



La *Bletilla striata*. experimenta un mayor desarrollo de plántulas en un medio nutritivo MS (Murashige & Skoog) que en el medio nutrido con la solución Knudson C. En ambos casos, el estudio se realizó con citoquininas KIN (quinetina) y BAP (6-bencilaminopurina).

Cultivo «in vitro» de orquídeas

El objetivo principal de este estudio es la multiplicación a gran escala de orquídeas silvestres y de jardín mediante la técnica de cultivo «in vitro». Se incide especialmente en los géneros silvestres a fin de poderlas promocionar como planta de jardín o para repoblación.

A ello hay que añadir que es una manera de ampliar conocimientos sobre unas especies de las que apenas existe bibliografía. Otro hecho importante es que se trata de reproducir unas plantas protegidas por la Ley, asegurando así su existencia.

Las orquídeas, flores popularmente conocidas por su belleza y exotismo, están representadas en Europa por unas 120 especies. Estas son de pequeño tamaño respecto a las variedades cultivadas, pero no obstante de gran colorido y diversidad en formas, frecuentemente semejan a insectos.

Son todas terrestres, provistas de raíces tuberosas, rizomas o de bulbos macizos.

Las hojas son paralelinervas de forma ovalada u oblonga.

La flor, de simetría bilateral, se compone por tres sépalos y tres pétalos. Uno de los pétalos se halla en posición inferior y se dispone en forma de labio, de ahí el nombre recibido de «labelum». Esta es la formación más característica de las orquídeas. Tanto el polen como el estigma se hallan en una estructura común denominada columna.

La iniciación al cultivo «in vitro» se realizó mediante órganos vegetales (raíces, hojas, brotes apicales y axilares) o estructuras reproductoras, tales como yemas florales, ovarios, embriones y semillas.

Las flores polinizadas originan unas cápsulas que maduran en uno o dos meses por lo general, formando entre miles y millones de semillas que apenas superan los 2 mm. La semilla básicamente está constituida por un embrión envuelto por una testa y todo ello por una fina capa que le da apariencia globosa, lo que facilita su dispersión por el viento. Al no poseer, o ser muy escaso el endosperma (tejido de reserva en semillas), es necesario en condiciones «in vivo» la germinación mediante micorrización (asociación simbiótica de un hongo con las raíces de una planta). Generalmente son hongos del género *Rhizoctonia*.

Los valores de germinación obtenidos en medios naturales son del 5%, de los que muy pocas alcanzan la madurez.

Técnicas de cultivo

La iniciación al cultivo «in vitro» se realizó mediante órganos vegetales (raíces, hojas, brotes apicales y axilares) o estructuras reproductoras, tales como yemas florales, ovarios, embriones y semillas.

El material vegetal, a excepción de las semillas, se obtuvo de unas 70 plantas entre las que figuraban géneros como *Barlia*, *Ophrys*, *Orchis*, *Serapias* y *Spiranthes*.

La semilla utilizada provenía de los géneros *Barlia*, *Bletilla*, *Limodorum*, *Ophrys*, *Orchis*, *Serapias* y *Spiranthes*.

Los primeros cultivos se realizaron mediante planta silvestre, que debido a la existencia de microorganismos endógenos, esto es que se hallan en los tejidos vegetales, fue imposible lograr el cultivo mediante estructuras no reproductoras.

Algunas de las formaciones reproductoras (yemas florales y ovarios) se vieron libres de microorganismos en su mayoría, aunque no superaron las pruebas de iniciación.

En la mayoría de los casos se observaron formaciones fenólicas (compuestos de color marrón derivados de la necrosis de los tejidos), que en general son fitotóxicas.

Al realizarse estas pruebas a lo largo de un año y no obtenerse resultado alguno, se optó por el cultivo de semillas maduras y embriones. Aun-

que se trate de un método más costoso y lento, fue la única alternativa disponible. El cultivo de semillas ocupó la mayor parte del estudio. Las especies utilizadas son *Spiranthes spiralis* (orquídea silvestre mediterránea) y *Bletilla striata* (especie utilizada en jardinería).

Tratamientos

Son orquídeas de desarrollo y comportamiento muy distinto. Con ambas especies se probaron dos soluciones nutritivas utilizadas para el cultivo de orquídeas (Knudson C y Murashige & Skoog) combinándose con las mismas dosis de citoquininas (fitohormonas de multiplicación) para cada solución nutritiva. Las citoquininas utilizadas fueron KIN (quinetina) y BAP (6-bencilaminopurina).

La gran dificultad de la elección de las dosis hormonales y tratamientos fue la total falta de bibliografía de los géneros tratados. La elección se realizó a partir de publicaciones de géneros de orquídeas comerciales.

Con estos tratamientos se proponía obtener una óptima germinación de la semilla y un desarrollo en un tiempo mínimo de la «plántula».

Un segundo estudio se realizó a partir de los mejores resultados obtenidos en el ensayo anterior.

Dicho estudio consistió en la observación de la tasa de multiplicación que se experimentaba en los medios de concentración hormonal superior a los anteriormente formulados.

Paralelamente se iniciaba el cultivo de embriones de orquídeas mediterráneas en las siguientes especies: *Barlia robertiana*, *Limodorum abortivum*, *Ophrys sphegodes*, y *Serapias parviflora*.

Resultados

La germinación de *Bletilla striata*, de un 99%, se observó a los 7 días, mientras que para *Spiranthes spiralis* se realizó a los 30 días con tan sólo un 25%.

El medio de cultivo en el que mayor desarrollo de plántulas se obtuvo, fue formulado con la solución MS (Murashige & Skoog) con 0,5 ppm de KIN y MS con 0,5 ppm de BAP para *Bletilla striata*.

En el caso de *Spiranthes spiralis* no se observaron diferencias entre me-



Orquídea de aspecto exótico (*Bletilla striata*) para jardín. Durante el estudio, se hizo una prueba de aclimatación (paso de la plántula en condiciones «in vitro» a «in vivo» o exterior) de la *Bletilla striata*. El 95% de las plántulas enraizaron y rebrotaron adoptando un color verde intenso y alcanzaron los 3 cm en 30 días.

dios, aunque en la combinación de la solución MS con 3 ppm de KIN se obtuvieron tres brotes con esbozos foliares.

En el ensayo de multiplicación, tan sólo se obtuvieron como máximo dos brotes a partir de una yema y sin observarse diferencias entre tratamientos. Entre las causas posibles de esta situación podría estar la brevedad del estudio.

En el cultivo de embriones, germinaron las especies *Limodorum abortivum*, *Ophrys bombyliflora* y *Serapias parviflora*, al cabo de 6 meses. Las

primeras hojas verdes aparecieron dos meses más tarde al exponerse a la luz.

Se realizó una prueba de aclimatación (paso de la plántula de condiciones «in vitro» a «in vivo» o exterior) con *Bletilla striata*, en el que el 95% de las plántulas enraizaron y rebrotaron adoptando un color verde intenso y unos 3 cm en 30 días.

TOMEU GAYÀ SUÑER
Escola Superior d'Agricultura
de Barcelona

Bibliografía

- Ammirato, P.V., Evans, D.A.; Sharp, W.R.; Bajaj, Y.P.S. (1990) *Handbook of Plant Cell Culture*. Mc Graw-Hill Publishing Company (U.S.A.).
- Fanfani, A. (1990) *Guía de Orquídeas*. Ed. Grijalbo, S.A.
- Grey-Wilson, C.; Mathew, B.; Blamey, M. (1982). *Bulbos. Una guía de identificación de las plantas bulbosas de Europa*. Ed. Omega, S.A.
- Margará, J. (1988) *Multiplicación vegetativa y cultivo «in vitro»*. Ed. Mundi-Prensa.
- Pérez, F; Molero, J. (1990) *Orquídeas Silvestres de la provincia de Granada*. Universidad de Granada.
- Pierik, R.L.M. (1987) *Cultivo «in vitro» de las plantas superiores*. Ed. Mundi-Prensa.
- Reinert, J; Bajaj, Y.P.S. (1988). *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Narosa Publishing House. (New Delhi).
- Withner, C.L. (1974). *The Orchids. Scientific Studies*. John Wiley & Sons, Inc.