

PROPAGACIÓN DE PLÁNTULAS DE *Bletia catenulata* Ruiz & Pavón, y *Epidendrum secundum* Jacquin y SU CULTIVO EN INVERNADERO

Lourdes Acuno M., Elena Emperatriz Madera T., Griselda Muñoz D., Concepción Mariaca V.,
Ramón Gustavo Quispe M., Luz Marina Ponce A. y José Yabarrana U.

RESUMEN

Los métodos de cultivo de tejidos son ampliamente utilizados desde hace años en la industria de orquídeas en todo el mundo; estos importantes conocimientos de multiplicación vegetativa se han empleado y adaptado a nuestras condiciones regionales para desarrollar técnicas de propagación y cultivo in vitro en plántulas de las especies *Bletia catenulata* Ruiz & Pavón y de *Epidendrum secundum* Jacquin. El área de estudio está ubicada en el Departamento del Cusco, Provincia de Calca, Distrito de Lares; específicamente comprendida entre la población de Lares y la localidad de Manto, situadas en las estribaciones del río Yanatile y del río Amparaes. La investigación se desarrolló en los Laboratorios de Biología y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Inicialmente se procedió al estudio in situ de las condiciones de crecimiento y desarrollo de las especies en estudio, posteriormente se realizó la micropropagación in vitro de plántulas y finalmente se determinó los sustratos óptimos, así como las condiciones ideales de temperatura, pH y humedad para el cultivo en condiciones de invernadero de estas especies.

INTRODUCCIÓN

El Perú posee posiblemente la mayor diversidad de orquídeas del planeta, favorecido por la gran variedad de microclimas que su geografía le permite y que albergan especies en áreas muy restringidas con características climáticas muy específicas. El Valle de Lares ubicada entre las coordenadas 12° 57'40,30", Latitud Sur y 72° 04'33,15", Longitud Oeste, a una altitud de 3,200 m y la localidad de Manto ubicada entre las coordenadas: 13° 06'18,03", Latitud Sur y 72° 02'33,48", Longitud Oeste, a una altitud de 2,325 m, poseen estas características pues presentan bosques del tipo Andino Tropical, donde es posible encontrar numerosos representantes de la familia Orchideaceae.

Las orquídeas son consideradas como la familia más grande entre las monocotiledóneas y probablemente de todo el reino vegetal, con más de 900 géneros y alrededor de 20 000 especies, distribuidas en casi todas las regiones del planeta; más de la mitad de ellas son epifitas, algunas están adaptadas a vivir sobre rocas y el resto son terrestres y saprófitas.

Al iniciarse un nuevo milenio, se ha hecho más evidente la comprensión del problema de deterioro del ambiente y pérdida de la biodiversidad y es así que las orquídeas actualmente se encuentran amenazadas debido a la destrucción de sus hábitat y a la extracción selectiva e indiscriminada de la que son objeto, poniéndolas en peligro de extinción.

La natural capacidad de las plantas para reproducirse en forma asexual es la base para la multiplicación in vitro o el cultivo de tejidos. Esta notable diversidad de reproducción vegetativa refleja un potencial impresionante para el desarrollo de tecnologías que permitan una producción de plantas a gran escala, así como la preservación de éstas y su mantenimiento libre de enfermedades, lo que actualmente conlleva en muchas latitudes a un importante desarrollo nacional y regional. En este sentido, el presente trabajo de investigación proporciona técnicas de micropropagación de plántulas in vitro y el estudio in situ de las condiciones de crecimiento y desarrollo de estas plantas para su cultivo en invernadero, con la finalidad de la conservación del germoplasma y

la protección de las especies amenazadas o de difícil propagación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La comprensión del problema de deterioro del ambiente y pérdida de la diversidad biológica, debido a los efectos adversos de los impactos humanos, aumentando en forma acelerada los procesos de erosión y amenazando de manera impredecible las bases mismas del desarrollo sostenible, nos obliga a la búsqueda de alternativas o estrategias que conlleven a la preservación de los ecosistemas, las especies y los recursos genéticos. De este modo, la conservación de las especies vegetales es uno de los más serios desafíos que hoy enfrenta la humanidad, ya que con la metodología convencional se requiere mucho tiempo, labor de campo y ambientes especiales para mantener cantidades significativas de plantas con importancia económica. Por otro lado, las orquídeas tienen características y problemas peculiares para su producción, debido a que sus semillas en miniatura son difíciles de propagar. Asimismo, los métodos y técnicas de propagación vegetativa utilizados en otras latitudes no son adaptadas y estandarizadas a nuestras regiones, quedando éstas sólo en las etapas de investigación. En este sentido, la aplicación de técnicas de propagación in vitro es una opción factible y creativa para la multiplicación de plantas, pues hoy sabemos que cualquier planta puede ser cultivada en estas condiciones, siempre y cuando se haya desarrollado la fórmula y metodología para su crecimiento; por lo tanto, el cultivo de tejidos proporciona muchas ventajas gracias al ahorro de tiempo y espacio.

OBJETIVOS

El objetivo principal de esta investigación fue Cultivar *Bletia catenulata* Ruiz & Pavón y *Epidendrum secundum* Jacquin en invernadero.

Mientras que los objetivos específicos fueron:

1. Determinar los sustratos óptimos para el cultivo de *Bletia catenulata* Ruiz & Pavón y *Epidendrum secundum* Jacquin.
2. Determinar las condiciones de temperatura, humedad y pH apropiadas para el cultivo.

HIPÓTESIS

Las especies de orquídeas *Bletia catenulata* Ruiz & Pavón y *Epidendrum secundum* Jacquin pueden ser cultivadas bajo condiciones de invernadero.

MÉTODOS

La investigación desarrollada en los laboratorios de Biología y Genética de esta Universidad consistió, en primer lugar, en la colecta de los especímenes en campo y luego se procedió con tres fases:

Fase I : Propagación in vitro de plántulas;

Fase II : Estudio in situ de las condiciones de crecimiento y desarrollo;

Fase III: Formulación de sustratos y su evaluación en condiciones de invernadero.

Para la micropropagación clonal, las semillas colectadas fueron tratadas químicamente para su desinfección, luego de lo cual fueron sembradas en el medio de cultivo Murashige skoog y Murashige skoog +P10 (extracto de plátano), con un fotoperiodo de 12 horas y una temperatura promedio de $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

El estudio de las condiciones in situ fue desarrollado mediante la toma directa de muestras de suelo y de sustrato - aproximadamente 500 gr- en los lugares de origen de las orquídeas, las mismas que fueron evaluadas en condiciones de laboratorio de acuerdo a las técnicas internacionales establecidas.

Después de evaluada la composición del sustrato, se realizó la formulación de la mezcla; seguidamente, se procedió a la esterilización de la misma mediante calor seco a 160°C por 2 horas; luego se trasvasó el sustrato esterilizado a vasos de 200 gr. de capacidad, para, finalmente, realizar la transferencia de las plántulas desarrolladas en el medio de cultivo hacia el sustrato preparado, previo tratamiento de desinfección de las raíces mediante Farmate al 2 % (p/v) durante 10 minutos. Cada recipiente se cubrió con bolsas de polietileno transparentes perforadas y se mantuvo la humedad mediante riegos constantes.

FLUJOGRAMA DE LA MICROPROPAGACIÓN CLONAL DE ORQUÍDEAS



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó tres sub cultivos de las especies en estudio, cada tres meses hasta la obtención de las plántulas con características adecuadas (raíz, tallo y hojas) y un buen desarrollo para su posterior aclimatación en condiciones de invernadero. De acuerdo al estudio de las condiciones del sustrato *in situ*, se encontró que la relación intra específica para estas especies, muestra que viven muy próximas, pero no muy juntas, compartiendo el mismo hábitat. Así, en una localidad las plantas pueden estar floreciendo, en tanto que otras están fructificando; también, mientras una especie florea, la otra puede estar estéril o mientras una especie fructifica, la otra puede estar floreciendo

o viceversa. Esto se debe al tipo de suelo, humedad y temperatura.

Epidendrum secundum presenta una relación interespecífica con *Coriaria rusifolia*, *Liabum sp.*, *Siphocampillus sp.*, *Miconia sp.*, *Cronquistianthus sp.*, *Campiloneuron sp.* y *Esperomelas lanuginosa*. Los componentes de su sustrato son musgo y suelo, en una proporción 2:1, con un pH de 6,64, un porcentaje de humedad de 38,6 % y con una temperatura ambiental de 22 a 23 °C. Mientras que *Bletia catenulata* presenta una relación interespecífica con *Sida rhombifolia*, *Bidens spp.*, *Persea americana*, *Siphocampillus sp.*, *Calceolaria engleriana*, *Miconia spp.* y *Campiloneuron sp.* Los componentes de su sustrato son musgo, suelo y hojarasca en una proporción 1:1:2 con un pH de 5,50 un porcentaje de humedad de 36,9% y una temperatura ambiental de 30 a 33 °C.

Para la fase de aclimatación y cultivo en invernadero, se trasladaron 62 plántulas de *Bletia catenulata*, empleando como sustrato una mezcla de arena, musgo y suelo agrícola en una proporción de 1:1:1, con un pH de 6,24, una humedad de 36,6 % y con una temperatura promedio de 16,5 °C, lográndose el desarrollo de 38 plántulas que representan el 61,3 % de plantas aclimatadas. Con respecto a *Epidendrum secundum*, se han procesado 158 plántulas que se encuentran en la primera fase de aclimatación para su posterior siembra en condiciones de invernadero.

CONCLUSIONES

1. Bajo condiciones de invernadero se obtuvieron plántulas de *Bletia catenulata*.
2. El sustrato óptimo para el cultivo de *Bletia catenulata* es una mezcla de arena, musgo y suelo agrícola, en una proporción de 1:1:1 respectivamente. El sustrato para *Epidendrum secundum*, de acuerdo a las evaluaciones *in situ*, es una mezcla de musgo, suelo y arena en una proporción de 2:1:1 respectivamente.
3. Las condiciones apropiadas para el cultivo de *Bletia catenulata* son: 18,1 a 30°C de temperatura, 36 a 39 % de humedad y un pH de 5,5 a 6,6. Para el cultivo de *Epidendrum secundum*, de acuerdo a las evaluaciones *in situ*, son: 22 °C de temperatura, 38,6 % de humedad y un pH de 6,6.

PLÁNTULAS DE *Epidendrum secundum* y *Bletia catenulata*
CON CARACTERÍSTICAS ADECUADAS PARA SU ACLIMATACIÓN



CULTIVO DE PLÁNTULAS DE *Bletia catenulata*
EN CONDICIONES DE INVERNADERO





BIBLIOGRAFÍA

- BENNETT, D. & CHRISTENSON, E.
1993 **Icones Orchidacearum Peruvianum**. México; Ed. E.A. Christenson.
- BRAKO & ZARUCCHI, J.
1994 **Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú**. Missouri; Ed. Missouri Botanical Garden.
- CALATAYUD, Gloria.
2000 "Evaluación de la Familia Orchidaceae en la microcuenca de Lares - Calca" Seminario Curricular. UNSAAC. Cusco.
- ESPINOZA, N. & ESTRADA.
1985 **Cultivo de Tejidos: Micropropagación y exportación de Germoplasma**. Lima; Ed. CIP.
- GALIANO, W.; VALENZUELA, L.; NÚÑEZ, P.; SUCLLI, E.
2000 **Orquídeas y Plantas Promiscuas del Parque Nacional del Manu**. Perú; Ed. PROMANU.
- GUTIÉRREZ, A.; LEÓN, M.
1995 "Utilización de la técnica de cultivo de tejidos in vitro para la conservación de especies en vías de extinción". En: **Libro de Resúmenes del VI Congreso Nacional de Botánica**. Lima - Perú.
- HURTADO, M. & MERINO, M.
2000 **Cultivo de Tejidos Vegetales**. México; Ed. Trillas.
1991 **Cultivo de tejidos en agricultura y aplicaciones**. Bogotá, Ed. CIAT.
- MEJÍA, R.
1994 "Propagación comercial de 312 especies de plantas por cultivo in vitro". Tesis de la UNAM, Lima.
- MEJIA, R. & VITORELLI.
1988 "Cultivo in vitro de plantas de papa. Manual de Laboratorio Programa de investigación". En: **Manual de INIA**. Lima.

- NÚÑEZ V. Percy.
1992 "Flora y Fitogeografía del Santuario Histórico de Machupicchu". Seminario Curricular. UNSAAC. Cusco.
- OCHOA, L.
1998 "Viabilidad y Germinación en semillas de cuatro especies del género *Masdevalia* de la provincia de Urubamba". s/e. Cusco.
- OLIVER O., OWEN.
1989 **Conservación de recursos naturales**. México; Ed. PAX.
- PIERIK, L.
1990 **Cultivo in vitro de plantas superiores**. México; Ed. Mundi – Prensa.
- RIVERA, G.
1998 **Orquideas, Generalidades y cultivo**. San José, Ed. UNA – Heredia.
- ROCA, W.; ROCA, M. & MROGINSKI, L., RODRÍGUEZ, A.
1999 "Orquideas en Machupicchu". En: Revista de EGEMSA, CBC. Cusco.
- TUPAYACHI, A. & GALIANO, W.
1987 "Flora del santuario histórico de Machupicchu". En: Revista Biota Vol. XIV. N° 25. Lima.
- VARGAS, C.
1965 "Orquideas de Machupicchu Cusco – Perú". En: Boletín American Orchid Society Bulletin, Vol #34 – Nor.
- VARGAS, César.
1969 **Flora Ornamental de Machupicchu**. Cuzco, Ed. Garcilaso.