

inifap

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias



CENID-CONSERVACION Y MEJORAMIENTO DE ECOSISTEMAS FORESTALES

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA

Coyoacán, D.F., 17 de diciembre del 2007.

DR. FABIAN ISLAS GUTIERREZ
DIRECTOR DEL CENID – COMEF
EDIFICIO-

Por medio de la presente anexo el "Manual para la propagación *in vitro* de la orquídea *Encyclia adenocaula* (La Llave and Lex) Schl. R. (Orchidaceae)", para su publicación.

Cabe mencionar que existe aproximadamente \$ 7,000.00 (SIETE MIL PESOS 00/100 M.N.) del proyecto PRECI 260032K que, de autorizarse el apoyo directo de CONAFOR, el dinero restante puede utilizarse para la impresión del manual.

Agradeciendo de antemano su atención, quedo de usted.

RECIBIDO
DIC. 18 2007
RECIBIDO
CENID-COMEF
JEFATURA ADMINISTRATIVA

ATENTAMENTE.

DR. TERESITA DEL N.J. MARIN HERNANDEZ
RESPONSABLE DEL PROYECTO

SAGARPA
INIFAP
RECIBIDO
18 DIC 2007
CENID-COMEF
JEFATURA DE OPERACION

c.c.p. Ing. Ramón Noguez Hernández, Jefe de Operación.- Edificio
C.P. Mario Alberto Terrazas Zamora, Jefe Administrativo.- Edificio

TNJMH*meom.

inifap

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias



COMISIÓN NACIONAL FORESTAL



**Manual para la propagación *in vitro* de la
orquídea
Encyclia adenocaula (La Llave & Lex.) Schltr.
(Orchidaceae)**

Ruíz Bello Carmen¹, Laguna Cerda Antonio²,
Iglesias Andreu Lourdes Georgina³, Damon Ashbi Anne⁴,
Marín Hernández Teresita del Niño Jesús⁵, Azpiroz Rivero. Hilda. Susana⁵,
de la Garza López de Lara María del Pilar⁵, Moreno Martínez José Luis¹



¹ Universidad Autónoma de Chiapas. ² Universidad Autónoma del Estado de México. ³ Universidad Veracruzana. ⁴ ECOSUR Unidad Tapachula. ⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

CONTENIDO

Introducción

Principales usos de las orquídeas

Descripción botánica de las orquídeas

Epifitas ¿qué son?

Las orquídeas como recurso forestal no maderable

Pérdida de la biodiversidad

Encyclia adenocaula (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)

Distribución

Importancia de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)

Clasificación taxonómica de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr.

(Orchidaceae):

Descripción botánica de la especie *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr.

Cultivo *in vitro*: una alternativa para propagar plantas

Cultivo *in vitro* para propagar orquídeas

Cultivo *in vitro* de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)

Siembra

Polinización

Preparación del medio de cultivo

Preparación de soluciones madre

Subcultivo

Condiciones ambientales de los cultivos

Características del cuarto de crecimiento

Adaptación de las plántulas al invernadero

Glosario

Literatura consultada

INTRODUCCION

La familia Orchidaceae es la más evolucionada y compleja que existe, constituyendo el grupo con mayor diversidad de las plantas vasculares (Banks, 2006). La sofisticada estructura de sus flores y la alta especificidad para su polinización son características propias de este grupo. Todas las orquídeas son herbáceas y pueden ser: terrestres, epífitas, litófilas y saprófitas. La estructura de las plantas y en especial de las flores varía de acuerdo al grupo o género al que pertenezcan, hay la presencia o ausencia de pseudobulbos, diferentes tipos de tallos, raíces y hojas y la enorme variedad de formas de las flores siempre conservando una configuración definida: tres sépalos, son coloreados y en ocasiones similares a los pétalos, uno de los cuales recibe el nombre de labelo, que se modifica para adquirir las más extrañas formas. (Cabrera, 1999). De acuerdo a Hágsater *et al.*, (2005) existen entre 20,000 a 30,000 especies de orquídeas y cada día se descubren nuevas.

Las flores de las orquídeas producen frutos en forma de cápsulas en su mayoría conteniendo grandes cantidades de semillas como polvo fino, cada semilla posee una cubierta seminal que encierra un embrión rudimentario indiferenciado y simple, constituido por unas 100 a 200 células sin endospermo. Debido a la falta de reservas alimenticias, el proceso germinativo y el subsiguiente desarrollo de las orquídeas, se encuentran supeditados a la existencia de una simbiosis con un hongo que proporcione los elementos nutritivos necesarios para su realización. Cuando el fruto abre en forma natural y las semillas son liberadas, la germinación dependerá de que al caer entren en contacto con el hongo, el cual penetrará al embrión a través de una gran célula suspensora. El hongo crece en el interior de las células del embrión, éste es digerido por la orquídea que comienza a crecer rápidamente para formar un protocormo. La primera hoja se desarrolla algún tiempo después de la germinación (Mitchell, 1989).

Las orquídeas se han podido establecer en casi todos los ambientes de la tierra. Algo que caracteriza a las orquídeas en conjunto es la complejidad de sus interacciones con otros seres vivos, sean estos hongos micorrizicos, polinizadores, árboles hospederos u hormigas mutualistas, son el grupo de plantas que ha podido colonizar con más éxito las copas de los árboles como es el caso de las orquídeas epífitas (Hágsater *et al.*, 2005)

Principales usos de las orquídeas

El conocimiento, uso y aprecio de las orquídeas por las culturas prehispánicas no está documentado, pero cuando los españoles llegaron a México en el siglo XVI se cultivaban algunas orquídeas como *Stanhopea hernandezii* y la vainilla (*Vanilla planifolia*) (Hágsater *et al.*, 2005).

Otras formas más allá del uso ornamental son; pegamentos, aglutinantes, aromatizantes, saborizantes, dulces, esculturas e imágenes religiosas, ritos y festividades religiosas así como propiedades medicinales son diferentes atributos que han tenido y continúan manifestándose en algunas áreas de nuestro biodiverso y pluricultural México (Moreno y Menchaca, 2006, Ossenbach, 2005).

Existe un verdadero interés por las orquídeas silvestres; esto se debe primordialmente a fines comerciales y religiosos, como ornato se usan como flor cortada o bien plantas completas cuyos ejemplares son obtenidos de su habitat natural de manera ilegal, año con año cientos de miles de ejemplares se concentran en los mercados regionales para su venta (Hartman, 1992).

Descripción botánica de las orquídeas

Las orquídeas son plantas herbáceas perennes de la familia Orchidaceae,. Aunque son más abundantes en los trópicos, también existen especies en ambientes templados, desde el nivel del mar a grandes altitudes. Se caracterizan por que un gran número de ellas poseen flores muy vistosas, hermafroditas

(ambos sexos en la misma flor), zigomorfas (con 1 solo plano de simetría, trímeras (3 sépalos y 3 pétalos) y una columna central que sustenta las estructuras reproductivas masculinas (anteras) y femeninas (pistilo) llamada ginostemo. Algunas viven en las ramas de los árboles (epifíticas), otras sobre rocas (litofíticas) y algunas en el suelo (terrestres). Las raíces de las epifíticas y litofíticas están adaptadas a vivir expuestas al aire o inmersas en materia orgánica, ya que tienen un tejido acumulador de agua llamado velo. Tienen dos tipos básicos de crecimiento: Simpodial, en las que el nuevo crecimiento se produce en sentido horizontal, a partir de un tallo subterráneo o rizoma, generando una subunidad capaz de producir una flor o inflorescencia que puede ser eventualmente separada de la planta (ejemplo: *Cattleya*). Monopodial, en las que el nuevo crecimiento se produce en sentido vertical, con lo cual la planta crece constantemente en altura (ejemplo: *Phalaenopsis*). (<http://www.orquídea.cl/queson.htm>).

Epifitas ¿qué son?

Las epifitas son plantas que crecen sobre otras plantas adheridas a los troncos y ramas de árboles y arbustos principalmente, por ello son llamadas con toda propiedad epifitas (del griego *epi* que significa "sobre" y *phyte* "planta"). El hospedero o "forofito" sobre el que crece una epifita es utilizado solo como soporte sin recibir más daño que el que pueda provocar su abundancia dentro de su ramaje, por tanto, una epifita difiere de una planta parásita en que esta última obtiene agua y nutrientes del hospedero. Las epifitas despliegan mecanismos muy variados y novedosos para sobrellevar no solo la sequía sino también la adquisición de nutrimentos del ambiente sin tomarlo del forofito (hospedero). Tal especialización requiere en ocasiones de interacciones mutualísticas con microorganismos artrópodos y algunos grupos de vertebrados y de características morfoanatómicas y funcionales muy especiales; este grupo incluye organismos no vasculares pterofitas y angiospermas que se relacionan ecológicamente con forofitos muy diversos que se establecen en ambientes con alta humedad atmosférica. Por ello, son responsables, en gran parte de que los bosques

húmedos tropicales contengan la diversidad biótica más alta de todos los ecosistemas continentales (Granados *et al.*, 2003).

Las orquídeas como recurso forestal no maderable

Los recursos naturales son satisfactores de necesidades humanas, que en el caso de los forestales provienen de vegetación silvestre; contra la creencia popular, no solo son árboles, sino que también arbustos, hierbas, hongos y animales (Camacho, 2003). Es por ello que se dividen en recursos maderables y no maderables. Las orquídeas se consideran recurso forestal no maderable porque la mayoría dependen de los bosques. Las orquídeas epifitas viven sobre los árboles.

Pérdida de la biodiversidad

México alberga una flora que ha sido considerada de las más ricas y variadas del planeta, presentando aproximadamente el 10% de la biodiversidad terrestre, además no solamente se distingue por este atributo, sino también por su elevado índice de endemismos, es decir, especies que solamente se encuentran dentro de los límites geográficos del país (Rzedowski, 1993, Semarnap-Ine-Conabio, 1995). No obstante, de las especies de plantas vasculares, aproximadamente el 15% se consideran en peligro de extinción (Vovides, 1995). La principal causa de este problema ha sido la perturbación y la destrucción de las comunidades naturales, como producto del creciente impacto de las actividades humanas sobre ellas.

Para México, la familia Orchidaceae representa un ejemplo de la diversidad de especies y de la problemática de la extinción de ellas. De acuerdo a Cabrera (1999), en México existen alrededor de 1,200 especies, de las cuales la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 reporta que 180 presentan algún riesgo de extinción. Este riesgo se acentúa debido principalmente a la conversión de terrenos forestales para usos urbanos, agrícolas o pecuarios, así como por la extracción de plantas de su hábitat para su venta en mercados nacionales e internacionales, incluyendo aquellas especies mencionadas en la norma oficial.

No existe gran información confiable respecto a la exportación ilegal de orquídeas, una aproximación se puede realizar con lo reportado por Banks (2006), quien menciona que en 1989 se exportaron a Estados Unidos 18,000 orquídeas de las cuales 8000 se encontraban amenazadas de extinción.

***Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)**

Es una orquídea epífita (figura 1) que vive en bosques de pino-encino siendo su principal hospedero el encino (*Quercus* sp). Su hábitat es diverso desde 1200 a 2000 msnm. Sus flores son grandes en forma de estrella, con los segmentos muy extendidos, miden de 5 a 9 cm de diámetro de color rosa pálido o lila, su nombre común es "Trompillo", ó "Trompillo morado". Su floración va de mayo a junio, la época más larga de floración se reporta en el Estado de México y Michoacán (Hágsater y Soto, 2002).



Fig. 1. *E. adenocaula* sobre un árbol de encino

Distribución

Hágsater y Soto (2002), reportan que esta especie se distribuye en los estados de Nayarit, Jalisco, Michoacán, México, Guerrero y rara vez en Oaxaca (figura 2). La Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2001) la reporta como una orquídea endémica en la categoría de amenazada.



Figura 2. Distribución en México de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)
Fuente: Hágsater y Soto, 2002.

Importancia de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)

Su principal importancia es como planta de ornato. Produce flores muy atractivas con un agradable aroma (Figura 2), lo cual provoca que en época de floración, año con año sea altamente depredada para su venta en mercados locales, conjuntamente con la deforestación de hoy en día, y el cambio de uso del suelo, conllevan a que se encuentre amenazada con posibilidades de extinción. De aquí la importancia de buscar estrategias para conservarla y a la vez, involucrar a las comunidades rurales que poseen este recurso promoviendo un uso sustentable del mismo, generando programas de reproducción, como por cultivo *in vitro*, que permita la venta legal de este recurso genético.

Clasificación taxonómica de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae):

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Monocotyledoneae

Orden: Microspermae

Familia: Orchidaceae

Subfamilia: Epidendroideae

Género: *Encyclia*

Especie: *adenocaula*

Fuente: Dressler (1993) citado por Gil *et al.*, 2007.

Descripción botánica de la especie *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr.

La especie de orquídea *Encyclia adenocaula* (La llave & Lex.) Schltr., es una planta epífita subcespitosa, hasta de 50 cm de alto sin incluir la inflorescencia (figura 3). Sus raíces son flexuosas y miden de 1 a 3 mm de grosor, el rizoma es corto y oculto; sus pseudobulbos son agrupados, ovoides o cónico-ovoides, miden de 3-8 x 2-6 cm parcialmente cubiertos por vainas fibrosas hasta de 9 cm de largo. Las hojas (2-)3 apicales, linear-liguladas, agudas u obtusas, coriáceo-carnosas, miden de 8.5-35 x 0.7-3.3 cm. La inflorescencia apical (fig 3) es simple, con 2-4 ramas, presentando de 4-35 flores de 30-80 hasta 100 cm de largo con pedúnculo y raquis fuertemente verrucosos, las verrugas son rígidas y amarillentas; el pedúnculo tiene de 6 a 10 entrenudos y mide de 25 a 55 cm de largo con 3 a 6 mm de grosor; las brácteas del pedúnculo son tubulares, oblicuas, obtusas o escariosas, miden de 5 a 21 mm de largo; el raquis es flexuoso de 1 mm de grosor. Las brácteas florales son ovadas, obtusas, cóncavas, escariosas miden de 2-3 x 1-2 mm. El ovario es pedicelado, engrosado apicalmente

fuertemente verrucoso y mide de 15-30 x 1.8-2.2 mm. Sus flores son grandes en forma de estrella, con los segmentos muy extendidos, miden de 5 a 9(-10) cm de diámetro de color rosado pálido o lila, el lóbulo medio del labelo con pocas o muchas rayas interrumpidas; los sépalos son linear-elípticos o linear-lanceolados, agudos o acuminados y ligeramente carinados dorsalmente hacia el ápice, miden de 26-60 x 3.8 mm; los laterales algo oblicuos y curvados en el ápice. Los pétalos son angostamente elípticos o elíptico-oblanceolados, agudos o acuminados largamente atenuados en la base, algo arqueados ligeramente carinados dorsalmente hacia el ápice; miden 27-56 x 4-7 mm. El labelo está fusionado a la columna y mide de 33-46 mm de largo, fuertemente trilobado con lóbulos laterales oblicuamente oblongo-lanceolados, redondeados abrazando a la columna con los ápices reflexos. El estigma es obcordado a reniforme, viscoso de 2-3 x 2-4.2 mm. El polinario mide 1.8 mm de largo con cuatro polinios oblicuamente obovoides. La cápsula es elipsoide (figura 4), fuertemente verrucosa mide de 35-45 x 15 mm (Hágsater y Soto, 2002).



Fig. 3 y 4. *Encyclia adenocaula* (La llave & Lex.) Schltr.
Inflorescencia y cápsula

De acuerdo a la recomendación del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos

(2004), todas aquellas especies ornamentales que sean raras, que se encuentren amenazadas o en peligro de extinción deberán propagarse por técnicas o métodos adecuados para lograr la preservación de la riqueza genética en el mundo.

Cultivo *in vitro*: una alternativa para propagar plantas

El término cultivo *in vitro*, se utiliza para denominar a los cultivos asépticos de origen vegetal (Fay, 1994). El cultivo *in vitro* ofrece ventajas adicionales a las técnicas convencionales de propagación, como son: germinar semillas que bajo condiciones de semillero no germinan, o bien, obtener una rápida multiplicación a partir de pequeñas fracciones de la planta libres de patógenos (Fay, 1994). Para lograr la propagación de plantas por cultivo *in vitro*, es posible utilizar cualquier fragmento vegetal por ejemplo; tallos, parte de la flor, secciones de hojas, meristemos, células en suspensión, entre otros; a estos materiales biológicos se les denomina explantes (Fay, 1994). Mediante el uso de explantes es factible inducir la morfogénesis, término que se utiliza para denominar al conjunto de procesos relacionados con la diferenciación y desarrollo de órganos o tejidos para dar una planta completa (Fhan, 1982).

La utilización del cultivo *in vitro* ha tenido un impacto en el mejoramiento de las plantas vasculares, estableciendo nuevas y mejores alternativas como son; rescate de embriones, hibridación, obtención de plantas libres de patógenos y rápida propagación clonal. La utilización de estas técnicas se justifica cuando por los métodos tradicionales, la producción de nuevos individuos es muy lenta y limitada o no se ha logrado.

Los métodos de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* tienen una amplia aplicación en el conocimiento y la explotación de los recursos genéticos, como son: la propagación masiva, el intercambio de germoplasma, la inducción de la variabilidad genética y la germinación de semillas de orquídeas fuera de su

ambiente natural.

Cultivo *in vitro* para propagar orquídeas

En la naturaleza las orquídeas producen pocas cápsulas (órgano de la planta que contiene las semillas) pero se compensa por la presencia de miles de semillas por cápsula, hasta uno o dos millones en algunos casos y un máximo de cuatro millones de semillas, como en *Cynoches* sp recurso de suma importancia para la conservación y cultivo sustentable de estas plantas (Pridgeon *et al.*, 1999).

La familia Orchidaceae requiere buscar metodologías de cultivo *in vitro* debido a que las plantas tienen bajas tasas de crecimiento, ciclos de vida relativamente largos aunado al problema que presenta la germinación de las semillas en forma natural ya que requieren de la asociación con el hongo simbiote. El cultivo *in vitro* asimbiótico surge en 1922, cuando Lewis Knudson encontró un medio propicio para la germinación sin la presencia del hongo (Arditti, 1990). Posteriormente Knudson C (1946) mejoró el medio de cultivo teniendo éxito en un amplio número de especies. Desde entonces, se han desarrollado medios para especies específicas como por ejemplo Vacin y Went (1949), Murashige y Skoog (1962), Ichihashi y Yamashita (1977) y Dalla Rosa y Laneri (1977), entre otros.

Cultivo *in vitro* de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. (Orchidaceae)

Para la germinación *in vitro*, se utilizan frascos de vidrio o plástico en los que se deposita un medio de cultivo que contiene algún gelificante, en este caso se usa agar nutritivo, 20 gr. de sacarosa o azúcar, los minerales y vitaminas propuestos por Murashige y Skoog (1962), para que las semillas germinen y crezcan. Hay dos tipos de germinación *in vitro*: simbiótica y asimbiótica.

A continuación se describe el cultivo *in vitro* de *E. adenocaula* asimbiótico. Las cápsulas son el sitio donde se encuentran las semillas (fig 5) en el caso de *Encyclia adenocaula* tardan de ocho a nueve meses para abrirse y liberar sus semillas en forma natural.

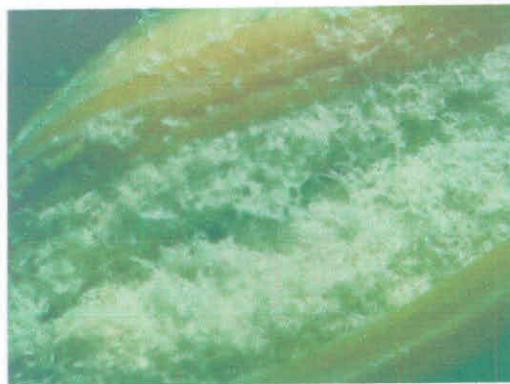


Fig. 5. Cápsula con miles de diminutas semillas

Siembra

La siembra de las semillas en cultivo *in vitro* para llevar a cabo la germinación asimbiótica, puede ser con semillas maduras (que ya fueron liberadas de la cápsula en forma natural) o bien utilizando semillas de la cápsulas cerradas de siete a ocho meses de crecimiento posterior a la polinización, cuando alcanzan una coloración desde verde amarillento a café amarillento (figura 6). La ventaja de utilizar las semillas a partir de la cápsula es que éstas se encuentran en condiciones asépticas (no están contaminadas) por lo que la desinfección es mas sencilla que cuando ya fueron liberadas, en este último caso se requiere de un método mas laborioso. En este manual se describe la metodología para la germinación *in vitro* de semillas provenientes de cápsulas



Fig. 6. Cápsulas verde, y verde amarillento

Cuando las cápsulas alcanzan una coloración de verde amarillento o café (cápsulas cerradas), ya pueden ser cortadas de la planta para utilizar sus semillas. La siembra de las semillas deberá realizarse en condiciones asépticas, para obtener buenos resultados. Es importante señalar que las cápsulas de esta especie se toman un tiempo de 7 a 8 meses para poderlas utilizar antes de que se abran.

La siembra puede realizarse en una campana de flujo laminar. En caso de no contar con la campana de flujo laminar, puede hacerse en una mesa limpia y desinfectada con alcohol colocando dos mecheros de bunsen a los lados del sitio de la siembra, en este caso deberá utilizar un cubre bocas.

Es conveniente usar una bata de laboratorio. Se colocan los frascos Gerber con el medio de cultivo (que posteriormente se dirá como hacerlo), ya estéril se toma la cápsula con una pinza, sumergiéndola en alcohol etílico al 75% e inmediatamente se flamea en un mechero, esperando a que se consuma el alcohol impregnado en ellas, se repite este procedimiento tres veces ¡TENER CUIDADO DE NO INTRODUCIRLA AL ALOCHOL SI AÚN TIENE FLAMA¡, se coloca la cápsula sobre la caja Petri y se espera a que se enfríe, con el bisturí estéril se le cortan los extremos, y luego se abre la cápsula en forma longitudinal por medio de una de

sus hendiduras (fig. 7). Con una cucharilla o con la punta del bisturí, se esparce una delgada capa de semillas en los medios de cultivo procurando que sea en partes equivalentes para cada uno de los frascos. Es importante que cada uno de los frascos al ser destapados, se pasen rápidamente por el mechero encendido para eliminar microbios, se procede a depositar las semillas y se tapan nuevamente así sucesivamente hasta terminara la siembra. Al finalizar la siembra de las semillas se tapan y sellan los frascos poniendo alrededor de la tapadera papel adherente para evitar la contaminación interior. Se deberán marcar con un plumón de tinta permanente cada uno de los frascos, poniendo la fecha de siembra.

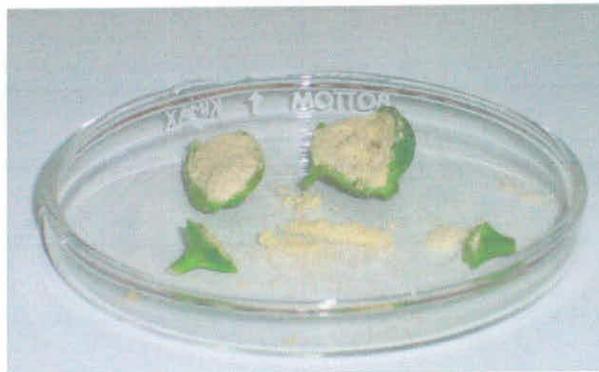


Fig. 7. Cápsula abierta ya desinfectada

Polinización

Cuando no se cuenta con cápsulas pero se tienen flores, es necesaria la polinización realizada por el hombre ya que las orquídeas requieren forzosamente de su polinizador. Para ello se tomará el polen de una flor de *Encyclia* (fig. 8) y se coloca en otra sobre el gineceo (fig. 9). Si la flor fue fecundada, a los pocos días se observará la formación de la cápsula.

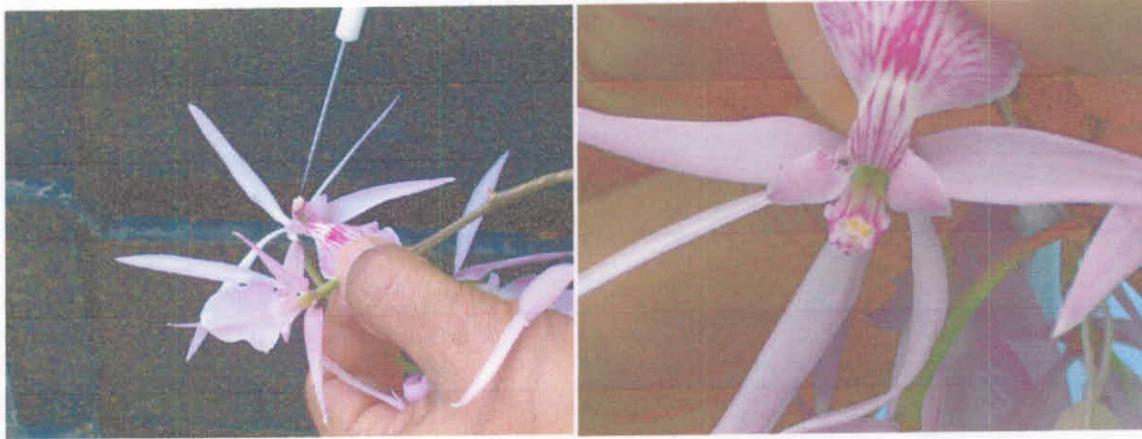


Fig. 8 y 9. Polinización de *E. adenocaula*

Preparación del medio de cultivo

Existen dos vías para la adquisición de medios de cultivo *in vitro*: La vía más fácil, es adquirir el medio ya preparado que para algunas especies en particular ya los venden en algunos laboratorios, solo se adiciona agua destilada según venga la presentación, por ejemplo si es para 1 litro, se adiciona 20 gr. de sacarosa se ajusta el pH a 5.5 y 6.5 gr. de agar bacteriológico, pero esto resulta de costo muy elevado. La otra vía es adquirir los químicos que se enlistan en la tabla 1 y se preparan soluciones madre, esto es necesario ya que las cantidades a pesar son muy pequeñas y es posible equivocarse cuando se pesa, además generalmente se prepara mas de un litro de medio. Debe utilizarse agua destilada para diluir los compuestos.

De las soluciones concentradas se tomará el volumen indicado para un litro y se mezclarán, se agregará la sacarosa ó azúcar (20 gr), se ajusta el pH a 5.7 (si no se cuenta con un potenciómetro, puede usar papel pH) y por último se adiciona el agar bacteriológico (6.5 gr). Se disuelve el agar mediante agitación manual y posteriormente se introduce un microondas por 2 minutos o a calor directo sin dejar que hierva, y repitiendo la acción hasta su total dilución. Se vacían 20 ml de medio en frascos Gerber de 100 ml, se tapan y se esterilizan por autoclave a

121°C, 1.1 Kg/cm³ durante 15 minutos (o bien puede usar una olla Express).

Para ajustar el pH se puede usar papel indicador de pH o un potenciómetro, para ajustarlo se utilizan las soluciones 1 N ó 0.5N de ácido clorhídrico o sosa (hidróxido de potasio)

Preparación de KOH 0.5 N. Disolver 2.8 g de KOH en 80 ml de agua destilada y aforar (llevar) a 100 ml.

Preparación de KOH 1.0 N. Disolver 5.611 g en 80 ml de agua destilada y aforar a 100 ml.

Preparación de HCl 1N. Disolver 4 ml de HCl en agua y aforar a 50 ml.

Preparación de HCl 0.5 N. Disolver 2 ml de HCl en agua y aforar a 50 ml.

Nota: causa una reacción exotérmica por lo que se debe vaciar lentamente por las paredes el ácido sobre el agua nunca el agua sobre el ácido.

Cuadro 1. Medio Murashige y Skoog (1962) (MS).

| Compuesto | Fórmula química | Cantidad (g/l) |
|----------------------|--|----------------|
| SALES | | |
| Nitrato de amonio | NH ₄ NO ₃ | 1.65 |
| Nitrato de potasio | KNO ₃ | 1.90 |
| Sulfato de magnesio | MgSO ₄ .7H ₂ O | 0.37 |
| Sulfato manganoso | MnSO ₄ .H ₂ O | 0.0169 |
| Sulfato de zinc | ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0.0086 |
| Sulfato cúprico | CuSO ₄ .5H ₂ O | 0.000025 |
| Cloruro de calcio | CaCl ₂ .2H ₂ O | 0.44 |
| Yoduro de potasio | KI | 0.00083 |
| Cloruro de cobalto | CoCl ₂ .6H ₂ O | 0.000025 |
| Fosfato de potasio | KH ₂ PO ₄ | 0.17 |
| Ácido bórico | H ₃ BO ₃ | 0.0062 |
| Molibdato de sodio | Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0.00025 |
| Na ₂ EDTA | Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ .2H ₂ O | 0.03724 |
| Sulfato ferroso | FeSO ₄ .7H ₂ O | 0.02784 |
| | C ₆ H ₁₂ O ₆ | 0.1 |
| | C ₆ H ₅ NO ₂ | 0.0005 |
| | C ₈ H ₁₁ NO ₃ -HCl | 0.0005 |

| | | |
|---|---|-----------------|
| VITAMINAS MS Inositol Ac. Nicotínico Piridoxina – HCL Tiamina – HCL Glicina | $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ NH_2CH_2COOH | 0.0001 0.002 |
|---|---|-----------------|

Preparación de soluciones madre

| Macroelemento | mg/l | MS | |
|----------------------|------|------|----------|
| | | g/l | 10x-200 |
| $NH_4 NO_3$ | 1650 | 1.61 | 16.5 gr. |
| KNO_3 | 1900 | 1.90 | 19.0 gr. |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 370 | 0.37 | 3.7 gr. |
| $KH_2 PO_4$ | 170 | 0.17 | 1.7 gr. |

Pesar y disolver en 80 ml aprox. Llevar a 100 ml. Etiquetar macroelementos 10X 200 ml. De esta solución se deberán tomar 20 ml por cada litro de medio.

| Calcio | mg/l | MS | |
|----------------------|------|------|---------|
| | | g/l | 10x-100 |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | 440 | 0.44 | 4.4 gr. |

Pesar y disolver en 80 ml aprox. Aforar a 100 ml (usar agua destilada). Etiquetar Calcio 10X100 ml. De esta solución se deberán tomar 10 ml por cada litro de medio.

| SOL. DE FIERRO | mg/l | MS | |
|------------------------|------|--------|-----------|
| | | g/l | 10x-100 |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | 27.8 | 0.0278 | 0.278 gr. |
| $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$ | 37.3 | 0.0373 | 0.373 gr. |

Disolver el EDTA en agua destilada caliente (30 ml), en otro vaso disolver el F en agua fría, en un matraz adicionar los dos y aforar a 100 ml. Etiquetar Sol. d Fe 10X-100ml. De esta solución se deberán tomar 10 ml por cada litro de medio.

| MICROS | mg/l | g/l | MS | g/20 (20X) |
|---|-------|-----|----------|---|
| KI | 0.83 | | 0.00083 | 0.0166 gr. |
| H ₃ BO ₃ | 6.20 | | 0.0062 | 0.124 gr. |
| MnSO ₄ ·4H ₂ O | 22.3 | | 0.0223 | 0.446 gr. |
| | | | | Nota: si es MnSO ₄ ·H ₂ O pesa |
| | | | | 0.338 gr. |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 8.6 | | 0.0086 | 0.172 gr. |
| Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O | 0.25 | | 0.00025 | 0.005 gr. |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.025 | | 0.000025 | 0.0005 gr. |
| CoCl ₂ ·6H ₂ O | 0.025 | | 0.000025 | 0.0005 gr. |

Pesar y disolver en 80 ml aprox. Aforar a 100 ml (usar agua destilada). Etiquetar Micros 20X-100 ml. De esta solución se deberán tomar 5 ml por cada litro de medio.

| VITAMINAS | mg/l | g/l | MS | 20x-100 |
|------------------|------|--------|----|-----------|
| Tiamina-HCl | 0.1 | 0.0001 | | 0.002 gr. |
| Acido nicotínico | 0.5 | 0.0005 | | 0.01 gr. |
| Piridoxina-HCl | 0.5 | 0.0005 | | 0.01 gr. |

Pesar y disolver en 80 ml aprox. Aforar a 100 ml (usar agua destilada). Etiquetar Vitaminas 20X-100 ml. De esta solución se deberán tomar 5 ml por cada litro de medio.

| MYO-INOSITOL | mg/l | g/l | MS | g/10 (10X) |
|--------------|------|-----|----|------------|
| | 100 | 0.1 | | 1.0 gr. |

Pesar y disolver en 80 ml aprox. Aforar a 100 ml (usar agua destilada). Etiquetar Vitaminas 20X-100 ml. De esta solución se deberán tomar 10 ml por cada litro de medio.

Condiciones ambientales de los cultivos

Una vez realizada la siembra, los frascos sembrados se tapan y con papel adherente se sella alrededor de las tapaderas, posteriormente deberán colocarse

en un cuarto de incubación con temperaturas de 20 -25 °C. Se pueden colocar en un sitio donde haya buena luminosidad siempre y cuando se encuentre cerca del sitio donde se desarrolle la especie que se trate.

Características del cuarto de crecimiento

- Instalación eléctrica (110 y 220 v)
- Aire acondicionado para mantener una temperatura de 27 °C
- Colocar balastras fuera del cuarto de cultivo
- Fotoperiodo por nivel (control automático)
- Lámparas (Grolux, Solar, Dro-tes o Power Grove), buscar que se cubra todo el espectro de luz

Los cultivos se deberán mantener con un fotoperíodo de 16 horas luz por 8 de oscuridad, una temperatura constante de 25°C y una intensidad lumínica de 2000 lux. La germinación dará inicio aproximadamente a los 27 días (figs. 10 y 11). Si no se cuenta con el cuarto de cultivo y la especie es del lugar donde se cultivo se puede poner cerca de una ventana evitando la luz directa del sol.



Fig. 10 y 11. Germinación de semillas

Subcultivo

A los 60 días aproximadamente, todas las semillas que estaban viables deberán haber germinado y se habrá notado un crecimiento de las plántulas. Se procede entonces a subcultivarlas en un medio fresco, separándolas para que tengan un buen desarrollo (fig. 12).



Fig. 12. Plántulas de 60 días

Cuando las plántulas hayan alcanzado 4-6 mm de altura (fig. 13), es el momento de buscar su adaptación al medio ambiente natural, para lo cual hay que obtener un sustrato adecuado y condiciones climáticas adecuadas para la especie.



Fig. 13. Orquídeas para trasplante

Adaptación de las plántulas al invernadero

Un sustrato adecuado puede ser una mezcla de tezontle triturado, cáscara de coco molida y corteza de encino en una proporción 1:1:1 (fig. 14). Es importante considerar que la adaptación de las plántulas del laboratorio al invernadero deberá ser en forma paulatina; como se indica a continuación:

1. Trasladar los frascos del laboratorio al invernadero y quitar el plástico adherente
2. Aflojar las tapaderas de los frascos sin quitarlas y dejarlos un día. Se deberán ir destapando gradualmente los frascos.
3. Esterilizar las charolas donde se colocará el sustrato, utilizando alcohol o cloro.
4. Depositar el sustrato en las charolas.
5. Se sacan del frasco las plántulas y eliminar los restos del agar de las raíces con agua destilada (no deberá quedar ningún residuo de agar ya que puede ser fuente de contaminación).
6. Sumergir las plántulas en un recipiente que contenga fungicida (Captán).
7. Sumergir las raíces en una mezcla que contenga un producto enraizador.
8. Transplante de las plántulas en el sustrato.
9. Cubrir las charolas con plástico para conservar la humedad relativa.
10. Considerar que la temperatura ambiente en el invernadero al momento del transplante no sea muy elevada.
11. Dar seguimiento de manejo a las plántulas para favorecer su mayor crecimiento.



Fig. 14. Orquídeas transplantadas

Menchaca y Moreno (2006) recomiendan que lo ideal para el desarrollo de las orquídeas epífitas es colocarlas en pedazos de troncos de encino de unos 20 ó 30 centímetros de largo y diámetro superiores a cinco centímetros, las plantas deberán sujetarse al tronco con hilos o pedazos de tela de algodón o bien hilo de ixtle o henequén. Todo material utilizado para la fijación de las plantas en el tronco deberá ser degradable para evitar que obstruya o ligue el crecimiento del pseudobulbo y la raíz. Es recomendable colocar musgo entre la planta y el tronco, y mantenerlo siempre verde lo cual nos servirá como indicador de la humedad.



Fig. 15. Orquídeas transplantadas en un tronco de encino.

GLOSARIO

Asepsia: conjunto de métodos destinados a preservar de gérmenes infecciosos el Material biológico, el instrumental y el equipo.

Clon: en general, grupo de organismos genéticamente idénticos debido a que han sido producidos por algún tipo de reproducción asexual.

Epífita: es una planta que crece naturalmente sobre otra planta, pero que no depende de ella para su nutrición u obtención de agua.

Fotoperíodo: número de horas de luz en cada ciclo de 24 horas; duración relativa del día y la noche (luz u oscuridad), especialmente en relación con la iniciación de la floración.

In vitro: Designa a los procesos biológicos o a las investigaciones que se realizan fuera de los organismos vivos, tradicionalmente en tubos de ensaye.

Inflorescencia: es un grupo de flores dispuesto en un mismo tallo.

Labelo: es un pétalo inferior de una flor de orquídea especializado para ayudar en la polinización de la planta por insectos. Tiene una forma distinta, generalmente más grande, de los otros pétalos.

Litofítica: es una planta que crece sobre rocas.

Medio básico: medio de cultivo formulado con macro y micronutrientes (sin reguladores del crecimiento).

Medio nutritivo: medio de cultivo empleado para iniciar, desarrollar o enraizar diferentes inóculos; está formulado con macro y micronutrientes, azúcar y reguladores del crecimiento.

Meristemo apical: meristemo que se encuentra en el ápice de un brote o raíz.

Monopodial: es una planta que tiene un solo tallo que crece verticalmente o en altura y que produce hojas y flores a lo largo de él.

Pseudobulbo: es una porción engrosada de la parte basal del tallo de muchas orquídeas, encargada de almacenar agua y nutrientes.

Raíces adventicias: son raíces que se producen a partir de yemas ubicadas en los tallos de la planta y que no provienen de la raíz original del embrión.

Raíces aéreas: son aquellas raíces que crecen por sobre el medio de crecimiento.

Rizoma: es un tallo que crece horizontalmente, en forma indefinida, a partir del cual se forman raíces adventicias, hojas y/o ramas.

Saprófitas: Las plantas saprofitas son las que viven de materia descompuesta. No pueden producir su propio alimento.

Simbiosis: Asociación de dos o más individuos de distintas especies, en la que todos salen beneficiados.

Simpodial: es una f Asociación de dos o más individuos de distintas especies, en la que todos salen beneficiados. orma de crecimiento de las plantas en sentido horizontal o lateral, a lo largo de un rizoma.

Sustrato, medio: material en el cual se hace crecer una planta; puede ser orgánico, como corteza de árbol, o inorgánico, como piedras de lava.

Velo o Velamen: es el tejido que cubre las raíces aéreas de las orquídeas epífitas, encargado de absorber agua y de evitar la evaporación excesiva de agua desde el tejido radical.

Yema: (botón) pequeño abultamiento en el tallo de una planta; da origen a una rama, a una flor o a varias hojas.

LITERATURA CONSULTADA

Arditti J. 1990. Lewis Knudson, his science, his times and his legacy. *Lindleyana* 5:1-79.

Banks, D.P. 2006. Cultivo de orquídeas propagación y variedades. Editorial Blume. Barcelona, España. 223p.

Cabrera, C. T. 1999. Orquídeas de Chiapas. Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas. Polyforum Mesoamericano. Calzada Andrés Serra Rojas s/n. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 194 pp.

Cabrera, C. T. 1999. Orquídeas de Chiapas. Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas. Polyforum Mesoamericano. Calzada Andrés Serra Rojas s/n. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 194 pp.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Agropecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales. Folleto para productores No. 8.

Cusi S. 2005. Orquídeas Río Verde. En: Cultiva jardines viveros y flores. *Revista de Jardinería, Entretenimiento y Cultura Ambiental*. Ocoyoacac, Mex.

Dalla Rosa M., Laneri U. 1977. Modification of nutrient solution for germination *in vitro* of some cultivated orchids and for vegetative propagation of *Cymbidium* cultivars. *Am. Orchid Soc. Bull.* 46: 813-820.

Fay, M. F. 1994. In what situations is *in vitro* culture appropriate to plan conservation?. *Biodiversity and Conservation*. 2: 176-183.

Fhan, A. 1982. *Anatomía Vegetal*. Ediciones Pirámide. Madrid. 497-499 pp.

Fischer L., Cambell 1990. V.S. plant imports from Mexico jump in 1989. *Traffic USA*. 10(2)7.

Gil, V.I., Bastida, T. A., Flores, E.G., y Navarro, L.E.R. 2007. Introducción a la Reproducción y Manejo de Orquídeas Mexicanas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Preparatoria Agrícola. Edición UACH, Depto. De Preparatoria Agrícola

Granados, S. D.; López, R. G. F.; Hernández, G. M. A.; Sánchez, G. A. 2003. Ecología de las plantas epífitas. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*. Vol. IX (2). Universidad Autónoma Chapingo.

Hágsater, E. y Soto, M. 2002. Icones orchidacearum. Herbario AMO, Apartado postal 53-123, 11320. México, D.F.

Hágsater, E.; Soto, A. M. A.; Salazar, Ch. G. A.; Jiménez, M. R.; López, R. M. A.;

Dressler, R. L. 2005. Las Orquídeas de México. Instituto Chinoín, México, 304 pp.

Hartman, W. 1992. Las orquídeas de Chiapas. Gobierno del Estado de Chiapas. Consejo Estatal de Fomento a la Investigación y Difusión de la Cultura DIF-Chiapas/Instituto Chiapaneco de Cultura. 70 p

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichas/doctos/plantas.html>

<http://www.orquidea.cl/queson.htm>

Ichihashi S.; Yamashita M. 1977. Studies on the media for orchid seed germination. I. The effects of balances inside each cation and anion group for the the germination and seedling development of *Bletilla striata* seeds. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 45: 407-413.

Knudson L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Am. Orchid. Soc. Bull. 14:214-217.

Mckendick, S. 2000. Manual para la germinación in vitro de orquídeas. Copyright, Ceiba Foundation for Tropical Conservation. Reserva Orquideológica El Pahuma. Quito, Ecuador. 17 p.

Mitchell, R. 1989. Growing Hardy Orchids from seeds at Kew. In the Plantsman. Vol. II. Part 3. pp 152-169

Moreno, M. D. y Menchaca, G. R. Orquídeas. Más allá de su uso ornamental. 2006. Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Sistema Nacional de Recursos Filogenéticos. Universidad Veracruzana.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised médium for rapid growth on bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plantar. 15: 473-479.

Ossenbach C. 2005. History of orchids in Central America part I: from prehispanic times to the independence of the new Republics. Harvard Papers in Botany, Vol. 10, No. 2. pp. 183-226.

Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the Phanerogamic flora of Mexico. En: Ramamoorthy, T. P.; Sot; Bye, R. (eds). Biological Diversity of Mexico. Origins and Distribution, Oxford University Press. pp 129-144.

SEMARNAP-INE-CONABIO. 1995. México. pp 7-12.

SINAREFI, 2004. Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Red de Ornamentales. Plan estratégico.

Vacin E.F., Went F. 1949. Use of tomato juice on the asymbiotic germination of orchid seed. *Bot. Gaz.* 111:1175-1183.

Vences, C. C. 2005. Apuntes del Curso de cultivo de tejidos vegetales. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo, Piedras Blancas. Mex.

Vovides, A. 1995. Experiencias y avances en el conocimiento de las plantas mexicanas en peligro de extinción. En: Linares E. *et al.* (eds.) *Conservación de las plantas en peligro de extinción: diferentes enfoques*. Instituto de Biología, UNAM, pp. 139-144.

Toluca, Edo., de México, a 30 de marzo de 2007.

DRA. TERESITA DEL NIÑO JESUS MARÍN HERNANDEZ
INVESTIGADORA TITULAR DEL INIFAP
PRESENTE.

Por este medio agradezco su disposición por permitirme realizar un entrenamiento en su laboratorio donde me capacité sobre los siguientes temas:

- Diversidad genética en Orquidea (*Encyclia adenocaula*) y otras especies tropicales
- Diversas mediciones de dicha diversidad como las morfológicas y las moleculares.

El entrenamiento recibido fue a partir del primero de marzo del 2006 concluyendo el 30 de marzo del 2007 en el Laboratorio de Biotecnología Forestal. Dicho aprendizaje me es de mucha utilidad, ya que me permitirá dar mejor atención a productores que poseen este recurso forestal no maderable en diversas áreas forestales en el Soconusco, Chiapas; quienes continuamente solicitan asesoría en nuestra Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas, Institución para la cual laboro como docente e investigador.

Agradeciendo todas las atenciones que se me otorgaron, me despido de usted enviándole un saludo cordial.

ATENTAMENTE



M. C. CARMEN RUIZ BELLO

Profesor Investigador de la Facultad de Ciencias Agrícolas
Universidad Autónoma de Chiapas



Universidad Autónoma del Estado de México
Instituto Literario No. 100, Col. Centro
CP 50000, Toluca, Edo. de Méx.
Tel. 01(722) 226 2300 www.uaemex.mx

*El Cerrillo Piedras Blancas, Estado de México
Febrero 22 de 2007.*

*DRA. TERESITA DEL NIÑO JESÚS MARÍN HERNÁNDEZ
INVESTIGADORA DEL INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS*

*A nombre de la Universidad Autónoma del Estado de México, me
permito agradecer su colaboración como Segundo Vocal en el
Examen Predoctoral de la: M. EN C. CARMEN RUIZ BELLO,
alumna del Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos
Naturales.*

*Su apoyo nos permite lograr los objetivos de una formación de
excelencia y calidad para nuestros egresados.*

*Sin otro particular, le reitero mi consideración preferente y
distinguida.*

ATENTAMENTE

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

"2006, 50 Aniversario de la Transformación de la UAEM"



PROGRAMA MAESTRIA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES

**DRA. LAURA MERCEDES LAGUNES GÁLVEZ
COORDINADORA**





Febrero 6 de 2007.

DRA. TERESITA DEL NIÑO JESÚS MARÍN HERNÁNDEZ
INVESTIGADORA DEL INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS
P R E S E N T E

Me es grato comunicarle que esta Subdirección Académica a mi cargo, la ha nombrado – **SEGUNDO VOCAL** – del Jurado para el Examen Predoctoral que sustentará la **MTRA. CARMEN RUÍZ BELLO**, el día 22 de febrero del año en curso, a las 9:00 horas en el Auditorio "Mtro. Jorge Alberto Lugo de la Fuente" de esta Facultad.

Se anexa un ejemplar de los avances del Proyecto de Investigación Doctoral titulado "CONSERVACIÓN IN VITRO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Encyclia adenocaula* (la llave & lex.) Schltr. (Orchidaceae)", solicitándole su puntual asistencia 30 minutos antes de la hora señalada.

ATENTAMENTE
"PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO"
"2007, 50 Aniversario Luctuoso del Poeta Enrique Carniado"

DR. FRANCISCO JAVIER MANJARREZ SILVA
SUBDIRECTOR ACADÉMICO



inifap

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias



COMISIÓN NACIONAL FORESTAL



SE OTORGA LA PRESENTE CONSTANCIA A:

DRA. TERESITA DEL N.J. MARÍN HERNÁNDEZ

POR SU PARTICIPACIÓN COMO INSTRUCTORA EN EL CURSO
"ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN DE *Encyclia adenocaula* (Orchidaceae)",
CELEBRADO EL 2 DE JUNIO DEL 2007, EN EL EJIDO "EL PEÑÓN", MUNICIPIO DE
TEMASCALTEPEC, ESTADO DE MÉXICO.

DR. HÉCTOR M. BENAVIDES MEZA
DIRECTOR DEL CENTRO NACIONAL DE
INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN
CONSERVACIÓN Y MEJORAMIENTO DE
ECOSISTEMAS FORESTALES / INIFAP

M.C. JOSÉ RAMÓN FRANCO MARTÍNEZ FACULTAD DE
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
AGRÍCOLAS / UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



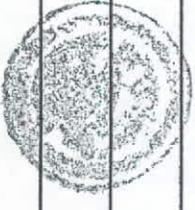


LISTA DE ASISTENCIA
CURSO "ESTRATEGIAS DE CONSERVACION DE Encyclia adenocaula (Ordhicaeae)
2 DE JUNIO DEL 2007 EN EL EJIDO "EL PEÑON", MPIO. DE TEMASCALETEPEC, MEX.

| NOMBRE | DIRECCION | OCUPACION | FIRMA |
|----------------------------------|-----------|-------------|-------|
| Maria Ydalia Jaramillo Jaramillo | El Peñon | Ogar | |
| Emilio Osorio Villalva | EL PEÑON | Ogar | |
| Silvia Jaramillo Jaramillo | El Peñon | HOGAR | |
| Maria Soledad Jaramillo Osorio | El Peñon | Ogar | |
| Maria Gabriela Jaramillo O. | El Peñon | Ogar | |
| MARIA ELENA Jaramillo J. | El Peñon | Ogar | |
| Amado Jaramillo M. | El Peñon | agricultor | |
| David Jaramillo L. | El Peñon | Comerciante | |
| Amador Jaramillo O. | El Peñon | | |
| Melcio Jaramillo H. | El Peñon | | |
| Jerónimo Jaramillo S. | El Peñon | Comerciante | |
| Mardoris Jaramillo A. | El Peñon | Campeño | |
| Filiberto Jaramillo B. | El Peñon | Campeño | |



LISTA DE ASISTENCIA
CURSO "ESTRATEGIAS DE CONSERVACION DE ENCICLIA adenocaula (Ordhicaeae)
2 DE JUNIO DEL 2007 EN EL EJIDO "EL PEÑON", MPIO. DE TEMASCALETEPEC, MEX.

| NOMBRE | DIRECCION | OCUPACION | FIRMA |
|---|----------------------------|---|-------|
| Se hace constar que la Dra Teresita Maria Hernández, Carmen Ruiz Bello y Dr Antonio Lagana Cervda impartieron el curso en el Peñón el día 2 de junio del 2007 | | | |
| | | | |
| | MARTÍN Jaramillo Hernandez | | |
| | |  | |
| | | COMUNIDAD EJIDAL EL PEÑON MUN. DE TEMASCALETEPEC EST. DE CHIAPAS | |
| | | | |
| | | | |



Universidad Michoacana de
San Nicolás de Hidalgo



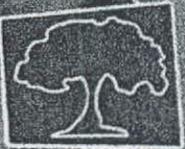
INGENIERIA
Facultad de Ingeniería en
Tecnología de la Madera



Sociedad Mexicana de
Recursos Forestales A.C.



COMISIÓN NACIONAL FORESTAL



ProArbol



COMISION FORESTAL DEL
ESTADO DE MICHOACAN



CEGONEXPO
Comité de Convenciones y Exposiciones de Madera

Michoacán
el alma de México



INGRA
CORPORATIVO



COECYT MICHOACAN



Congreso Mexicano de Recursos Forestales

Capacitación, Investigación y Tecnología...
factores fundamentales para el desarrollo forestal.

Del 28 al 31 de Octubre 2007.
Morelia, Michoacán.
CENTRO DE CONVENCIONES.

Libro de Resúmenes



Forestales
Michoacán, México
Sociedad Mexicana de Recursos Forestales
Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera - UMSNH



VIII Congreso Mexicano de Recursos Forestales
del 28 al 31 de octubre de 2007. Morelia, Michoacán, México
Sociedad Mexicana de Recursos Forestales
Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera - UMSNH



SOCIEDAD MEXICANA DE RECURSOS FORESTALES

MESA DIRECTIVA

Presidente

Dr. Javier Jiménez Pérez
*Facultad de Ciencias Forestales
Universidad Autónoma de Nuevo León*

Vicepresidente

Dra. Patricia Hernández de la Rosa
Colegio de Posgraduados

Secretario

Dr. Juan Manuel Chacón Sotelo
*Facultad de Ciencias Agrícolas, Forestales y Zootecnia
Universidad Autónoma de Chihuahua*

Tesorero

Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones
*Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*

Vocales

Dr. Raymundo Villavicencio García
*Departamento de Producción Forestal
Universidad de Guadalajara*

Dr. Eduardo Javier Treviño Garza
*Facultad de Ciencias Forestales
Universidad Autónoma de Nuevo León*

Dr. Jorge Torres Pérez

es. *Libro de Resúmenes*

Hidalgo



| | |
|--|-----|
| ESTABLECIMIENTO DE DOS ÁREAS SEMILLERAS DE <i>Eucalyptus urophylla</i> EN MARÍA LOMBARDO, OAXACA. MIZERIT-TRIVI L, JASSO-MATA J, LÓPEZ-UPTON J, FIERROS-GONZÁLEZ A M, DE LOS SANTOS-POSADAS H, ALVARADO- ROSALES D. ----- | 238 |
| ESTABLECIMIENTO DE DOS AREAS SEMILLERAS EN PLANTACIONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> EN OAXACA. PAREDES-DÍAZ E, JASSO-MATA J, LÓPEZ-UPTON J, FIERROS GONZÁLEZ A M, DE LOS SANTOS- POSADAS H M, ALVARADO-ROSALES D. ----- | 239 |
| EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS CON AGUA CALIENTE Y ÁCIDO SULFÚRICO A DIFERENTES TIEMPOS EN SEMILLAS DE <i>Acosmium panamense</i> (Benth.) Yacovlev (Leguminosae) Y <i>Astronium graveolens</i> Jacq. (Anacardiaceae) DEL ESTADO DE VERACRUZ. MA. DEL PILAR DE LA GARZA LÓPEZ DE LARA, ESTEBAN MARTÍNEZ, VICENTE SANCHEZ, FRANCISCO CAMACHO MORFIN. ----- | 240 |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA SEMILLA DE ESPECIES DE MEZQUITE DEL NORTE DE MÉXICO. MERLIN-BERMEDES E, ROSALES-SERNA R, JIMÉNEZ-OCAMPO R, MEZA-SÁNCHEZ R. ----- | 241 |
| BUSQUEDA DE HONGOS MICORRIZICOS EN TRES LOCALIDADES DE IMPORTANCIA MEZCALERA EN EL ESTADO DE DURANGO. MONTES RIVERA G, MARTÍNEZ ALMONTE E, SOLIS GONZÁLEZ S. ----- | 242 |
| ANÁLISIS QUÍMICO DE LA VAINA EN ESPECIES DE MEZQUITE DEL NORTE DE MÉXICO. MERLIN-BERMEDES E, ROSALES-SERNA R, JIMÉNEZ-OCAMPO R, PIÑA-PUENTE J F. ----- | 243 |
| ALTURA Y DIÁMETRO EN DOS ENSAYOS DE PROGENIE DE <i>Pinus greggii</i> ENGELM. EN ARTEAGA, COAH. GUTIÉRREZ-VÁZQUEZ B, CORNEJO-OVIEDO E, VALENCIA-MANZO S Y FLORES-LÓPEZ C. ---- | 244 |
| ACUMULACIÓN DE BIOMASA EN PLÁNTULAS DE 20 FAMILIAS DE CAOBA " <i>Swietenia macrophylla</i> King" PRODUCTO DE POLINIZACIÓN ABIERTA. NIEMBRO-ROCAS, A., MÁRQUEZ-RAMÍREZ, J. Y APARICIO-RENTERÍA, A. ----- | 245 |
| ABUNDANCIA DE PLANTAS ANTICANCERÍGENAS, ANTIVIRALES Y ANTIDIABÉTICAS EN DOS PARQUES NACIONALES DEL CENTRO DE MÉXICO. MARTÍNEZ MARES JACQUELINE PAOLA, SEVILLA SALCEDO ALEJANDRA, ANGELES-CERVANTES E. ----- | 246 |
| VARIACIÓN DE LA DENSIDAD DE LA MADERA DE <i>Pinus herrerae</i> Mtz. EN CIUDAD HIDALGO, MICH. HERNÁNDEZ-DE LA CRUZ J, VALENCIA-MANZO S, CORNEJO-OVIEDO E. H., FLORES-LÓPEZ C. ----- | 247 |
| VARIABILIDAD GENÉTICA DE <i>Encyclia adenocaula</i> (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae) UN RECURSO FORESTAL NO MADERABLE. RUÍZ-BELLO C, LAGUNA-CERDA A, IGLESIAS-ANDREU LG, DAMON-A, MARÍN-HERNÁNDEZ TNJ AZPIROZ-RIVERO HS Y MORENO-MARTÍNEZ JL. ----- | 248 |
| VARIABILIDAD GENÉTICA DE PRIMAVERA (<i>Tabebuia donnell-smithii</i> Rose) MEDIANTE ISSRS EN EL SOCONUSCO, CHIAPAS, MÉXICO. MORENO-MARTÍNEZ JL, LAGUNA-CERDA A, IGLESIAS-ANDREU LG, MAYCOTTE-MORALES CC, AZPIROZ-RIVERO HS Y RUIZ-BELLO C.----- | 249 |
| TRANSFERENCIA DE ALTA TECNOLOGÍA EN MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL A SILVICULTORES EN CHIHUAHUA, MEXICO: AVANCES PRELIMINARES. PEINADO-V, L.R., POMPA-GARCÍA, M., FLORES-LÓPEZ, C. ----- | 250 |
| SELECCIÓN DE ÁRBOLES SUPERIORES DE <i>Pinus pseudostrobus</i> LINDL., CON EL SISTEMA "ÁRBOLES TESTIGO" EN ÁREAS SEMILLERAS DE MICHOACÁN. ROSALES-CASTILLO R MUÑOZ-FLORES H.J., VILLASEÑOR RAMÍREZ, SÁENZ-REYES J.T. | |



VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae) UN RECURSO FORESTAL NO MADERABLE

Ruíz-Bello C^{1,6}; Laguna-Cerda A², Iglesias-Andreu LG³, Damon-A⁴, Marín-Hernández TNJ⁵ Azpiroz-Rivero HS⁵ y Moreno-Martínez JL¹

¹Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Entronque Carr. Costera- Huehuetán. Huehuetán, Chiapas. México. E-mail: carubel16@yahoo.com.mx
²Universidad Autónoma del Estado de México. ³Universidad Veracruzana. ⁴Ecosur- Unidad Tapachula. ⁵Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Resumen

En México existen alrededor de 1200 especies de orquídeas, muchas de las cuales se encuentran en peligro de extinción debido al cambio de uso de suelo y a la comercialización ilegal de las mismas. *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr., es una orquídea epífita que vive sobre los Encinos (*Quercus sp*) por lo que es considerada como un recurso forestal no maderable. Es una planta endémica en México. Se distribuye en los estados de: Nayarit, Jalisco, Michoacán, México, Guerrero y Oaxaca. Por su amplia utilización comercial como planta de ornato es altamente depredada, la Norma Oficial Mexicana (Nom-059-SEMARNAT-2001) la reporta como amenazada. Con el uso de marcadores moleculares puede conocerse la variabilidad genética existente, con la finalidad de establecer bancos de germoplasma que permitan su conservación así como llegar a generar líneas de interés comercial. Esta investigación planteó como objetivo: conocer la variabilidad genética existente de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. en dos sitios del municipio de Temascaltepec, México. La metodología efectuada fue: 1) Recorridos de campo en el municipio de Temascaltepec, Edo., de Méx., en búsqueda de la especie, 2) Se seleccionaron los sitios El Peñón y Río Chilero, 3) Se obtuvieron muestras de hojas para extracción de ADN, 4) Se utilizó la metodología de ISSRs para el estudio de variabilidad. Se tomó tejido vegetal de cada planta (19 plantas de El Peñón y 20 de Río Chilero) colocándolo en tubos eppendorf y transportándose en nitrógeno líquido a laboratorio donde se conservaron a una temperatura de -80°C. Se realizó la extracción de ADN conservándolo a una temperatura de -20°C. Se iniciaron las pruebas de los primers para la identificación de polimorfismo. Hasta el momento se cuenta con el estudio concluido de dos primers debiendo continuar con otros tres más.

Palabras claves: Variabilidad genética, *Encyclia adenocaula*, ISSRs.



Agroentorno

No. 80 / Año 10 / Noviembre 2006

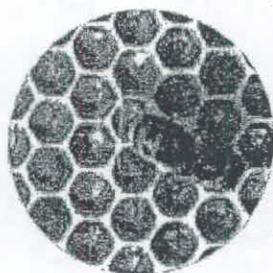


Aniversario

Agroentorno
Cumple 9 años en
el gusto de su
público lector

www.funprover.org/agroentorno





Mensaje **2**

Los plaguicidas para producir limón persa inocuo **3**

Aceite de neem: un insecticida ecológico para la agricultura **8**

La tecnología: herramienta productiva para generar una mejor ganadería **10**

La apicultura como una alternativa de diversificación de la producción rural **12**

Primer Aniversario del Mercado CÓATL **15**

Buscan rescatar la Orquídea Encyclia adenocaula **16**

La luna y la agricultura biodinámica **18**

Plagas y enfermedades en Anthurio Andreanum **19**

Ventajas de la hidroponía en la floricultura **21**

Está en el campo la fortaleza económica **23**

Piden continuar con programas de "Ganado Mejor" y "Mejoramiento Genético" **25**

El maguey, excelente alternativa económica y agroecológica **27**

Tecnología del azúcar **29**

El Niño en América: Amenaza otra vez **31**

Buscan rescatar la orquídea *Encyclia adenocaula*

RUIZ BC¹, LAGUNA CA², IGLESIAS ALG³, DAMÓN AA⁴,
MARÍN HTDNJ⁵ Y AZPIROZ R.H.S⁶

La familia Orchidaceae es considerada como una de las familias más grandes del Reino Vegetal, comprende entre 25,000 a 30,000 especies, distribuidas en todos los sitios del planeta donde es posible la vida (Cabrera, 1999).

En México se reportan 127 géneros y 803 especies de las cuales 22 están en peligro de extinción y 57 amenazadas (SINAREFI, 2004; de acuerdo con la NOM-059-ECOL.). Hay un verdadero interés por las orquídeas silvestres; esto se debe primordialmente a fines comerciales, religiosos y como plantas de ornato para corto y determinado tiempo.

Año con año cientos de miles de ejemplares se concentran en los mercados regionales para su venta, arrancados del árbol vivo, destruyendo así las posibilidades de sobrevivencia de las poblaciones silvestres de innumerables géneros de orquídeas (Hartman, 1992).

Existe una pérdida irreversible de biodiversidad de esta familia, causada por fenómenos meteorológicos, pérdida de hábitat, falta de tecnologías adecuadas para conservar sus semillas y la baja germinación de las mismas porque debido a que carecen de endospermo, requieren entrar en una relación simbiótica con algún hongo micorrízico, que

le proveerá los nutrimentos necesarios para su desarrollo; aunado al constante saqueo de plantas en los ecosistemas.

Para las especies en peligro de extinción, es urgente llevar a cabo programas encaminados a la preservación de la variación existente y a la vez establecer programas efectivos de conservación de estos valiosos recursos. Esto permitirá contribuir a los trabajos de conservación en esta familia y obtener a futuro líneas que tengan las características deseables para su posible comercialización.

La orquídea *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr., que se distribuye en los estados de: Nayarit, Jalisco, Michoacán, México, Guerrero y muy rara vez en Oaxaca (Hágsater y Soto, 2002) de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (Nom-059-SEMARNAT-2001) se encuentra amenazada, lo que la hace vulnerable, con riesgo de llegar a extinguirse. Es una orquídea epífita, su principal hospedero es el árbol de encino (*Quercus*, sp.), su hábitat es diverso desde 1200 a 2000 msnm. Florece en los meses de mayo y junio, sus flores son grandes en forma de estrella. Su nombre común es "trompillo morado" su color es rosado pálido o lila. Debido a una sobrecolecta se considera que esta especie debe tener una protección especial (Hágsater y Soto,

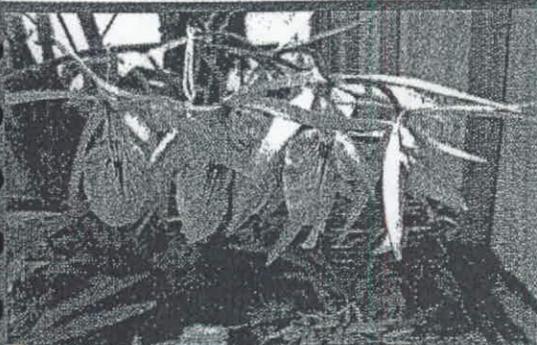


FOTO 1



FOTO 2

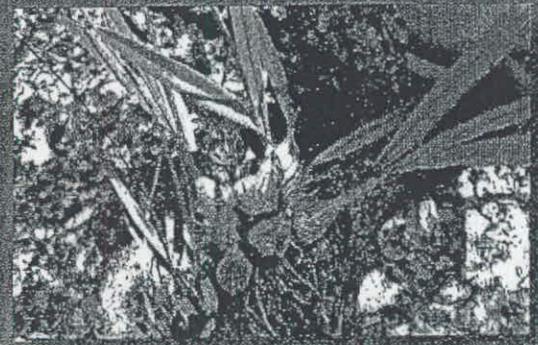


FOTO 3

2002). Por la belleza y aroma de sus flores es utilizada como planta de ornato y año tras año es altamente depredada para su venta en mercados locales. (FOTOS: 1, 2 y 3).

Con la finalidad de contribuir a la conservación y manejo más adecuado de esta especie de orquídea se inició el proyecto "Conservación in vitro caracterización molecular de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex) Orchidaceae". Con este fin se efectuaron colectas de plantas en el municipio de Temascaltepec, Estado de México; destacado por su alta diversidad de orquídeas. Las plantas colectadas se establecieron en invernadero, de las cuales se obtuvieron cuatro cápsulas, mismas que fueron desinfectadas y disectadas para efectuar la siembra in vitro de sus semillas, obteniendo un gran número de plántulas. (FOTOS: 4 y 5).

Con fines de establecer un banco de germoplasma que permita su conservación por mínimo crecimiento actualmente se evalúa el efecto de cuatro diferentes temperaturas (5, 10, 15 y 20 grados centígrados), sobre el crecimiento de las vitroplántulas obtenidas (FOTOS: 6 y 7).

Para observar variabilidad genética de la especie, mediante marcadores moleculares, se escogieron dos sitios del municipio de Temascaltepec: Río Chilero y El Peñón, donde fueron tomadas las muestras que se tienen bajo condiciones de conservación en un ultracongelador a -80°C , en espera de que se realice su caracterización molecular mediante el análisis del polimorfismo de fragmentos amplificados (AFLPs). (FOTOS: 8, 9, 10 y 11).

Este proyecto tiene como finalidad enseñar a los integrantes del Ejido El Peñón formas alternativas de propagación y conservación del recurso, que tienen en dicha comunidad, y lograr un manejo sustentable para salvaguardar este valioso

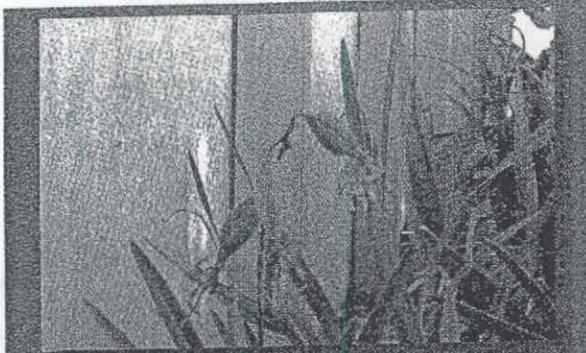


FOTO 4

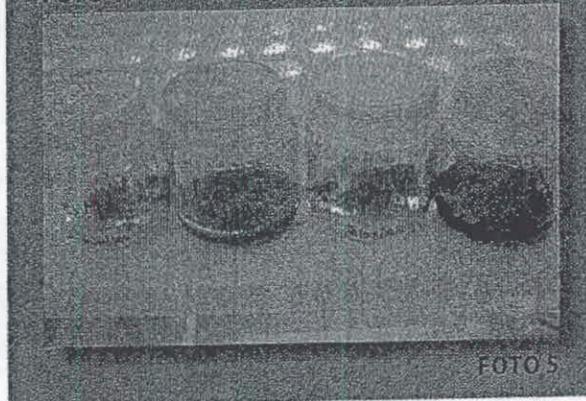


FOTO 5

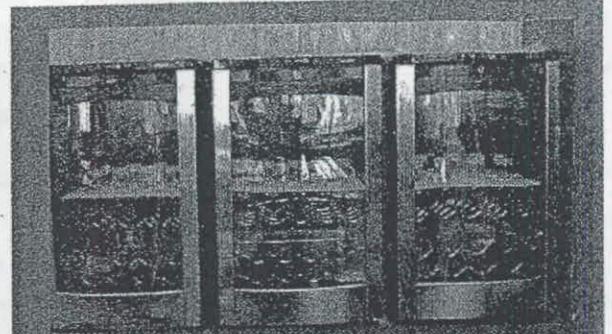


FOTO 6

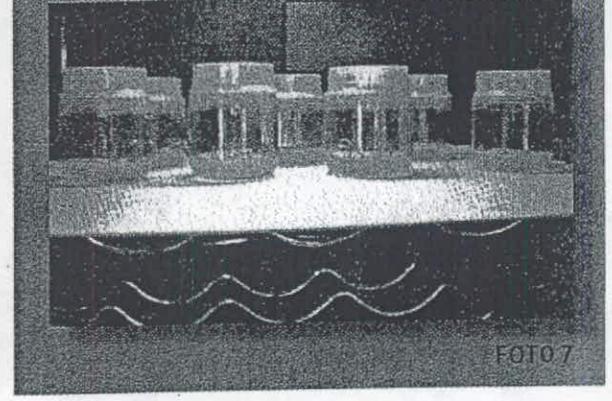


FOTO 7

recurso genético, así como también observar la variabilidad genética existente en los dos sitios seleccionados.

¹ Universidad Autónoma de Chiapas (Correo electrónico: carubel16@yahoo.com.mx) ² Universidad Autónoma del Estado de México. ³ Universidad Veracruzana. ⁴ ECOSUR-Unidad Tapachula. ⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

REFERENCIAS

Cabrera, C.T. 1999. Orquídeas de Chiapas. Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas. Polyforum Mesoamericano. Calzada Andrés Serra Rojas s/n. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 194 pp.
 Hágater, E. y Soto, M. 2002. Icones orchidacearum. Herbario AMO, Apartado postal 53-123, 11320. México, D.F.
 Hartman, W. 1992. Las orquídeas de Chiapas. Gobierno del Estado de Chiapas. Consejo Estatal de Fomento a la Investigación y Difusión de la Cultura DIF-Chiapas/Instituto Chiapaneco de Cultura. 70 p.
 SINAREFI. 2004. Sistema Nacional de Recursos Filogenéticos para la alimentación y la agricultura. Red de Ornamentales. Plan estratégico.

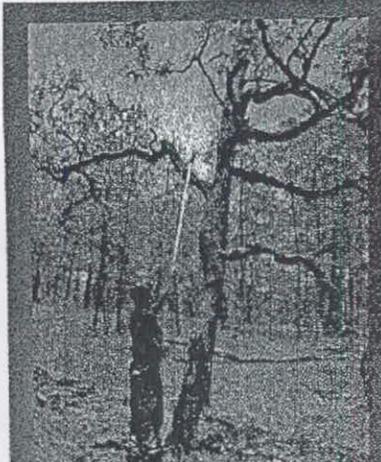


FOTO 8



FOTO 9

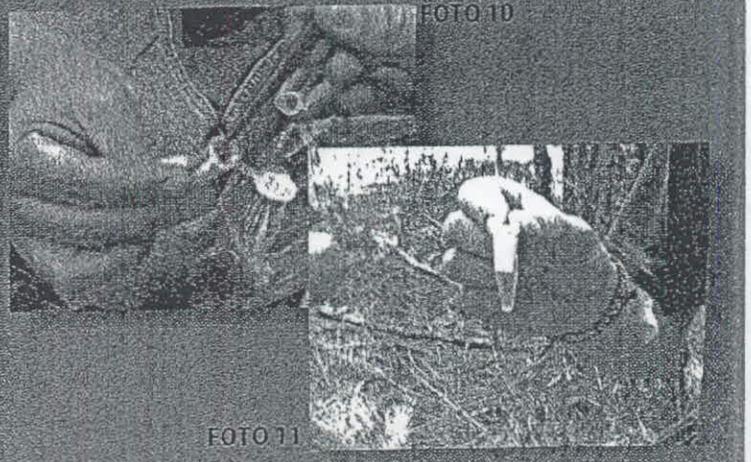


FOTO 10

FOTO 11

**XXI CONGRESO NACIONAL
Y PRIMERO INTERNACIONAL DE FITOGENÉTICA**

3 al 8 de septiembre de 2006

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México

ORGANIZADO POR:

**SOCIEDAD MEXICANA DE FITOGENÉTICA, A.C.
Y
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS**

**MEMORIA DE
RESÚMENES**

COMPILADORES:

Amalio Santacruz Varela
Leobigildo Córdova Téllez
Juan C. Molina Moreno

**MEMORIA DE RESÚMENES DEL XXI CONGRESO NACIONAL Y
PRIMERO INTERNACIONAL DE FITOGENÉTICA.**

Compiladores:

Amalio Santacruz Varela
Leobigildo Córdova Téllez
Juan C. Molina Moreno

Editores Resúmenes:

Alfonso Peña Ramos
Ramón Álar Martínez Peniche
Juan Virgen Vargas
Micaela de la O Olán
Araceli Ramírez Jaspeado
Amalio Santacruz Varela
María Alma Rangel Fajardo
Jesús Jasso Mata
Juan C. Molina Moreno

ISBN 968 – 839 – 219 – 7

Se autoriza la reproducción de estos resúmenes siempre y cuando se cite al
(los) autor(es) y a esta memoria.

Impreso en México / Printed in México

Primera edición:

SOCIEDAD MEXICANA DE FITOGENÉTICA, A.C.

Dirección Postal:

Apartado Postal Núm. 21
56230 Chapingo, Edo. de México.
México

Responsable de la base de datos: Efrén Rodríguez Carranza

Diseño de portada: Miguel Mellado Enciso

Cita correcta: SOMEFI. 2006. Memoria del XXI Congreso Nacional y
Primero Internacional de Fitogenética. Chapingo, México.

El contenido de los resúmenes de esta obra es responsabilidad de los autores

CONSERVACIÓN *IN VITRO* Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Encyclia adenocaula* (LA LLAVE & LEX.) SCHLTR. (ORCHIDACEAE)

Carmen Ruíz Bello*, Antonio Laguna Cerda, Lourdes Georgina Iglesias Andreu, Anne Sabih Damon, Teresita del Niño Jesús Marín Hernández y Hilda Susana Azpiroz Rivero

* Universidad Autónoma de Chiapas. carubel16@yahoo.com.mx

En México existe amplia diversidad de especies de orquídeas en peligro de extinción que se ven seriamente afectadas por su comercialización ilegal y por el cambio de uso del suelo, además que para lograr su germinación requieren de la presencia de un hongo simbiótico debido a que las semillas tienen unas cuantas células de reserva con las cuales no pueden germinar. La utilización de las técnicas biotecnológicas del cultivo *in vitro*, ayuda a reducir las colectas en el campo con fines comerciales y puede servir como fuente de recursos económicos al establecer sistemas de propagación controlados, además de que esta técnica ofrece otra alternativa de conservación de germoplasma valioso. Para el logro de este último es necesario conocer la variabilidad genética de sus poblaciones y ver que tan representadas están cuando se conserva *in vitro*. La investigación que se presenta, planteó buscar una metodología para la germinación, conservación y preservación genética de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr. Esta orquídea de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT, se encuentra amenazada. Los objetivos fueron: 1) seleccionar entre cuatro medios de cultivo, la germinación *in vitro*, 2) desarrollar la metodología de mínimo crecimiento para conservación *in vitro* de germoplasma de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr y 3) caracterizar vía molecular la especie en dos diferentes sitios del Municipio de Temascaltepec, Edo. de México, mediante identificación de marcadores que revelen polimorfismo para obtener perfiles genéticos y sentar bases para su conservación, y además 4) comparar genéticamente las poblaciones estudiadas y las plantas obtenidas *in vitro* con la finalidad de ver la representación de estas poblaciones en las vitroplantas obtenidas. Hasta el momento se presenta la metodología que incluye: colecta de cápsulas; germinación de semillas en cuatro medios de cultivo, para su implementación se usó un diseño completamente al azar utilizando el ANOVA, para el análisis de resultados. Se dará seguimiento por mínimo crecimiento con diferentes efectos de temperatura y modificando el medio de cultivo. La caracterización molecular se realizará mediante AFLP. Se realizó la colecta del material vegetativo en los dos sitios para iniciar las pruebas preliminares en el laboratorio de biotecnología del INIFAP en el CENID-COMED con sede en Coyoacán, México.