medidos por el diámetro máximo) y el color del fruto durante su desarrollo hasta su dehiscencia.

En las condiciones en que se desarrolló el experimento se ve un incremento rápido del diámetro de las cápsulas verdes durante las seis primeras semanas, resultando muy acentuado entre la tercera y cuarta semana, siendo más o menos constante el ritmo en el resto de esta etapa.

A partir de la sexta semana y hasta la semana once, el incremento en el diámetro del fruto por semana es constante y más lento que en la etapa inicial de su formación. Sin embargo, comienzan a ocurrir varios cambios de coloración y a partir de la semana 11, se produce un decremento significativo en el diámetro, cuyo valor coincide con el del momento en que comienza el cambio de coloración de verde a verde amarillento y que se caracteriza por presentar una coloración parda, paralelamente con su apertura.

Durante esta última semana se observan las características de la dehiscencia de la cápsula desde sus inicios.

Esta comienza por tres puntos de la región distal del fruto y se aprecia sólo con la ayuda de una lupa, al final de la semana, la dehiscencia se hace visible observándose las tres ranuras que se extienden hasta tres milímetros aproximadamente del ápice; momento en el que se realizó la última medición.

2. GERMINACIÓN DE LA SEMILLA

El proceso de germinación de las semillas resultante del cruce efectuado a partir de cápsulas desarrolladas durante doce semanas puede caracterizarse considerando dos fases principales.

Desde la siembra de los inóculos hasta los once días las semillas se caracterizan por presentar color amarillo pálido de manera homogénea, a partir de este momento se reconocen zonas verde pálido en el total de los inóculos cuya extensión aumenta durante 48 horas en que el total de los mismos se tornan verdes. Siguiendo el criterio de germinación de semillas de orquídeas para los objetivos prácticos deseados (Grillo, Peña y Pérez, 1985), la germinación masiva de estas semillas ocurre a los 13 días de sembradas.

Teniendo en cuenta que la germinación comienza a los once días y que el desarrollo de protocormos ocurre como resultado de esta a los trece días, todos los inóculos se caracterizaron por contener semillas recién germinadas y una secuencia en el desarrollo de protocormos.

Las posibilidades de obtención de plántulas se comprobó por la observación del desarrollo ulterior de los protocormos a jóvenes plántulas (figura 2).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La caracterización del desarrollo de cápsulas en orquídeas resulta de importancia en los intentos de la aplicación de las técnicas de cultivo "in vitro" especialmente de la germinación de semillas.

Resulta evidente que la determinación del momento a partir del cual pueden colectarse las cápsulas cuyas semillas contengan embriones maduros, resulta ventajosa en distintos sentidos. El acortamiento del proceso hasta la obtención de protocormos, puede acelerarse, así como, se hace innecesaria la esterilización de las semillas.

Algunos autores han realizado estudios en el desarrollo del fruto de orquídeas desde la polinización hasta su maduración (Duncan y Curtis, 1942; Duncan y Curtis, 1943; Wirth and Withner, 1959) y se ha demostrado que los embriones en la mayoría de las orquídeas tienen un estado relativamente indiferenciado al madurar, así como que las semillas carecen de endospermo (Maheshwari, 1950; Wirth and Withner, 1959; Veyret, 1974; Arditti, 1979; Dressler, 1981).

Recientemente se han reportado aspectos estructurales relacionados con factores de crecimiento como las citoquininas y las giberelinas en el desarrollo del fruto de *Epidendrum* (Taylor, Blackman y Yeung, 1982) que permite explicar algunos aspectos del desarrollo de los frutos logrados en el presente estudio; teniendo en cuenta que las tendencias en las distintas fases del desarrollo de las cápsulas, por la evaluación del diámetro de las mismas resultan equivalentes.

Las cápsulas resultantes del cruce intergenérico efectuado se desarrollan activamente durante seis semanas y el incremento abrupto del diámetro entre la tercera y cuarta semana debe corresponderse con la etapa en que la mayoría de los óvulos quedan fertilizados y comienza la formación de los embriones. Resultaría interesante comprobar si en este período los embriones resultantes del cruce tienen elevada actividad citoquinínica. Como el desarrollo de los embriones se extiende hasta la semana once y ocurren cambios de coloración en esta etapa resultaría de suma importancia relacionar los cambios de coloración observados al por ciento de embriones maduros en cada fase, lo cual se traduciría en la efectividad de lograr la germinación masiva en menor tiempo sin que conlleve la utilización de medios minerales más complejos y costosos que influyan en el desarrollo final de los embriones no maduros en la etapa de colecta. A partir de la oncenava semana en que ocurre una reducción del diámetro, y que ha sido considerada como una fase de desecación de las semillas, todas las semillas están fisiológicamente aptas para germinar y esta etapa se corresponde también con un cambio de la coloración externa del fruto.

Es por ello que la determinación del menor tiempo en que se colecten las cápsulas para lograr los objetivos propuestos deberá evaluarse en semillas procedentes de cápsulas cuya coloración externa oscile entre verde amarillento y amarillo parduzco. Si se tienen en cuenta nuestras condiciones ambientales para una misma especie en el tiempo del desarrollo de cápsulas hasta su maduración, se evidencia aún más la importancia de determinar un paráme

tro como la coloración del fruto que refleje el estado fisiológico de las semillas independientemente del tiempo en que este se alcance.

La germinación masiva obtenida en el cruce intergenérico efectuado demuestra la efectividad del cruce y la posibilidad de obtener plántulas de variados fenotipos en el medio de germinación simple tradicionalmente usado.

Los resultados obtenidos merecen nuestra atención al lograr la viabilidad del cruce intergenérico, experimento con el cual se inicia la incursión en esta línea de trabajo tan interesante y ventajosa en nuestro jardín botánico.



Figura 2. Producción de protocormos a partir de la germinación de las semillas sembradas y formación de plántulas posteriormente.

BIBLIOGRAFÍA

- Arditti, J. (1979).
Aspects of the physiology of Orchids. *Adv. Bot. Res* 7: 421-655.
- Dressler, R.L. (1981).
The Orchids: Natural History and Classification. Harvard University press. Cambridge.
- Duncan, R.E., and Curtis, J.T. (1942).
Intermittent growth of fruits of *Phalaenopsis*. A correlation of the growth phases of an orchid fruit with internal development. *Bull. Torrey Bot. Club* 69: 167-183.
- (1943).
Growth of fruits in *Cattleya* and allied genera in the Orchidaceae. *Ibid.* 70:104-119.

- Grillo, E., E.Peña y D.Pérez (1985).
Germinación "in vitro" de algunas especies de orquídeas en el Jardín Botánico Nacional. Rev. Jardín Botánico Nacional Vol.III, No.1.
- Grillo, E.; E.Peña y D. Pérez (1986).
Germinación y desarrollo inicial de *Eulophia alta* (L.) Fawcett et Rendle. En prensa.
- Maheshwari, P. (1950).
An Introduction to the Embryology of the Angiosperms. Mc Graw-Hill New York.
- Menninger, E.D. (1956).
One hundred years of orchid hibridization. Am. Orch. Soc. Bull; 25(10): 667-671.
- Taylor, J.S.; S.J.Blackman and E.C.Yeung (1982)
Hormonal and Structural Aspects of Fruit Development in the Orchid, "Epidendrum".
Journal of Experimental Botany. Vol.33, No.134, pp 495-505.
- Veyret, Y. (1974).
Development of the embryos and young seedling stages of orchids.
The Orchids: Scientific Studies. Ed. C.L.Withner. John Wiley and Sons. New York: 223-265.
- Wirth, M., and Withner, C.L. (1959).
Embryology and development in the Orchidaceae.
The Orchids: A Scientific Survey. Ed. C.L. Withner.
The Ronald Press Company. New York: 155-188.

Recibido: 2 de julio de 1986.