

Germinación masiva "in vitro" de algunas especies de orquídeas en el Jardín Botánico Nacional

Emma Grillo Mensa, Esperanza Peña, Dalia Pérez, Jardín Botánico Nacional
Universidad de La Habana

RESUMEN

Se reporta la germinación masiva de semillas de orquídeas procedentes de cápsulas maduras de especies epífitas y terrestres, exóticas y que viven en Cuba. La utilización del medio Knudson C, luz blanca de poca intensidad y temperatura variable entre 21 y 29°C resultan efectivos. Se discuten la técnica empleada para la obtención masiva de protocormos así como su importancia en las primeras fases del desarrollo de especies cubanas y exóticas que no se logra en condiciones de vivero.

ABSTRACT

Massive germination of seeds obtained from mature pods of epiphytic and non-epiphytic exotic and Cuba-living species of orchids is described. The use of Knudson C medium, low intensity white light and oscillating temperature between 21 and 29°C are effective. The employed technique for obtaining protocorms and its importance in developing the first stages of Cuban and exotic species that cannot be obtained in nursery conditions are discussed.

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas constituyen un grupo de plantas de gran interés botánico y ornamental. Las dimensiones de sus semillas y la complejidad de su reproducción sexual contribuyó a que muchos la consideraran hasta principios del siglo XIX como plantas estériles. El número creciente de trabajos

que comenzó a aparecer, en los que se describían las primeras fases del desarrollo de las plántulas (Irmisch, 1853; Fabre, 1856; Prillieux et Rievere, 1856) condujo al estudio de su mecanismo de germinación, de lo que se derivó la conclusión de que la infección fungosa de la semilla resultaba

indispensable para su germinación porque intervenía en el desdoblamiento del almidón en azúcares simples que influían de manera determinante en el desarrollo del embrión (Bernard, 1899).

En la década del 20 del presente siglo la obtención de plántulas de orquídeas en medios estériles que contenían azúcares (Knudson, 1922) se convirtió en una vía importante de propagación. Sin embargo, no proporcionaba el método idóneo para una rápida multiplicación clonal. Actualmente la propagación clonal por el cultivo de meristemos constituye una manera de resolver las limitaciones de las técnicas de propagación utilizadas con anterioridad, aspecto tratado en múltiples publicaciones y sintetizado en revisiones (Arditti, 1967) y libros relacionados con las técnicas de cultivo

"in vitro" (Rao, 1977).

A pesar de los logros referidos en esta temática, la germinación de semillas de Orchidaceae "in vitro" resulta importante en la obtención y caracterización de híbridos como fuente indirecta de meristemas estériles y en la propagación masiva de especies cuando se logran los métodos y condiciones idóneas para lograr un por ciento elevado de semillas germinadas, entre otros.

En el presente trabajo se reporta la germinación exitosa de algunas especies de orquídeas cubanas y foráneas que se cultivan en el Jardín Botánico Nacional con el objetivo de conocer las posibilidades de utilización de cápsulas maduras, medio Knudson C, iluminación continua y temperatura variable en la obtención masiva de protocormos para futuros trabajos de propagación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cápsulas maduras de las 28 especies de orquídeas que se relacionan en las Tablas 1 y 2, procedentes del vivero del Jardín Botánico Nacional y del Orquideario de Soroa.

El material se esterilizó de acuerdo con las condiciones de la cápsula. En los casos en que la observación microscópica del material reveló el comienzo de la dehiscencia, se extrajeron las semillas

TABLA 1. Relación de especies de Orchidaceae trabajadas que viven en Cuba

<i>Bletia purpurea</i> (Lam.) DC.	terrestre
<i>Bletia florida</i> (Salisb.) R.Br.	terrestre
<i>Bletia patula</i> Hook.	terrestre
<i>Phaius tankervilleae</i> (Banks.) Bl.	terrestre
<i>Cattleyopsis lindenii</i> (Ldl.) Cogn.	epífita
<i>Cattleyopsis ortgiesiana</i> (Rchb.f.) Cogn.	epífita
<i>Cyrtopodium punctatum</i> (L.) Ldl.	epífita
<i>Epidendrum difforme</i> Jacq.	epífita
<i>Epidendrum latilabrum</i> Ldl.	epífita
<i>Epidendrum nocturnum</i> Jacq.	epífita
<i>Epidendrum secundum</i> Jacq.	epífita
<i>Encyclia phoenicia</i> (Ldl.) Neum.	epífita
<i>Encyclia cochleata</i> (L.) Lemee.	epífita
<i>Polystachya concreta</i> (Jacq.) Caray et Sweet.	epífita
<i>Polystachya foliosa</i> (Hook.) Rchb.f.ex.Walp.	epífita
<i>Scaphyglottis modesta</i> (Rchb.f.) Schltr.	epífita

de la cápsula y se esterilizaron según el método reportado por Richter (Richter, 1982). Las cápsulas cerradas se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 3 % y se flamearon antes de extraer las semillas para la siembra "in vitro". En todos los casos, la totalidad de semillas procedentes de cada cápsula se homogeneizaron para evitar la influencia del desarrollo fisiológico alcanzado por las mismas como factor de variación en los distin-

tos tubos sembrados de cada especie.

Los inóculos se realizaron en el medio nutritivo Knudson C (Knudson, 1922), en plano inclinado, diseminando las semillas con un asa de platino por toda la superficie libre del medio.

Los tubos inoculados se colocaron posteriormente sobre repisas y se mantuvieron con luz continua blanca de poca intensidad a temperaturas que oscilaron entre 21 y 29°C.

TABLA 2. Relación de especies exóticas de Orchidaceae trabajadas.

<i>Arundina bambusifolia</i> Ldl.	terrestre
<i>Grammatophyllum multiflorum</i> Ldl.	terrestre
<i>Aerides odoratum</i> Lour.	semiterrestre
<i>Cattleya aurantiaca</i> Rolfe	epífita
<i>Cattleya violacea</i> Hort.	epífita
<i>Cymbidum aloifolium</i> Sw.	epífita
<i>Cymbidum atropurpureum</i> Rolfe	epífita
<i>Dimeranda emarginata</i> (C.F.Meyer) Hoehne	epífita
<i>Laelia erubescens</i> Du Buyss.	epífita
<i>Lackhartia acuta</i> Rchd.	epífita
<i>Lockhartia elegans</i> Hook.	epífita
<i>Spathoglottis plicata</i> (blanca) Bl.	epífita
<i>Spathoglottis plicata</i> (morada) Bl.	epífita

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de los resultados de la efectividad de la técnica empleada se realizó cualitativamente.

En la tabla 3 se relacionan los tiempos en que se hicieron visibles el cambio de color que se produce una vez germinadas las semillas y la formación de protocormos en la casi totalidad del inóculo.

Aunque estos resultados no constituyen el tiempo de germinación para cada una de las especies utilizadas en las condiciones de cultivo empleadas, son de más valor que este para los objetivos trazados por cuanto reflejan de manera objetiva las posibilidades de utilización de las condiciones descri-

tas antes para la obtención de protocormos como fuente de material en la propagación masiva de las diferentes especies.

Se evidencia que las especies utilizadas en el presente trabajo en cuya selección sólo intervino la posibilidad de obtención de la cápsula madura, el 68 % de las especies responden muy positivamente en las condiciones de cultivo empleadas, independientemente de que sean epífitas o terrestres y de que se trate de especies que viven en Cuba o exóticas. Teniendo en cuenta la efectividad de la germinación de las semillas de orquídeas en la naturaleza, la obtención masiva de protocormos "in vitro" en menos de un mes, resulta significativo. (Figuras 1, 2, 3 y 4)

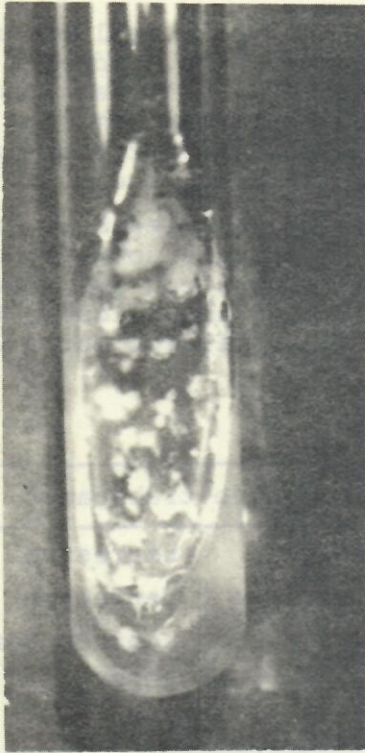


Figura 1a.

Germinación masiva de una especie de orquídea cubana epifita (*Plystachya concreta*)

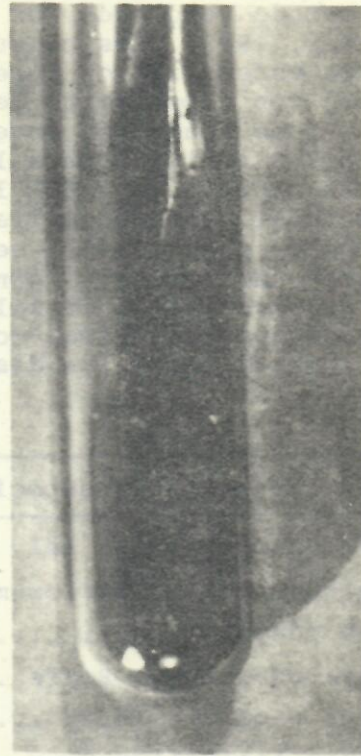


Figura 1b.

Germinación masiva de una especie de orquídea cubana terrestre (*Phaius tankervillei*). Obsérvese el estado general de protocormos.

Figura 2a.

Germinación masiva de una especie de orquídea exótica epifita (*Cymbidium atropurpureum*). Se muestra la fase última de esta experiencia.

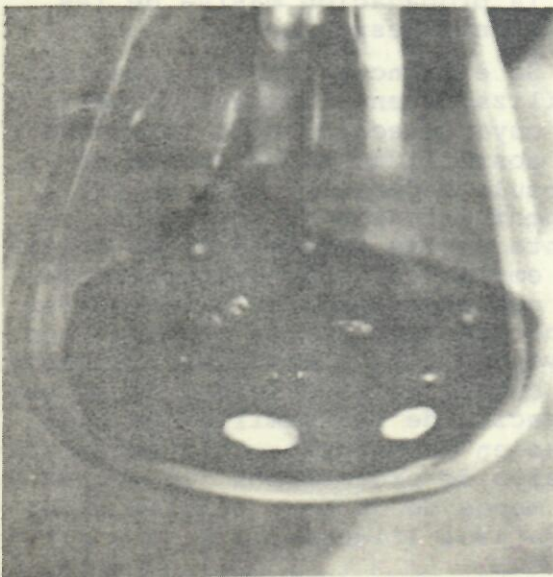


Figura 2b.

Germinación masiva de una especie de orquídea exótica semiterrestre (*Aerides odoratum*). Se muestra la fase última de esta experiencia.

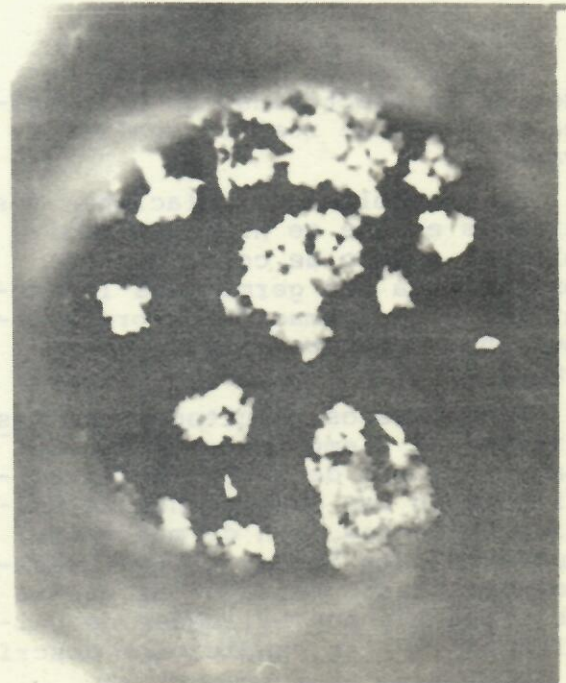


TABLA 3. Germinación masiva "in vitro" de especies de orquídeas. Los resultados refieren el tiempo en que se notó el cambio de color en todo el inóculo lo que abarca la existencia de algunos organismos en fase protocormal.

Días para la obtención masiva de protocormos	Tiempo registrado (días)	Especies y (variedades)
0-15	6	<i>Encyclia phoenicia</i>
	9	<i>Lockhartia acuta</i>
	10	<i>L. elegans</i>
	10	<i>Bletia florida</i>
	12	<i>Cattleyopsis ortgiesiana</i>
	13	<i>Dimeranda emarginata</i>
	14	<i>Bletia patula</i>
	14	<i>Grammatophyllum multiflorum</i>
	14	<i>Spathoglottis plicata</i> (blanca)
	15	<i>S. plicata</i> (morada)
16-30	16	<i>Cattleyopsis lindenii</i>
	16	<i>Encyclia cochleata</i>
	16	<i>Polystachya foliosa</i>
	20	<i>Arundina bambusifolia</i>
	24	<i>Cattleya aurantiaca</i>
	25	<i>Phaius tankervilleae</i>
	25	<i>Polystachya concreta</i>
	30	<i>Bletia purpurea</i>
30	<i>Cymbidium aloifolium</i>	
31-45	31	<i>Laelia erubescens</i>
	32	<i>Cattleya violaceae</i>
	35	<i>Cymbidium atropurpureum</i>
46-60	52	<i>Scaphyglottis modesta</i>
	58	<i>Epidendrum secundum</i>
	60	<i>Cyrtopodium punctatum</i>
61-75	62	<i>Epidendrum difforme</i>
	65	<i>E. latilabrum</i>
76-90	90	<i>Aerides odoratum</i>
	90	<i>Epidendrum nocturnum</i>

Por otra parte, aún en los casos en que los cambios visibles que indican la germinación masiva de las semillas alcanza los 90 días, como ocurre en *Aerides odoratum* y *Epidendrum nocturnum*, la aplicación de esta técnica general es factible por cuanto en el período necesario para que ocurran, no se produce una deshidratación significativa de los medios de cultivo que pudiera alterar la germinación y desarrollo post-germinativo.

Es importante destacar que el medio Knudson C no contiene factores de crecimiento por lo que es posible mejorar los tiempos reportados logrando los medios óptimos para cada especie y emplearlos en la propagación masiva si su adición acelera de manera significativa el desarrollo de los protocormos en las especies de germinación más lenta.

Los resultados obtenidos en *Grammatophyllum multiflorum* son dignos de destacar por separados. Esta especie foránea es de crecimiento monopodial, lo que no permite una propagación rápida en el vivero por vías vegetativas. Por otra parte, aunque se lograron cápsulas por polinización artificial, la germinación efectiva de las semillas sólo se obtuvo en

condiciones de cultivo aséptico y en un tiempo corto.

Otro resultado de interés especial lo constituye la germinación de *Scaphyglottis modesta*, especie cubana que no ha podido conservarse fuera de su hábitat natural. Las cápsulas procedentes de una planta que vivió corto tiempo en el Jardín pudieron utilizarse en la multiplicación masiva de manera exitosa con la técnica empleada. Aunque su desarrollo ulterior no fue bueno, constituye una vía importante para obtener material a utilizar en estudios de acondicionamiento.

Además, en *Cattleya aurantiaca* se reporta la obtención de protocormos en seis semanas a partir de semillas inmaduras en el medio de Vacin y Went y en condiciones de iluminación (Rao, 1977) lo cual se asemeja con nuestros resultados aunque en este caso, se obtuvieron en sólo 24 días partiendo de cápsulas maduras y medio Knudson C.

En general, el inicio de trabajo de germinación "in vitro" de especies de Orchidaceae que viven en Cuba resulta novedoso ya que permitirá la ejecución de trabajos anatómicos, embriológicos y citogenéticos no realizados hasta el presente.

BIBLIOGRAFÍA

- Arditti, J. (1967)
Factors affecting the germination of orchid seeds. *Botanical Review* 33, pp. 1-97.
- Bernard, N. (1900)
Sur quelques germinations difficiles. *Rev. Gen. Bot.* 12; pp. 108-120.
- Fabre, J.H. (1856)
De la germination des Ophrydées et de la nature de leur tubercule. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, ser. IV, 5, pp. 163-186.
- Irmisch, T. (1853)
Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen.
- Knudson, L. (1922)
Non symbiotic germination of orchid seeds. *Bot. Gaz.* 73, (1), pp. 1-25.
- Rao, A.N. (1977)
Tissue Culture in the Orchid Industry. En: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, J. Reinert and Y.P.S. Bajaj eds. Springer Verlag, Berlin, chap. 3, pp. 44-69.
- Richter, W. (1982)
Orchideen pflegen, vermehren, züchten. Neumann Verlag, Leipzig. Radebeul. 15, pp. 113-141.
- Prillieux, E. et Rievere, A. (1856)
Observations sur la germination et le développement d'une orchidée (*Angraecum maculatum*). *Ann. Sci. Nat. Bot.*; ser IV; 5 pp. 119-136.

Recibido: 2 de mayo de 1985.