

FENOLOGÍA Y EFECTO DE LA INTENSIDAD DE LUZ EN LA GERMINACIÓN *IN VITRO* DE *Masdevallia solomonii* (ORCHIDACEAE)

Phenology and effect of light intensity on germination *in vitro* of *Masdevallia solomonii* (Orchidaceae)

Mamani Sánchez Beatriz¹, Pacheco Acosta Luis Fernando², Quezada Portugal Jorge Angel Nicolas³

RESUMEN

Masdevallia solomonii, es una orquídea epífita y endémica de los Yungas de La Paz, con hábitats amenazados para su sobrevivencia a corto y mediano plazo, y también considerada como especie vulnerable, se constituye en prioritaria para la conservación. Una de las limitantes para la propagación, es el bajo porcentaje de germinación, por carecer de reservas nutritivas en las semillas, que requieren asociarse a un hongo simbiote y además está condicionada a factores de temperatura, intensidad lumínica, fotoperiodo, entre otras. Además, es necesario conocer sus patrones fenológicos (vegetativo y reproductivo) para establecer estrategias de manejo. En este sentido en el presente trabajo el objetivo fue describir patrones fenológicos y determinar el efecto de la intensidad luminosa y realizar la descripción morfológica del proceso de germinación de *M. solomonii*. Entre diciembre de 2008 a noviembre de 2009 se realizó el seguimiento fenológico en el tramo del camino precolombino Chojllapata del PN ANMI-Cotapata. En laboratorio, las semillas fueron desinfectadas y sembradas en el medio Knudson C, y expuestas a dos intensidades lumínicas (1.965 y 7.992 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ respectivamente) en la cámara de crecimiento. Los botones florales empezaron a aparecer en septiembre, y el mayor pico se registró en noviembre. De mayo a octubre se presentaron más del 40 % de la población en estado vegetativo (estéril), se tiene un 13 % de producción de frutos. A una baja intensidad lumínica (1.965 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) presentó un mayor porcentaje de germinación (22.39 %), que a una alta intensidad (7.992 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) con 8.16 % de germinación. La floración se presentó en época lluviosa (octubre a marzo), la mayoría de los individuos llegaron a formar una flor, la maduración de los frutos requirió 8 meses. A una baja intensidad lumínica (1.965 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) presentó un mayor porcentaje de germinación de 22.39 %.

Palabras clave: conservación, endémica, fenología, *Masdevallia solomonii*, germinación.

ABSTRACT

Masdevallia solomonii, is an epiphytic and endemic orchid of the Yungas of La Paz, with threatened habitats for its survival in the short and medium term, and also considered a vulnerable species, it is a priority for conservation. One of the limitations for propagation is the low percentage of germination, due to the lack of nutritional reserves in the seeds, which require association with a symbiotic fungus and is also conditioned by factors of temperature, light intensity, photoperiod, among others. In addition, it is necessary to know their phenological patterns (vegetative and reproductive) to establish management strategies. In this sense, in the present work, the objective was to describe phenological patterns and determine the effect of light intensity and make the morphological description of the germination process of *M. solomonii*. Between December 2008 and November 2009, phenological monitoring was carried out on the section of the pre-Columbian road Chojllapata of the ANMI-Cotapata NP. In the laboratory, the seeds were disinfected and sown in Knudson C medium, and exposed to two light intensities (1.965 and 7.992 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectively) in the growth chamber. Flower buds began to appear in September, with the highest peak in November. From May to October, more than 40 % of the population were in a vegetative state (sterile), with 13 % of fruit production. At low light intensity (1.965 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) it presented a higher germination percentage (22.39 %), than at high intensity (7.992 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) with 8.16 % germination. Flowering occurred in the rainy season (October to March), most of the individuals came to form a flower, the ripening time of the fruits required 8 months. At a low light intensity (1.965 $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) it presented a higher germination percentage of 22.39 %.

Keywords: conservation, endemic, phenology, *Masdevallia solomonii*, germination.

¹ ✉ Departamento de Investigación y Proyectos, Unidad de Académica Campesina Carmen Pampa, Universidad Católica Boliviana "San Pablo" y Centro de PostGrado en Ecología y Conservación, Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9513-6941>. beita.mamani@gmail.com

² Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. lpacheco@fcpn.edu.bo

³ Instituto de Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. quezada.jorge@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las especies del género de *Masdevallia* (subtribu Pleurothallidinae), se distribuyen desde sur de México al sur de Brasil, con mayor diversidad en Los Andes de sur América desde Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Abele, 2007). El género *Masdevallia*, es uno de las más diversas (50 especies). En Bolivia existen aproximadamente 1 500 especies de orquídeas. El 80 % de las especies de *Masdevallia* son endémicas (Vásquez y Ibsch, 2000). La mayoría de las orquídeas bolivianas están bajo algún grado de amenaza, debido a que sus poblaciones son generalmente muy pequeñas, frágiles y de hábitat restringido. Sin embargo, la información científica sobre estas, así como del resto de las orquídeas bolivianas es casi inexistente.

La belleza de las orquídeas ha resultado, en que muchas son de valor comercial, como ornamental, tal el caso de *M. solomonii*. Esta especie y al parecer todas del grupo de orquídeas, se destacan por presentar complejas interacciones dentro del ciclo de su vida, como su relación obligada con hongos micorrízicos y que poseen sistemas de polinización muy especializados (Neiland y Wilcock, 1998). Una posible consecuencia en *M. solomonii*, es que su distribución es muy limitada, lo cual recaería en una mayor vulnerabilidad a la dependencia de sus interacciones bióticas con los polinizadores y las micorrizas. Esta hipótesis, se plantea debido a que, en su hábitat natural, la producción de frutos en orquídeas está por debajo del 20 %, y se estima que tan solo llegan a germinar entre 2 a 3 % en presencia del hongo micorrízico (Singh, 1988).

El conocimiento de la ecología básica de las especies con potencial económico, como es *M. solomonii* es fundamental al momento de plantear estrategias de manejo, como la fenología que está relacionada a la biología reproductiva. La fenología no solo estudia la fase vegetativa y reproductiva, sino que incluye el clima, la estación, los cambios de un área particular (Leith y Radofor, 1971 citado por Lokho y Kumar, 2012). También, la fenología incluye la interacción entre plantas y animales (polinizadores) (Parra y Vargas, 2004).

En la naturaleza, las orquídeas son generalmente polinizadas por insectos, los cuales pueden llevarse casi todo el polen en una sola visita, ya que estos vienen agrupados en paquetes (polínios); aunque también se da la autopolinización en bajo porcentaje

(menor al 5 %) (Neiland y Wilcock, 1998). Después de la fertilización ocurrirá el desarrollo y formación del embrión (embriogénesis) y de las otras estructuras de las semillas. El tiempo que requieren las semillas de orquídeas para madurar es muy variable. Por ejemplo, las especies del género *Dendrobium* y *Phalenopsis* necesitan de cuatro meses, mientras que *Cattleya* y *Paphiopedilum* requieren entre 10 a 12 meses y *Vanda* hasta 15 meses (Richter, 1969).

La simbiosis micorrízica entre la orquídea y el hongo depende de la distribución y densidad de los hongos en el ambiente, lo cual influye en la dinámica poblacional de las orquídeas, ya que es posible la existencia de una alta especificidad de asociación entre orquídeas y micorrizas (Rivas et al., 1998). En condiciones naturales la infección del hongo, que es uno de los factores determinantes para garantizar la germinación, está condicionada por otros factores como la disponibilidad de agua, temperatura, pH, sales minerales, vitaminas y reguladores de crecimiento (Pierik, 1990). El proceso de germinación se estima que tarda hasta tres años (Devesa, 1997), lo cual hace muy difícil su estudio en condiciones naturales (Bayman et al., 2002). Sin embargo, es posible disminuir este tiempo e incrementar las probabilidades de germinación de orquídeas a través del uso de herramientas biotecnológicas, suministrando a las semillas todos los nutrientes que necesitan para su crecimiento (Rodríguez et al., 2005), lo cual se logra mediante técnicas de biotecnología (Morales, 2011).

Los estudios de germinación *in vitro* en otras especies del género *Masdevallia* (*M. chaparensis*, *M. exquisita*, *M. tovarensis*, y *M. auripurpurea*) y distintos medios de cultivo, reportan porcentajes de germinación de 42, 53, 8.5 y 78 % respectivamente en los medios de cultivo de Murashige y Skoog; Knudson C, Hidro-Coljapp y medio básico (BA + ANA), respectivamente (Villegas, 2003; Sánchez, 2007; Michelangeli, 2010; Pedraza, 2011). Otros factores que se cree pueden afectar en la germinación son la calidad de luz recibida y el fotoperíodo, ya que algunas especies requieren de la luz para la germinación, mientras que otras pueden germinar en la oscuridad (Dutra et al., 2009).

El objetivo de la presente investigación fue caracterizar la fenología vegetativa y reproductiva de *Masdevallia solomonii* a lo largo de un ciclo anual en sus poblaciones naturales y determinar el efecto de la intensidad lumínica sobre la germinación *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

El trabajo fue realizado en el camino precolombino de Chojllapata, se encuentra en el Parque Nacional y Área Natural y de Manejo Integrado Cotapata (PN-ANMI Cotapata) del departamento de La Paz en Bolivia (Figura 1). La zona de estudio corresponde, a un bosque montano nublado de Yungas representa la formación vegetal más compleja y diversa, se relaciona con los bosques húmedos de montaña (Kessler y Beck, 2001). Geográficamente ubicada a 67° 52' 35.947" longitud oeste y 16° 14' 52.43" latitud sur, a 2 859 m s.n.m.

Metodología

En el bosque montano superior, son abundantes las

epífitas no vasculares como los musgos *Campylopus*, *Grimmia*, *Anacolia*, *Leptodontium*, *Calyptothecium*, *Sphagnum* y *Racomitrium* y los líquenes, *Cladonia* y *Cora*, así como las vasculares, que aumentan en los pisos inferiores, con varias especies de helechos y afines (licopodios y selaginelas), aráceas, bromeliáceas y orquidáceas. Los árboles dominantes son: *Clethra*, *Clusia*, *Vismia*, *V. glabra* y *V. glaziovii*, *Hieronima*, *Alchornea*, *A. pearcei*, *Escallonia paniculata*, *Freziera*, *Gaultheria*, *Hedyosmum*, *Miconia*, *Oreopanax*, *Podocarpus*, *Symplocos* y *Weinmannia*. Las palmeras son escasas y están representadas por individuos de los géneros *Ceroxylon* y *Geonoma*. En algunos sectores del bosque se encuentran los llamados “inciensales” con *Clusia* cf. *lechleri*. En laderas algo secas con vegetación pionera se tienen manchas de bosque semideciduo con *Alnus acuminata* (aliso) (Kessler y Beck, 2001).

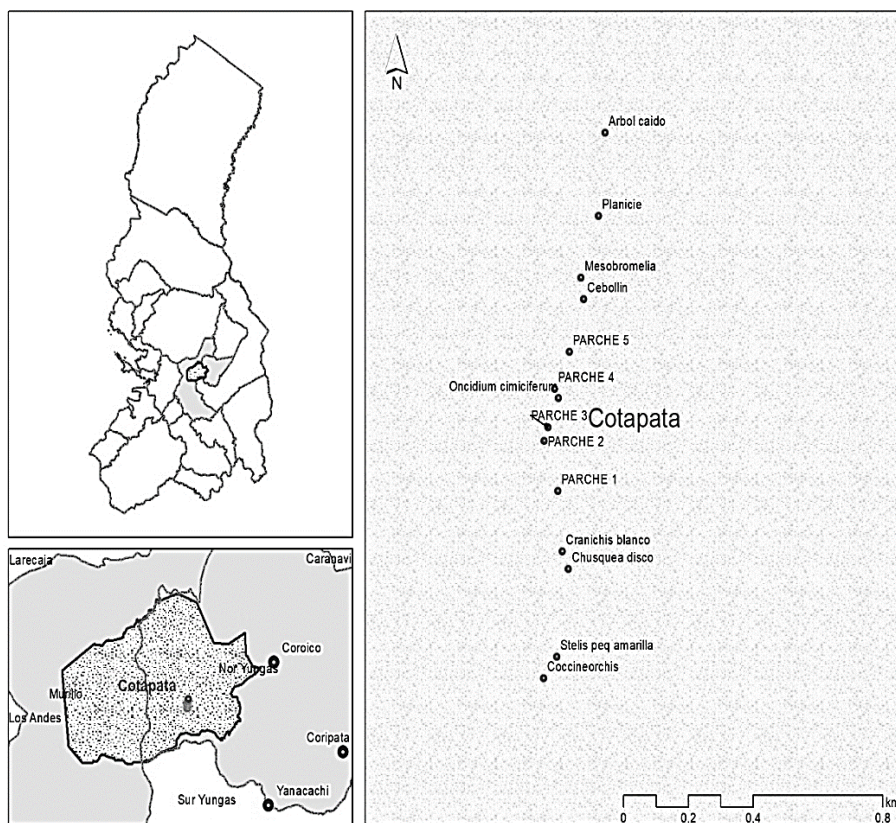


Figura 1. Localización del área de estudio, con demarcación de las subpoblaciones distribuidas en cinco parches en un trayecto del camino precolombino Chojllapata del PN-ANMI, Cotapata (Fuente: Mendoza, 2010).

A lo largo del camino precolombino Chojllapata, entre rangos altitudinales desde 2 914 a 2 878 m, se registró cinco parches de *M. solomonii*, se entenderá como parche, a una subpoblación, donde los individuos se encuentran agrupados y presentan una distribución restringida marcada a lo largo de un gradiente altitudinal. En el primer parche (Figura 2) se registró 47 individuos, a diferencia de los demás

que se observó menor cantidad de individuos de 26, 7, 6 y 10 en segundo, tercer, cuarto y quinto parche. Además, en el primer parche se observó que *M. solomonii* compartía el hábitat con otras especies de orquídeas del mismo género, como *M. scandens* y *M. yungasensis*, y otras especies *Epidendrum* y *Pleurothallis*.



Figura 2. Especies de *Masdevallia* presentes en el parche 1. a, *M. solomonii*. b, *M. yungasensis*. c, *M. scandens*.

Seguimiento fenológico

Entre diciembre de 2008 y noviembre de 2009 se realizaron salidas mensuales por el camino precolombino Chojllapata. A lo largo de dicho camino se marcaron y georeferenciaron cinco parches con individuos de *M. solomonii* y se codificaron a todos los individuos fértiles de la especie en estudio. El seguimiento fenológico se realizó en base a fenofases reproductivas de individuos fértiles (con botones florales, flores y frutos) y estériles (que se encontraban en estado vegetativo). También se identificaron y se describieron fenofases del desarrollo y maduración de los frutos tal como sugieren Moya et al. (2007).

Colecta de frutos y siembra en condiciones controladas

Se colectaron cinco frutos de *M. solomonii* de diferentes plantas y fueron guardados en sobres de papel aluminio y llevados a la Unidad de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Mayor de

San Andrés. Los frutos fueron secados bajo temperatura ambiente en sombra, hasta que liberen las semillas de manera natural, en un tiempo que duró entre 20 a 30 días. Estas semillas permanecieron almacenadas durante dos meses a 4 °C y posteriormente, se realizó una mezcla de las semillas para obtener una muestra homogénea y representativa de la especie. Posteriormente, las semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.5 % durante 10 minutos con una gota de detergente líquido. Dentro la cámara de flujo laminar las semillas fueron vertidas en el aparato de filtración, donde se enjuagó con agua destilada estéril, seguidamente se colocaron en otro frasco en agua destilada estéril con la finalidad de obtener una solución con semillas. Con una jeringa se colocó 4 ml (la solución con semillas) en cada tubo de ensayo que contenía el medio de cultivo Knudson (1946) y se procedió al sellado del tubo de ensayo (Figura 3), primero con papel aluminio y después con plastifil. Finalmente, los tubos fueron llevados a la cámara de crecimiento, considerando a cada tubo como la unidad experimental.

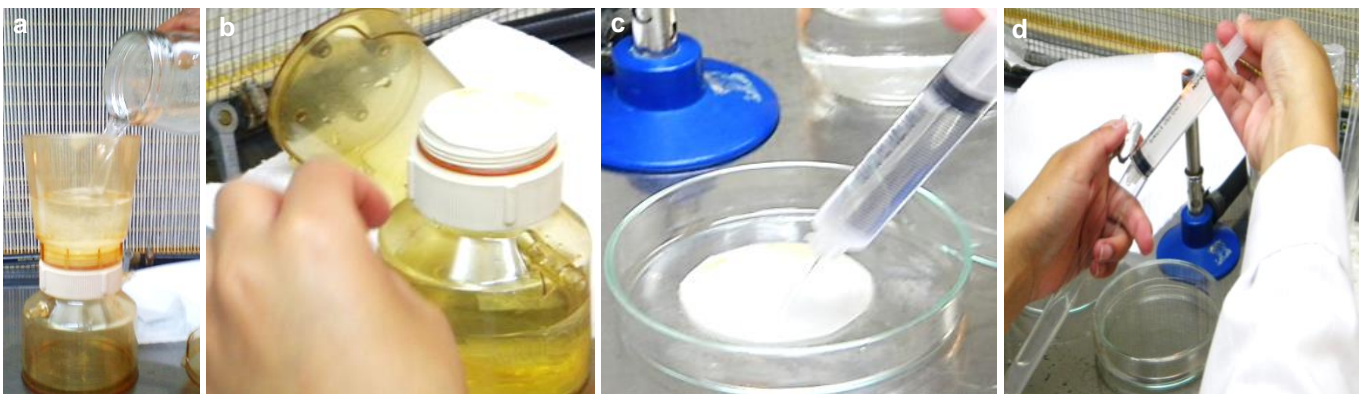


Figura 3. Procedimiento de siembra de semillas. a, desinfección y enjuague de semillas de *M. solomonii*. b, filtrado de semillas en papel filtro. c, elaboración de una suspensión de agua con semillas. d, siembra en medios de cultivo.

Diseño experimental

Para el porcentaje de individuos en cada fenofases vegetativa y reproductivas en *M. solomonii* fue evaluado en función al número de registro en cada fenofase en relación al total de individuos registrados. Mientras que, las semillas que fueron sometidas a dos tratamientos de intensidad durante la germinación en la cámara de crecimiento que consistieron en: a) $1.965 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (baja intensidad = T1) y b) $12 \text{ a } 7.992 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (alta intensidad = T2) para el análisis se empleó el T-Student (Calzada, 1970).

Variables de respuesta

Descripción de las fenofases reproductiva: entre diciembre de 2008 a noviembre de 2009 se realizó el seguimiento fenológico de manera mensual, donde se registró el número de individuos en estado vegetativo (estériles) en estado reproductivo (botones florales, flores y frutos).

Porcentaje de frutos formados: se cuantificó el número frutos que lograron madurar a las cuales se consideró procedentes de polinización natural.

Tamaño y diámetro del fruto: con un vernier se tomó medidas del diámetro y longitud de los frutos maduros al cabo de ocho meses.

Porcentaje de germinación: se evaluó a las 18 semanas el total de semillas germinadas, y para ello se consideró, las semillas que pasaron las fases:

Fase 3, el embrión da lugar a una estructura protocormal la cual va adquiriendo diferentes formas la misma que presenta hinchamientos a manera de brotes apicales en todo el contorno de su superficie, en orquídeas es considerado que la semilla ha germinado; Fase 4, se caracteriza por la aparición de un brote meristemático, el cual se torna de color verde intenso, mientras que el protocormo se torna blanco; Fase 5, el surgimiento de hojas y en el extremo opuesto al brote meristemático se da el inicio de la emergencia de rizoides.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Seguimiento fenológico

El seguimiento fenológico se realizó en el parche 1, donde se registró mayor cantidad de individuos de *M. solomonii*. El pico de floración se registró en enero y la proporción de individuos en flor fue disminuyendo gradualmente hasta decaer por completo entre mayo y septiembre. La producción de frutos aumentó a medida que disminuyó la floración y mostró su mayor pico en mayo. Los botones florales empezaron a aparecer en septiembre y el mayor pico se registró en noviembre. De la misma manera, se evidenció que desde mayo a octubre presentaron más del 40 % de la población en estado vegetativo (estéril), estos resultados concuerdan con el descenso de las fases reproductivas (botones florales, flores y frutos). Registrándose una mayor proporción de individuos estériles en octubre (Figura 4).

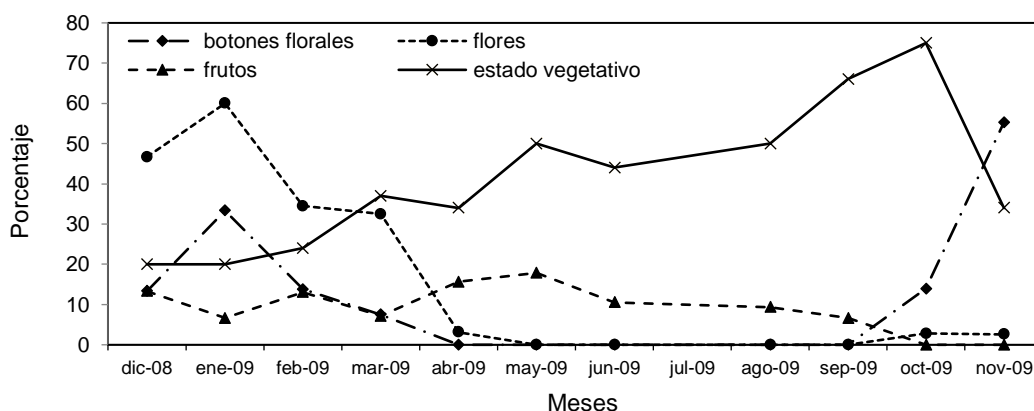


Figura 4. Patrones fenológicos en *M. solomonii* de diciembre del 2008 a noviembre del 2009.

Generalmente la presencia de botones florales y flores en orquídeas se presenta en época lluviosa. En base a registros de datos climáticos del centro meteorológico "Chuspipata" que encuentra cercano al área de estudio, geográficamente localizado a $16^{\circ} 18' 01''$ Latitud S $67^{\circ} 48' 50''$ Longitud O a 3 000 m

(Molina-Carpio, 2019). Contrastando, datos climatológicos con los patrones fenológicos, el mayor pico de floración de *M. solomonii* se presentó en enero, con mayor precipitación (650 mm) y con una temperatura que está por encima de 12°C . Al respecto, Robbirt et al. (2012) indica que un incremento

de 1 °C, en 12 de 15 especies de orquídeas favorece en la floración. En concordancia, a esta afirmación se observa en los registros de datos de climáticos de trabajo de Molina-Carpio (2019), desde noviembre a febrero la temperatura tiende a hacer mayor a 12 °C, y es en estos meses cuando se presentaron los botones florales y flores en *M. solomonii*. También, los resultados son corroborados por Rathcke y Lacey (1985) citados por Robbirt et al. (2012) quienes indican que los tres factores ambientales principales influyen en la floración son temperatura, fotoperíodo y precipitación.

La fructificación en *M. solomonii* se presentó con el descenso de la precipitación en los meses de mayo, junio, julio y agosto, de 171, 121, 89 y 144 mm respectivamente. Así mismo, se evidencia que la temperatura desciende por debajo de los 11 °C (Molina-Carpio, 2019).

Además, es importante mencionar que el área de estudio, en el sotobosque donde se encontró los individuos de *M. solomonii*, hay especies arbóreas del género *Clusia*, cuyos forófitos están cubiertos de musgos, es donde están establecidos la especie en estudio y con poca frecuencia ingresa claros de luz, razón por la cual el ambiente casi siempre está húmedo. El hecho, que reduzca la precipitación en la época de maduración del fruto es propicio, de lo contrario podría generar la pudrición y no concluir la formación de semillas. Al respecto, Molina-Carpio (2019) señala que la evapotranspiración potencial es igual evapotranspiración real, lo que corresponde a un clima hiperhúmedo, ninguna deficiencia de agua y el suelo está saturado a lo largo del año.

Los patrones fenológicos en *M. solomonii* coinciden en otras especies de orquídeas, en un estudio realizado por Ordoñez y Rarrado (2017) con *Cyrtorchilum revolutum*, *Malaxis excavata*, *Ponthieva diptera* y *Stelis pulchella* determinan que el incremento de las lluvias se asoció con una mayor floración, las cuales se encuentran en un bosque altoandino de Colombia. Al igual que Lokho y Yogendra (2012) en *Dendrobium* indican que el pico de floración comienza durante la primavera y a principios de verano, que coinciden con los meses de mayor precipitación (marzo a julio). Similares patrones estacionales se presentaron en *Masdevallia coccinea* con un pico de floración entre junio y julio (mayor precipitación) y no así presenta un efecto directo de la fructificación con la precipitación (Matallana-Puerto et al., 2022).

No obstante, en otra especie de *Masdevallia ignea* Rchb no reporta una relación directa de la precipitación con el mayor pico de floración dentro del Jardín botánico José Celestino Mutis, esto probablemente se deba que esta área fue adecuada para la exhibición de flora nativa resguardada y no está en su hábitat natural. Al igual que, en *Ansellia africana* aprovecha las lluvias para potenciar su crecimiento vegetativo y posteriormente florece en septiembre cuando las temperaturas son altas y las precipitaciones escasas, con el correspondiente aumento de la humedad relativa (Essomo et al., 2016).

Además, la fenología depende del tipo de hábitat que proporciona el entorno, es así que en un bosque caducifolio (se encuentra a 35° 32' 34.92" S y 71° 11' 11.16" O, en orquídeas *Gavilea venosa*, *G. odoratissima* y *Codonorchis lessonii* de hábito terrestre. La floración coincide con la estación cálida de primavera y termina posterior a la sequía de las hojas en verano (Bravo et al., 2012).

Número de flores por planta

Durante los siete meses que se presentó la floración en *M. solomonii* (Figura 5) en la mayoría de los casos, por individuo llegaron a formar una flor y pocos tenían más de dos flores y a través de observaciones en campo se constató las plantas que tenían tres flores no tenían polinios viables, de los cuales se evidenció las flores no llegaron a formar frutos.

En la Figura 5 se observa que mayor número de flores por individuo se presentó en enero, coincidentemente fue de mayor precipitación. Inouye (2002) señala que una vez que se inicia la floración, la cantidad de precipitación durante la temporada de crecimiento puede afectar el número de flores y la duración de la floración de cualquier especie. Al respecto, en *Masdevallia coccinea*, la precipitación se relacionó de manera positiva con el número de flores (Matallana-Puerto et al., 2022). En *M. solomonii* se evidencia el número de flores es muy reducida en relación a *M. ignea*, donde se registraron 12.32 flores por planta (Chavarro et al., 2005). Lo cual da indicios que *M. solomonii* es una especie de mucha preocupación, debido a que tiene un 13 % de producción de frutos, con reducido número de individuos en los cinco parches en el camino precolombino Chojllapata del PN-ANMI Cotapata. También mencionar que un proyecto de fenología en *Masdevallia* en Cotapata, los investigadores reportaron otro parche de *Masdevallia* en el camino precolombino Sillutinkara (Moya et al.,

2007). Sin embargo, en el año 2010 se presentó torrenciales lluvias y se deslizó el sendero del camino, este camino es ampliamente usado con fines de

transitabilidad de turistas, y se observó alteraciones en el entorno natural, y no se logró observar la misma cantidad de individuos de *Masdevallia*.

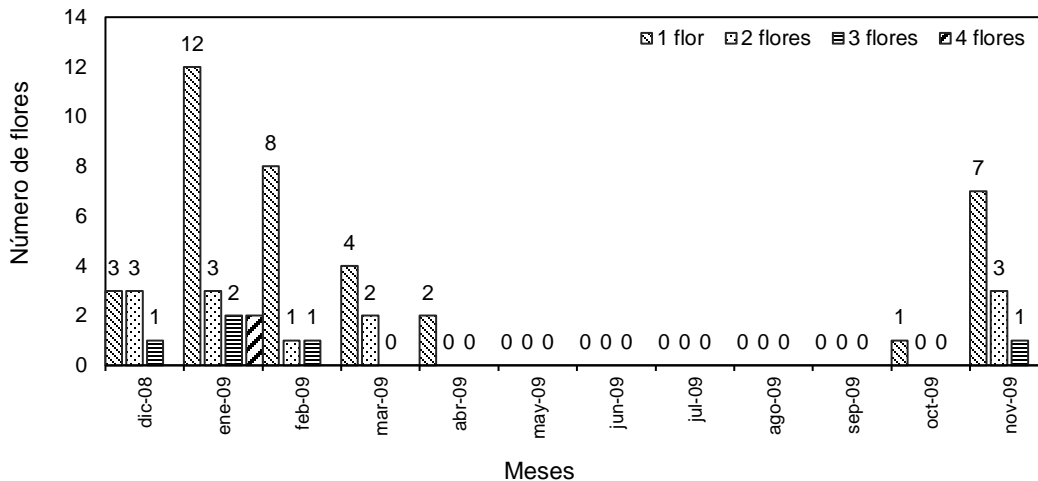


Figura 5. Promedio de flores por individuo al largo del año.

Descripción del desarrollo de los frutos

Durante el desarrollo y formación de los frutos de *M. solomonii* se llegó a distinguir las siguientes fases (Figura 6), el tiempo que toma en desarrollar y madurar los frutos fue de ocho meses.

- a) Fase 1: se inicia cuando el ovario va aumentando de volumen y longitud como resultado de fecundación exitosa y otra de las particularidades es que aún la flor permanece abierta, de color característico de la especie y las caudas (sépalos modificados) presentan un ángulo de separación mayor a 90°.
- b) Fase 2: el ovario va aumentando en grosor principalmente en la parte superior del fruto y así mismo, se evidencia los sépalos de la flor se van cerrando poco a poco; pero, aún se mantiene gran parte del resto floral y este va perdiendo color su característico.
- c) Fase 3: durante este momento los sépalos y las caudas inferiores llegan a unirse mientras, la tercera cauda (superior) tiende a caerse y el resto floral presenta una consistencia gelatinosa con pérdida total de su coloración.
- d) Fase 4: la cápsula se encuentra en un máximo desarrollo tanto en longitud y diámetro, presentando un 25 % de resto floral descolorido algo transparente y casi seco; durante esta fase el fruto tiende a aumentar en grosor, sobre todo en la parte terminal del fruto en relación a la base.
- e) Fase 5: la cápsula se encuentra inmadura con poco resto floral seco y el fruto presenta una coloración de verde oscuro intenso y empieza a aumentar tanto en grosor como en longitud.
- f) Fase 6: en la parte superior del fruto se distingue un tejido abultado verde oscuro de manera prominente, sin resto floral y fruto tiene una coloración verde oscura y de consistencia dura.
- g) Fase 7: la cápsula se encuentra en proceso de maduración donde se evidencia que las tres suturas longitudinales se vuelven cada vez más prominentes y el fruto tiende a tener una coloración de verde claro.
- h) Fase 8: el fruto ya se encuentra maduro debido a que de manera natural las dos suturas de la parte inferior comienzan a abrirse y liberar las semillas.



Figura 6. Fases de desarrollo de los frutos de *M. solomonii*.

El tiempo que toma en madurar los frutos *M. solomonii*, desde los indicios de su formación fue ocho meses (224 días). No obstante, en otra especie de *Masdevallia caudata* requiere 151 días para la formación de frutos hasta la liberación de las semillas (Ordoñez, 2013). En *Masdevallia coccinea* el tiempo de maduración de frutos es de seis meses (180 días) (Matallana-Puerto et al., 2022).

Porcentaje de frutos formados

De la población estudiada se contabilizó un total de 45 flores de las cuales, en 12 flores el ovario empezó a aumentar de volumen, con lo cual demuestra que hay indicios de fecundación, sin embargo, al cabo de ocho meses, tres de estos frutos alcanzaron a madurar, que representa un 13 %. En observaciones de campo, los frutos que no llegaron a formar comenzaron a podrirse, esto probablemente se deba a que el ambiente donde están los individuos corresponde a un bosque montano nublado (Kessler y Beck, 2001). *M. solomonii* que alcanzó un 13 % de producción de frutos, lo cual está por debajo del

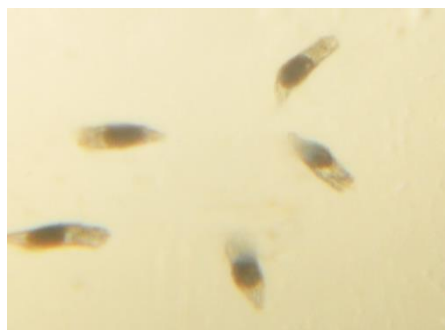
parámetro esperado de un 20 %. En un trabajo realizado por Ordoñez (2013) reporta un 26.31 % de producción de frutos por geitonogamia y xenogamia en *Masdevallia caudata*.

Diámetro y longitud de los frutos

A las ocho semanas de evaluación el diámetro y longitud de los frutos de *M. solomonii* alcanzaron 7.35 ± 0.65 mm y 19.8 ± 3.8 mm. Los frutos de las diferentes especies de orquídeas silvestres muestran cierta variabilidad en la forma, el tamaño y la disposición. Respecto al tamaño, esta difiere en cuanto a la especie, género de una misma taxa (Benito, 2017).

Descripción morfológica de las semillas durante el proceso de germinación *in vitro* de *M. solomonii*

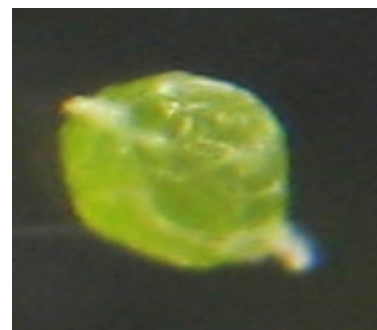
Las semillas de *M. solomonii* durante la germinación y desarrollo de las plántulas pasaron por las siguientes fases (Figura 7):



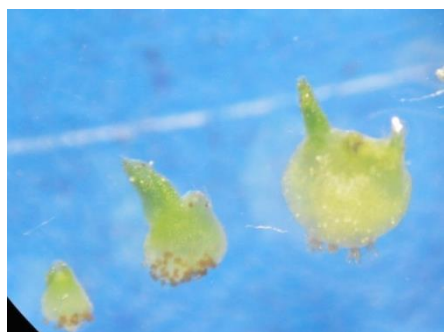
Fase 0: un embrión globular rudimentario de color verde claro que se encuentra en el centro y está rodeado por una testa delgada cuyos extremos van afinándose en forma de huso.



Fase 1: la semilla comienza a absorber agua y nutrientes del medio (imbibición) y empieza a aumentar en tamaño.



Fase 2: el embrión presiona internamente la membrana que lo rodea hasta romper la testa y con ello se libera al embrión.



Fase 3: el embrión da lugar a una estructura protocormal que va adquiriendo la forma de una pera y presenta hinchamientos a manera de brotes apicales. Durante este estadio se considera que las semillas de *M. solomonii* han logrado germinar.



Fase 4: empieza con el surgimiento de hojas y en el extremo opuesto al brote meristemático empiezan a aumentar en tamaño los rizoides



Fase 5: empieza a diferenciarse cuando una de las hojas empieza a desarrollarse más que la segunda hoja y las raicillas van tornándose de color café.

Figura 7. Esquema de las fases morfológicas de las semillas de *M. solomonii* durante el proceso de germinación. Fase 0: semillas sin germinar. Fase 1: imbibición de agua por la semilla. Fase 2: aumento de volumen y presión interna del embrión a la testa. Fase 3: desarrollo del protocormo o semilla germinada. Fase 4: aparición del brote meristemático apical y emergencia de rizoides. Fase 5: surgimiento de las hojas diferenciadas y desarrollo del plantín.

Germinación

En la Figura 8 a las 18 semanas de siembra la mayoría de semillas permanecieron en fase 0 en las dos intensidades lumínicas, no obstante, a una baja intensidad lumínica ($1.965 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) las semillas presentaron mayor porcentaje en fases de 3, 4 y 5 con

2.69, 11.58 y 8.11 % respectivamente, y bajo estas condiciones las semillas germinaron en un 22.39 %. Mientras que a una alta intensidad ($7.992 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) germinaron un 8.16 %. Además, mencionar que la prueba T de Student mostró diferencias significativas en ambos tratamientos.

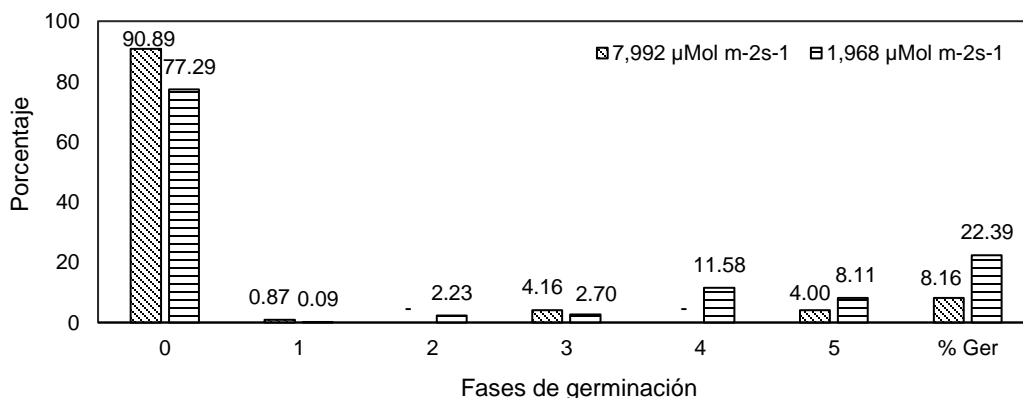


Figura 8. Fases de desarrollo de *M. solomonii* a diferentes intensidades lumínicas ($7.992 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $1.965 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) después de 18 semanas de la siembra.

De hecho, la calidad o composición espectral de la luz ejerce diferentes efectos sobre los procesos fisiológicos en los que interviene, especialmente en la germinación. También afecta la morfogénesis y la organogénesis. Estos efectos no son producidos en igual medida por todos los tipos de luz (radiaciones de cualquier longitud de onda), ya que algunas radiaciones concretas tienen un efecto notable, mientras que otras tienen poco o ningún efecto (Mohr, 1995). En *M. solomonii* según los resultados obtenidos se puede corroborar que la intensidad lumínica juega un papel importante durante la germinación, al igual pasa en fases más avanzadas y llegan a formar vitroplantas. Este efecto posiblemente responde a que en la naturaleza las plantas de *M. solomonii* viven en las copas de los árboles o en dosel del bosque y está rodeado por la vegetación y esto influye en que la luz no llegue de manera directa. En un estudio realizado en *Masdevallia auropurpurea* Reich (Pedraza, 2011) en condiciones de oscuridad, los protocormos se desarrollaron con un mayor tamaño y diámetro que con iluminación.

Al respecto, algunos autores mencionan que las semillas de orquídeas tienen preferencia de germinación en la luz y otras en la oscuridad, entre estas podemos mencionar a *Cypripedium*, que germinan bien en la oscuridad y las plántulas jóvenes sobreviven mejor si se mantienen hasta 90 días en la oscuridad (Yamada, 1963 citado en Arditii, 1963), mientras que *Cattleya* no gemina en la oscuridad (Burgeff, 1909 citado en Arditii, 1963).

Comparando con otras especies del mismo género, *M. solomonii* tiene un bajo porcentaje de germinación, ya que en *M. chaparensis* y *M. exquisita*, reportaron un 42 y 53 % de germinación respectivamente (Villegas, 2003; Sánchez, 2007) y en *M. caudata* un 50 % de germinación (Ordoñez, 2013). Esta diferencia probablemente se deba a que los frutos colectados de su población natural pasaron dos meses en ambiente en el laboratorio previo a la siembra y posiblemente su viabilidad haya afectado en la germinación.

CONCLUSIONES

Los botones florales empezaron a aparecer en septiembre, y el mayor pico se registró en noviembre el pico de fructificación se presentó en mayo, estos están directamente relacionadas con la precipitación.

de mayo a octubre se presentaron más del 40 % de la población en estado vegetativo (estéril). La producción de frutos fue un 13 % con un diámetro y longitud promedio 7.35 ± 0.65 mm y 19.8 ± 3.8 mm respectivamente y requiere ocho meses en madurar. A una baja intensidad lumínica ($1.965 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) presentó mayor porcentaje de germinación (22.39 %), que con una alta intensidad ($7.992 \mu\text{Mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de 8.16 %.

Los resultados demuestran que, *M. solomonii* es una especie muy vulnerable por el escaso número de individuos y está restringida a factores intrínsecos (producción de frutos y germinación) y extrínsecos (condiciones ambientales y antropogénicos) y en base a esta información es referencial para la realización de programas de aprovechamiento.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración del proyecto "Caracterización y cultivo de hongos micorrízicos asociados a orquídeas epifitas del género *Masdevallia* del Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata (PN- ANMI Cotapata), destinados a la optimización de su producción ornamental para su manejo sostenible, mediante el uso de herramientas biotecnológicas", financiado por Recursos IDH de la Universidad Mayor de San Andrés. Al igual, a las becas de tesis que otorga el Instituto de Ecología de la Universidad Mayor de San Andrés.

BIBLIOGRAFÍA

- Abele, AD. 2007. Species of *Masdevallia* are distributed from southern Mexico to southern Brazil with the main center. *Doctorado*. im *Department* Biologie der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Universität Hamburg, Caracas.
- Arditti, J. 1963. Factors Affecting the Germination of Orchid Seeds (en línea). *Botanical Review* 33(1). Consultado 16 feb. 2021. Disponible en <http://www.jstor.org/stable/4353735>
- Bayman, P; González, E; Fumero, J; Tremblay, R. 2002. Are funginecessary? How fungicides affect growth and survival of the orchid *Lepanthes rupestris* in the field (en línea). *Journal of Ecology*, 90:1002-1008. Consultado 18 jul. 2021. Disponible en <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-2745.2002.00733.x>
- Bravo, P; San Martín, J; Baeza, G. 2012. Distribución, abundancia y fenología de orquídeas en un bosque caducifolio endémico de Chile central. *Revista Polibotánica*. N° 33, 117-129. ISSN 1405-2768; México.

- Benito, J. 2017. Los frutos y las semillas de las orquídeas (en línea). Consultado 22 mar. 2021. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320508516_Los_frutos_y_las_semillas_de_las_orquideas
- Calzada, B. 1970. Métodos estadísticos para la investigación. Ed. Jurídico. Perú. 640.
- Chavarró, N.; Argenis, M.; Cure, J.; Pacheco, R. 2005. Aspectos reproductivos de la orquídea *Masdevallia ignea* Rchb.f en condiciones de cultivo en el Jardín Botánico de Bogotá "José Celestino Mutis" (en línea). Revista Perez Arbelaezia. 16:59-70. Consultado 28 mar. 2021. Disponible en: <https://perezarbelaezia.jbb.gov.co/index.php/pa/article/view/111>
- Devesa, J. 1997. *Plantas con semilla*. Madrid: McGraw-Hill.
- Dutra D.; Kane, M. & M. Richardson. 2009. Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Cyrtopodium punctatum*: a propagation protocol for an endangered Florida native orchid. Pal Cell Tiss Organ Cult 96: 235-243.
- Kessler, M; Beck, SG. 2001: Bolivia. En: M. Kappelle & A. Braun (eds.): Bosques nublados del neotrópico. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Santo Domingo de Heredia, Costa Rica. 581-622.
- Knudson, C. 1946. A new solution for germination of orchid seed. Bul. Am. Orchid Soc. 15, 214.
- Essomo, SE; Fonge, BA; Bechem, EE; Arrey, DB. 2016. Flowering Phenology and Reproductive Success of the Orchids of Mt Cameroon in Relation to a Changing Environment (en línea). Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 2016, 3(10): 21-35. Consultado 12 abr. 2021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcrbp.2016.310.004>
- Inouye, DW. 2002. Environmental influences on the phenology and abundance of flowering by *Androsace septem trionalis* (Primulaceae). Am. J. Bot. 90(6):905-910.
- Lokho, A; Yogendra, K. 2012. Reproductive Phenology and Morphological Analysis of Indian Dendrobium Sw. (Orchidaceae) from the Northeast Region (en línea). International Journal of Scientific and Research Publications, 2(9). Consultado 11 feb. 2022. Disponible en <https://www.ijsrp.org/research-paper-0912.php?rp=P09188>
- Lokho, A; Kumar, Y. 2012. Reproductive Phenology and Morphological Analysis of Indian Dendrobium Sw. (Orchidaceae) from the Northeast Region. International Journal of Scientific and Research Publications, 2(9): 23-58. Consultado 12 feb. 2022. Disponible en <https://www.ijsrp.org/research-paper-0912.php?rp=P09188>
- Matallana-Puerto, C; Rosero-Lasprilla, L; Ordoñez-Blanco, JC; Soares, V; Fernandes, JG. 2022. Rarity up in the mountain: Ecological niche modeling, phenology, and reproductive biology of the most commercialized *Masdevallia* species. Journal for Nature Conservation 65. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2021.126120>
- Mendoza, B. 2010. Centro de Postgrado en Ecología y Conservación. Maestría en Ecología y Conservación.
- Michelangeli, C. 2010. Sexual micropropagation of the critically endangered Christmas orchid *Masdevallia tovarensis*, Aragua, Venezuela. *Conservation evidence*, 87-90.
- Molina-Carpio, J; Espinoza, D; Coritza, E; Salcedo, F; Farfán, C; Mamani, L; Mendoza, J. 2019. Clima y variabilidad espacial de la ceja de monte y andino húmedo. *Ecología en Bolivia* 54(1): 40-56. ISBN 2075-5023.
- Mohr, H. 1995. Plant physiology, Berlin, Springer-Verlag DM 98 (hardback) (en línea). *Annals of Botany*, 78(4): 528. Consultado 11 mar. 2022. Disponible en <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0156>
- Morales, I. 2011. Manual para el cultivo *in vitro* de la orquídea *Catleya nobilior* Flor símbolo de Concepción (en línea). Santa Cruz, Bolivia. Consultado 17 oct. 2021. Disponible en <https://www.festivaldelaorquidea.com/docs/ManualOrquideas2011.pdf>
- Moya, I; López, MC; Villegas, G; Mamani, B; Bermejo, J; Quezada, J; Aguilar, M; Jiménez, I; Miranda, F. 2007. Fenología y polinización de *Masdevallia solomonii* y *M. yungasensis* orquídeas amenazadas y endémicas de los Yungas de La Paz Bolivia. Informe de proyecto del Instituto de Biología Molecular y Biotecnología. 30.
- Neiland, M; Wilcock, C. 1998. Fruit set, Nectar reward, and rarity in the Orchidaceae (en línea). *American Journal of Botany*, 1657-1671. Consultado 21 mar. 2022. Disponible en <https://www.jstor.org/stable/2446499>
- Ordoñez, JC; Rarrado, A. 2017. Relación fenología-clima de cuatro especies de orquídeas en un bosque altoandino de Colombia (en línea). *Lankesteriana* 17(1): 1-15. Consultado 17 jul. 2021. Disponible en <http://dx.doi.org/10.15517/lank.v17i1.27897>
- Ordoñez, JC. 2013. Avances para la conservación de *Masdevallia caudata* governments. Lindl. (Pleurothallidinae: Orchidaceae) en Bogotá D. C. y su área de influencia (en línea). *LANKESTERIANA* 13(1-2). Universidad de Costa Rica. Consultado 09 oct. 2021. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/443/44340043049.pdf>
- Parra, V; Vargas, C. 2004. Flowering synchrony and floral display size affect pollination success in a deceit-pollinated tropical orchid (en línea). *Acta ecológica* 32:26-35. Consultado 05 mar. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2007.02.002>
- Pedraza, J. 2011. Efecto del medio básico, carbón activado, ácido giberélico y calidad de luz en la germinación *in vitro* de *Masdevallia auropurpurea* Reich (en línea). *Ciencia medioambiental*. Consultado 21 oct. 2021. Disponible en <https://doi.org/10.14483/23448350.354>
- Pierik, R. 1990. Cultivo *in vitro* de plantas superiores. Capítulo 17: Germinación de semillas de orquídeas. Madrid.
- Rivas, M; Warner, J; Bermúdez, M. 1998. Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical. *Revista de Biología Tropical*. 46 (2).

- Disponible en https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77441998000200004
- Richter, W. 1969. *Orchid Care, a guide to cultivation and breeding*. The Macmillan Company New York (en línea). Consultado 06 feb. 2022. Disponible en <https://www.alibris.com/Orchid-Care-A-Guide-to-Cultivation-and-Breeding-Walter-Richter/book/4882112>
- Rodríguez, L; González, R; Díaz, A; Fajardo, A; Sánchez, E; Hernández, J; González, J. 2005. Producción y recuperación de orquídeas silvestres cubanas (en línea). Consultado 11 jul. 2021. Disponible en: <https://docplayer.es/219495731-Citese-como-rodriguez-l-et-al-produccion-y-recuperacion-de-orquideas-silvestres-cubanas.html>
- Robbirt, KM; Davy, AJ; Hutchings, MJ; Roberts, DL. 2012. Validation of biological collections as a source of phenological data for use in climate change studies: a case study with the orchid *Ophrys sphegodes*. *Journal of Ecology*, 99:235-241.
- Sánchez, A. 2007. Evaluación de tratamientos para la germinación *in vitro* de semillas de *Masdevallia exquisita* orquídea endémica y amenazada de los Yungas de Bolivia. Tesis Lic. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz.
- Singh, F. 1988. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 20.
- Vásquez, R; Ibsch, P. 2000. Orquídeas de Bolivia: Diversidad y estado de conservación. Santa Cruz: Fundación Amigos de la Naturaleza (en línea). Consultado 24 may. 2022. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/orquideas-de-bolivia-diversidad-y-estado-de-conservacion-orchids-of-bolivia-diversity-and-conservation-status/oclc/47059225>
- Villegas, G. 2003. Evaluación del comportamiento *in vitro* de semillas de *Masdevallia chaparensis* en respuesta a diferentes tratamientos germinativos. Tesis de Lic. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz.

Artículo recibido en: 13 de septiembre de 2022

Aceptado en: 14 de diciembre de 2022