

Respuesta de aclimatación a invernadero de dos especies de orquídeas germinadas *in vitro*, *Guarianthe guatemalensis* y *Epidendrum macdougalli*

Greenhouse acclimatization response of two orchid species germinated *in vitro*, *Guarianthe guatemalensis* and *Epidendrum macdougalli*

María Mercedes López-Selva¹, Juan P. Pinto² y Pedro Pineda³

Resumen

Se evaluó la respuesta de aclimatación de dos especies de orquídeas (*Guarianthe guatemalensis* y *Epidendrum macdougalli*) en condiciones de invernadero, utilizando los factores: sustratos, sombras y fertilización; con el objetivo de conocer su influencia sobre el desarrollo de plantas provenientes del cultivo *in vitro*.

Las plantas germinaron *in vitro* y posteriormente fueron trasplantadas a condiciones de invernadero en dieciséis tratamientos que combinaron dos tipos de sustrato, dos grados de sombra y dos fertilizantes. Durante diez meses, comprendidos entre diciembre del 2014 y octubre del 2015, se registraron mediciones de cinco variables de desarrollo en las plantas: sobrevivencia, altura, número de hojas, número de raíces y número de *keikis* o hijos.

Los resultados muestran que la especie *E. macdougalli* se desarrolla mejor —en términos de altura, raíces y *keikis*— en un sustrato compuesto por 50 % de corteza de pino y 50 % de piedra pómez, con tratamientos semanales de fertilización con NPK 11.8.6 y en condiciones de sombra del 50 %. La respuesta de *G. guatemalensis* a los tratamientos utilizados no fue concluyente en cuanto a su desarrollo en términos de altura y raíces, aunque sí existió una respuesta de generación de *keikis* estadísticamente significativa al tratamiento, que consistió en sustrato compuesto por 50 % de corteza de pino y 50 % de piedra pómez, y la aplicación de tratamientos semanales de fertilización con NPK 11.8.6 y condiciones de sombra del 90 %.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, biotecnología, orquídeas, *Guarianthe guatemalensis*, *Epidendrum macdougalli*

Abstract

The acclimatization response of two species of orchids (*Guarianthe guatemalensis* and *Epidendrum macdougalli*) was evaluated under greenhouse conditions, by means of three different factors, namely: substrates, shades and fertilization. This, in order to get insight into its influence on the development of plants from *in vitro* culture.

The plants of both species germinated *in vitro*, and then transplanted to greenhouse conditions in 16 treatments that combined two types of substrates, two degrees of shade, and two fertilizers. During 10 months, between December 2014 and October 2015, measurements of five variables of plant development were recorded: survival, height, number of leaves, number of roots, and number of *keikis* or offspring.

The results of this investigation show that the species *Epidendrum macdougalli* develops better —in terms of height, roots and *keikis*—, in a substrate composed by 50 % of pine bark and 50 % of pumice, with weekly fertilization treatments using NPK 11.8.6 and under 50 % of shade conditions. The response of *Guarianthe guatemalensis* to the treatments applied in this experiment was not conclusive regarding its development in terms of height and roots, although there was a statistically significant response to the generation of *keikis* to the treatment, which consisted of a substrate composed by 50 % of pine bark and 50 % of pumice, and the application of weekly fertilization treatments with NPK 11.8.6 and shaded conditions of 90 %.

Keywords: *in vitro* culture, biotechnology, orchids, *Guarianthe guatemalensis*, *Epidendrum macdougalli*

¹ María Mercedes López-Selva Quintana de Gálvez, investigadora del Instituto de Investigación en Ciencias Naturales y Tecnología (Iarna) de la Universidad Rafael Landívar (URL).

² Juan Pablo Pinto Meneses, investigador ambiental independiente.

³ Pedro Arnulfo Pineda Cotzajay, investigador del Iarna-URL.

La familia de las orquídeas es de especial interés dentro del ámbito de la conservación biológica mundial debido a que es una de las más diversas y, al mismo tiempo, es la que cuenta con más especies amenazadas de extinción. Este grupo de plantas mantiene un alto grado de dependencia con respecto a otros organismos de su entorno con los que interactúa para completar procesos de alimentación y reproducción. Sin embargo, esta interdependencia con otras especies se traduce en desventaja debido a la acelerada degradación y desaparición de ecosistemas naturales enteros, producto de las actividades humanas y su impacto negativo sobre el ambiente natural (Swartz y Dixon, 2009).

En Guatemala, la familia *Orchidaceae* comprende al menos un millar de especies (Archila, 2017) y todas ellas están bajo una fuerte presión como resultado de la alta tasa anual bruta de deforestación del país, estimada en -3.35 % (Instituto Nacional de Bosques, 2019), y su consecuente impacto en la desaparición de los ecosistemas naturales. Ante esta realidad, el Instituto de Investigación en Ciencias Naturales y Tecnología (Iarna) reconoció la necesidad de hacer un esfuerzo dirigido a generar nuevo conocimiento sobre la propagación asistida de las especies, utilizando técnicas *in vitro* para promover su cultivo y de esta manera contribuir a preservar la diversidad. Este esfuerzo se combina con otros componentes que forman parte de la misma línea de investigación y que están dirigidos a incrementar y divulgar el conocimiento sobre la importancia de las orquídeas, a formar profesionales de diferentes áreas de conocimiento mediante su participación en investigación y a experimentar con la reintroducción de especies en fragmentos protegidos de los ecosistemas de distribución natural de las mismas.

Dentro de la reproducción asistida, el cultivo *in vitro* es ampliamente utilizado en la industria para producir orquídeas de alto valor comercial a gran escala (Kleyn, 1996). Existe información sobre técnicas y procedimientos para cultivar orquídeas de géneros asiáticos de flores muy grandes, como *Phalaenopsis* u orquídea palomilla (novecientas a mil cuatrocientas especies); el género *Vanda* (treinta y cinco especies), de Himalaya y Malasia; y el género *Dendrobium* (cincuenta especies), proveniente de Asia, Australia y Nueva Zelanda (Royal Horticultural Society, 1995). Sin embargo, existe poca información sobre las técnicas de reproducción de especies que se distribuyen localmente, por lo que es importante desarrollar y difundir aquellas técnicas que brinden los mejores resultados en el cultivo.

Las plantas que surgen del cultivo *in vitro* deben pasar por un período de aclimatación o endurecimiento que, en el caso de las orquídeas, es largo y requiere de

cuidados específicos. Este proceso sucede cuando la planta tiene todas las estructuras desarrolladas y consiste en trasplantarla del cultivo *in vitro* a un medio con sustrato seco en condiciones de invernadero, para empezar a promover los cambios fisiológicos necesarios para su vida al aire libre (Kleyn, 1996).

Esta investigación surge de la necesidad de determinar la diferencia que tienen distintos tratamientos de aclimatación en el desarrollo de dos especies de orquídeas: *Guarianthe guatemalensis* y *Epidendrum macdougalli*.

Guarianthe guatemalensis es un híbrido natural entre *G. aurantiaca* y *G. skinneri* que se caracteriza por tener flores de una amplia gama de colores que van desde amarillo hasta rojo, incluyendo salmón, rosado y morado. Antes de reconocerse como un híbrido, se clasificó como la especie *G. pachecoi*. Las características de la planta son similares a las de ambas especies, que se parecen entre sí, aunque sus pseudobulbos tienen bases menos angostas que las de *G. aurantiaca* (Withner, 1988). *Epidendrum macdougalli* no está descrita oficialmente para Guatemala, aunque el espécimen de donde proviene la cápsula con la cual se hizo esta investigación pertenecía a una colección privada que obtuvo la planta inicial, en el departamento de San Marcos, Guatemala. Entre las características de la especie, se incluyen sus hábitos tanto terrestres como epífitos y tener tallos erectos, sencillos y verrucosos, con pequeños lunares que resaltan a la vista. La inflorescencia puede ser racemosa o paniculada y tiene entre seis y veinticinco flores rosadas de diferentes tonalidades (Epidendra, 2019).

El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de las condiciones de aclimatación que difieren en cuanto a porcentaje de sombra, tipo y composición de sustratos, así como concentración y presentación de fertilizantes, sobre la aclimatación de ambas especies germinadas *in vitro*.

Metodología

El experimento se realizó en el invernadero de aclimatación del Iarna, ubicado en el Campus san Francisco de Borja, S. J. de la Universidad Rafael Landívar, en la zona 16, ciudad de Guatemala. Se utilizaron orquídeas germinadas *in vitro* de las especies *Epidendrum macdougalli* y *Guarianthe guatemalensis*, las cuales provinieron del laboratorio de cultivo *in vitro* del Iarna, donde estuvieron nueve meses en ese estado previo a formar parte de este experimento.

Se evaluaron tres factores sobre las dos especies, a saber:

- Factor A: niveles de sombra. Se evaluó la respuesta en sombra de 50 % y 90 %, ambas creadas con sarán (malla de polipropileno) negro.
- Factor B: fórmula de la fertilización. Se evaluó la respuesta al fertilizante 1 Bayfolán: NPK 11.8.6 (marca comercial en presentación de fertilizante foliar de Proagro), y fertilizante 2 Nutrex: NPK 20.20.20 (marca comercial en presentación de fertilizante foliar de Sapecagro).
- Factor C: tipo de sustrato. Se evaluaron dos sustratos: sustrato 1 (50 % fibra de coco más 50 % de pómez) y sustrato 2 (50 % corteza de pino más 50 % de pómez).

Los tratamientos consistieron en ocho combinaciones de los tres factores en las dos especies de orquídeas, que en total sumaron dieciséis tratamientos (ver tabla 1).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \alpha_i r_j + \beta_k + \alpha_i \beta_k + \alpha_i (r_j \beta_k) + \delta_l + \beta_k \delta_l + \alpha_i \delta_l + \alpha_i \beta_k \delta_l + \varepsilon_{ijkl}$$

en donde:

Y_{ijkl} = variable de respuesta asociada a la $ijkl$ -ésima unidad experimental;

μ = media general;

α_i = efecto del i -ésimo nivel de sombra;

$\alpha_i r_j$ = término del error de la interacción de la j -ésima repetición con el i -ésimo nivel de sombra (error A);

β_k = efecto del k -ésimo tipo de fertilización;

$\alpha_i \beta_k$ = efectos de la interacción del i -ésimo nivel de sombra con el k -ésimo tipo de fertilización;

$\alpha_i (r_j \beta_k)$ = término del error de la interacción de la j -ésima repetición con el k -ésimo tipo de fertilización anidado dentro del i -ésimo nivel de sombra (error B);

δ_l = efecto del l -ésimo sustrato;

$\beta_k \delta_l$ = efecto de la interacción del k -ésimo tipo de fertilización con el l -ésimo sustrato;

$\alpha_i \delta_l$ = efecto de la interacción del i -ésimo nivel de sombra con el l -ésimo sustrato;

$\alpha_i \beta_k \delta_l$ = efecto de la interacción triple del i -ésimo nivel de sombra con el k -ésimo tipo de fertilización y el l -ésimo sustrato; y

ε_{ijkl} = error experimental asociado a la $ijkl$ -ésima unidad experimental.

Tabla 1

Matriz de tratamientos en experimentación

Tratamiento	Especie de orquídea	Factor A: Sombra	Factor B: Fertilización	Factor C: Sustrato
1	<i>E. macdougalli</i>	50 %	fertilizante 1 (11.8.6)	sustrato 1 (coco+pómez)
2				sustrato 2 (pino+pómez)
3			fertilizante 2 (20.20.20)	sustrato 1 (coco+pómez)
4				sustrato 2 (pino+pómez)
5		90 %	fertilizante 1 (11.8.6)	sustrato 1 (coco+pómez)
6				sustrato 2 (pino+pómez)
7			fertilizante 2 (20.20.20)	sustrato 1 (coco+pómez)
8				sustrato 2 (pino+pómez)
9	<i>G. guatemalensis</i>	50 %	fertilizante 1 (11.8.6)	sustrato 1 (coco+pómez)
10				sustrato 2 (pino+pómez)
11			fertilizante 2 (20.20.20)	sustrato 1 (coco+pómez)
12				sustrato 2 (pino+pómez)
13		90 %	fertilizante 1 (11.8.6)	sustrato 1 (coco+pómez)
14				sustrato 2 (pino+pómez)
15			fertilizante 2 (20.20.20)	sustrato 1 (coco+pómez)
16				sustrato 2 (pino+pómez)

Fuente: elaboración propia

Para medir los efectos de los tratamientos, se eligieron cinco variables de desarrollo de plantas:

- (1) altura;
- (2) sobrevivencia;
- (3) número de hojas;
- (4) raíces; y
- (5) *keikis*.

Durante diez meses, comprendidos entre diciembre del 2014 a octubre del 2015, se registraron las mediciones de las cinco variables. Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza cuando así lo permitieron. La normalidad de los datos se corroboró mediante la prueba Shapiro-Wilks. En los casos en donde no se encontró normalidad, los datos se transformaron en al menos tres funciones para ajustarla y cuando los datos no fueron susceptibles de normalidad, se realizó el análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis).

Cuando se observaron diferencias significativas como resultado de las pruebas descritas, se realizaron análisis de medias múltiples con la finalidad de establecer la superioridad de tratamientos. Los datos correspondientes a la variable de altura se trataron mediante un análisis de covarianza para ajustar el error proveniente de la diferencia natural de altura de las plantas al inicio del experimento.

Resultados y discusión

Los resultados se presentan por especie y por cada variable de respuesta estudiada (altura, número de hojas, supervivencia, raíces y *keikis*).

Resultados para la especie *Epidendrum macdougalli*

Altura. Las interacciones de los factores que dieron como resultado plantas con mayor altura fueron el uso del sustrato 2 (piedra pómez y corteza de pino) y la fertilización 1: NPK 11.8.6. Esta doble interacción mostró una diferencia estadísticamente significativa, incluso al compararla con interacciones más complejas (tabla 2). La prueba de medias confirma que el crecimiento que se alcanzó en los tratamientos con esa interacción es mayor en comparación con el resto. Dichos tratamientos fueron T2 y T6 (tabla 3).

Número de hojas. Todos los valores *p* del análisis de varianza aplicado a la variable de número de hojas fueron mayores que 0.05; la única variable en donde fue menor a 0.05 o estadísticamente significativa fue el sustrato (tabla 4). Sin embargo, la prueba de medias (tabla 5) fue concluyente con respecto a la inexistencia de una diferencia significativa entre sustratos.

Tabla 2

Resultado de la prueba de análisis de covarianza (Ancova) para la variable de altura

Fuente de variación	SC	gL	CM	F	p-valor
Y_{ijkl}	3098.87	44	70.43	2.86	<0.0001
α_i : sombra	16.34	1	16.34	0.33	0.5731
$\alpha_j r_i$: sombra (repetición)	892.57	18	49.59	2.01	0.0141
β_k : fertilización	123.13	1	123.13	5.28	0.0338
$\alpha_j \beta_k$: fertilización*sombra	60.89	1	60.89	2.61	0.1235
$\alpha_i (r_i \beta_k)$: fertilización*repetición (sombra)	419.69	18	23.32	0.95	0.5258
δ_i : sustrato	0.37	1	0.37	0.02	0.9025
$\beta_k \delta_i$: fertilización*sustrato	199.57	1	199.57	8.10	0.0052
$\alpha_j \delta_i$: sombra*sustrato	0.40	1	0.40	0.02	0.8991
$\alpha_j \beta_k \delta_i$: sombra*sustrato*fertilización	9.97	1	9.97	0.40	0.5260
Altura_inicial	328.07	1	328.07	13.31	0.0004
ϵ_{ijkl} : error	2833.62	115	24.64		
total	5932.49	159			

Nota. Abreviaturas: SC: suma de cuadrados; gL: grados de libertad; CM: cuadrado medio; F: Prueba de Fisher; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 3

Prueba de medias de la variable de altura

Interacciones	Media	N	E. E.
sustrato corteza/pómez + fertilización NPK 11.8.6	12.02	40	0.82 A
sustrato coco/pómez + fertilización NPK 11.8.6	10.36	40	0.80 A B
sustrato coco/pómez + fertilización NPK 11.8.6	9.62	40	0.83 B C
sustrato corteza/pómez + fertilización NPK 20.20.20	7.77	40	0.83 C

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Abreviaturas: N: tamaño de la muestra; E. E.: error estándar. Fuente: elaboración propia.

Tabla 4

Resultado de la prueba de análisis de varianza (Andeva) para la variable de número de hojas

Fuente de variación	SC	gL	CM	F	p-valor
Y_{ijkl}	1582.10	43	36.79	1.91	0.0034
α_i : sombra	168.10	1	168.10	4.38	0.0507
$\alpha_j r_j$: sombra (repetición)	690.40	18	690.40	1.99	0.0154
β_k : fertilización	25.60	1	25.60	1.34	0.2618
$\alpha_j \beta_k$: fertilización*sombra	19.60	1	19.60	1.03	0.4767
$\alpha_j (r_j \beta_k)$: fertilización*repetición (sombra)	343.30	18	19.07	0.99	0.2665
δ_i : sustrato	24.02	1	24.02	1.25	0.0002
$\beta_k \delta_i$: fertilización*sustrato	275.62	1	275.62	14.30	0.1853
$\alpha_i \delta_i$: sombra*sustrato	34.22	1	34.22	1.78	0.1853
$\alpha_j \beta_k \delta_i$: sombra*sustrato*fertilización	1.22	1	1.22	0.06	0.8014
ϵ_{ijkl} : error	2235.90	116	19.28		
total	3818.00	159			

Nota. Abreviaturas: SC: suma de cuadrados; gL: grados de libertad; CM: cuadrado medio; F: Prueba de Fisher; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 5

Resultado de medias para la variable de número de hojas

Interacción sustrato	Media	N	E. E.
sustrato corteza/pómez	8.64	80	0.49 A
sustrato coco/pómez	7.86	80	0.49 A

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Abreviaturas: N: número de muestra; E. E.: error estándar. Fuente: elaboración propia.

Supervivencia. La supervivencia se registró a través de dos valores: 1 (viva) y 0 (muerta). Se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis para determinar si existía diferencia significativa entre tratamientos (tabla 6). La prueba de medias mostró que los tratamientos T6, T2 y T7 fueron significativamente superiores en comparación con los otros (tabla 7).

Raíces. Esta variable se registró con base en la presencia (o ausencia) de raíces nuevas y los datos se analizaron a través de una prueba Kruskal-Wallis, a partir de la cual se encontraron diferencias significativas (tabla 8). El resultado de la prueba de medias mostró que el tratamiento 2 (sustrato: pino/pómez; fertilizante NPK 11.8.6; sombra 50 %) tuvo mayor producción de raíces nuevas (tabla 9).

Keikis. Esta variable se registró como presencia (1) o ausencia (0) de nuevo keiki. Los datos se analizaron utilizando una prueba de Kruskal-Wallis, que mostró que sí hubo diferencias significativas entre tratamientos (tabla 10). Los resultados de la prueba de rangos de media mostraron que los tratamientos T6, T2 y T7 tuvieron mayor desarrollo de keikis (tabla 11).

Tabla 6

Resultado de prueba Kruskal-Wallis para la variable de supervivencia

T	Descripción	N	Media	D. E.	Mediana	H	p
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; F 20.20.20	20	0.85	0.37	1.00	14.24	0.0001
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; F 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; F 11.8.6	20	1.00	0.00	1.00		
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.75	0.44	1.00		
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; F 20.20.20	20	0.50	0.51	0.50		
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	1.00	0.00	1.00		
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.75	0.44	1.00		
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	1.00	0.00	1.00		

Nota. Abreviaturas: T: tratamiento; N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 7

Resultado de prueba de medias de tratamientos sobre la variable de supervivencia

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Rango
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	55.50 A
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	67.50 A B
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	75.50 A B
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	75.50 A B
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	83.50 A B
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	95.50 B
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	95.50 B
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	95.50 B

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia.

Tabla 8

Resultado de prueba Kruskal-Wallis para la variable de raíces

T	Descripción del tratamiento	N	Media	D. E.	Mediana	H	p
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.30	0.47	0.00	24.97	<0.0001
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.50	0.51	0.50		
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.35	0.49	0.00		
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.30	0.47	0.00		
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.85	0.37	1.00		
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.10	0.31	0.00		
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		

Nota. Abreviaturas: T: tratamiento; N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 9*Resultado de los rangos de medias de raíces por tratamiento*

Tratamiento	Descripción	Rango
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	51.50 A
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	67.50 A B
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	67.50 A B
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	71.50 A B
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	83.50 B C
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	95.50 B C
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	95.50 B C
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	111.50 C

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia.

Tabla 10*Resultado de prueba Kruskal-Wallis para la variable de keikis o hijos*

T	Descripción del tratamiento	N	Media	D. E.	Mediana	H	p
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.65	0.49	1.00	11.46	0.0121
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.90	0.31	1.00		
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.60	0.50	1.00		
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.40	0.50	0.00		
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.85	0.37	1.00		
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.65	0.49	1.00		
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.85	0.37	1.00		

Nota. Abreviaturas: N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 11*Resultado de rangos de los tratamientos con base en el desarrollo de keikis o hijos*

Tratamiento	Descripción	Rango
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	57.00 A
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	73.00 A B
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	77.00 A B
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	77.00 A B
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	77.00 A B
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	93.00 B
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	93.00 B
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	97.00 B

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia.

Resumen de resultados de los tratamientos en la especie *Epidendrum macdougalli*. Los resultados por tratamiento, resumidos en la tabla 12, muestran que los mejores efectos de desarrollo, en función de las variables altura, supervivencia, raíces y *keikis*,

se obtuvieron con el tratamiento T2 (sustrato pino/pómez; sombra a 50 % y fertilización NPK 11.8.6). El segundo mejor tratamiento fue el T6 (sustrato pino/pómez; sombra a 90 %; fertilización NPK 20.20.20).

Tabla 12

Resumen de resultados de los tratamientos utilizados para la especie *E. macdougalli*

T	Descripción	Altura	n.º de hojas	Super- vivencia	Raíces	<i>Keikis</i>
1	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	0
2	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	1	0	1	1	1
3	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0
4	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0
5	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	0
6	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	1	0	1	0	1
7	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	1	0	1
8	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0

Nota. 1: tratamientos con efecto estadísticamente significativo sobre el factor referido; 0: tratamientos sin efecto estadísticamente significativo sobre el factor referido. Fuente: elaboración propia.

Resultados para la especie *Guarianthe guatemalensis*

Altura. El resultado del análisis de covarianza para los datos de la variable de altura muestra que ninguno de los tratamientos produjo un valor «p» menor que 0.05 (tabla 13), por lo que se concluye que ninguna de las variables de los tratamientos (sombra,

sustrato, fertilizante) ni sus interacciones tuvieron un efecto significativo sobre la altura de la planta.

Número de hojas. Los resultados de la prueba de análisis de varianza de los datos sobre número de hojas confirman que ningún tratamiento tuvo un efecto sobre el número de hojas por planta (tabla 14).

Tabla 13

Prueba de Ancova para la variable de altura

Fuente de variación	SC	gL	CM	F	p-valor
Y_{ijkl}	493.94	44	11.23	1.44	0.0642
α_i : sombra	32.63	1	32.63	4.39	0.0505
$\alpha_i r_j$: sombra (repetición)	133.71	18	7.43	0.95	0.5192
β_k : fertilización	10.44	1	10.44	1.62	0.2189
$\alpha_i \beta_k$: fertilización*sombra	2.14	1	2.14	0.33	0.5715
$\alpha_i (r_j \beta_k)$: fertilización*repetición (sombra)	115.83	18	6.43	0.82	0.6681
δ_j : sustrato	0.79	1	0.79	0.10	0.7504
$\beta_k \delta_j$: fertilización*sustrato	6.52	1	6.52	0.84	0.3626
$\alpha_i \delta_j$: sombra*sustrato	0.71	1	0.71	0.09	0.7639
$\alpha_i \beta_k \delta_j$: sombra*sustrato*fertilización	1.07	1	1.07	0.14	0.7119
altura_inicial	79.51	1	79.51	10.19	0.0018
error	897.29	115	7.80		
total	1391.24	159			

Nota. Abreviaturas: SC: suma de cuadrados; gL: grados de libertad; CM: cuadrado medio; F: Prueba de Fisher; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 14

Prueba de Andeva para la variable de número de hojas

Fuente de variación	SC	gL	CM	F	p-valor
Y_{ijkl}	133.15	43	3.10	1.26	0.1658
α_i : sombra	2.50	1	2.50	0.73	0.4032
$\alpha_i r_j$: sombra (repetición)	61.40	18	3.41	1.39	0.1497
β_k : fertilización	7.23	1	7.23	2.60	0.1244
$\alpha_i \beta_k$: fertilización*sombra	4.23	1	4.23	1.52	0.2336
$\alpha_i (r_j \beta_k)$: fertilización*repetición(sombra)	50.05	18	2.78	1.13	0.3304
δ_j : sustrato	0.63	1	0.63	0.25	0.6148
$\beta_k \delta_j$: fertilización*sustrato	4.90	1	4.90	2.00	0.1604
$\alpha_i \delta_j$: sombra*sustrato	0.63	1	0.63	0.25	0.6148
$\alpha_i \beta_k \delta_j$: sombra*sustrato*fertilización	1.60	1	1.60	0.65	0.4211
ε_{ijkl} : error	284.75	116	2.45		
total	417.90	159			

Nota. Abreviaturas: SC: suma de cuadrados; gL: grados de libertad; CM: cuadrado medio; F: Prueba de Fisher; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Variable de supervivencia. Los datos de esta variable se analizaron a través de la prueba Kruskal-Wallis. El resultado de la prueba confirma que ningún tratamiento tuvo resultados estadísticamente significativos sobre la sobrevivencia de la especie (tabla 15).

Raíces. La prueba estadística de Kruskal-Wallis aplicada a los datos de medición de esta variable confirma que no hubo diferencia significativa (p-valor > 0.05) en el desarrollo de nuevas raíces como consecuencia de los tratamientos aplicados (tabla 16).

Keikis. Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para los datos de esta variable confirman

que sí existió una diferencia estadísticamente significativa (p-valor < 0.05) entre tratamientos (tabla 17). La prueba de medias (tabla 18) confirma que el tratamiento T14 tuvo más crecimiento de keikis nuevos en comparación con los demás tratamientos.

Resumen de los resultados de la especie *Guarianthe guatemalensis*. El tratamiento T14, que consistió en 90 % de sombra, sustrato 2 (pino más pomez) y fertilizante NPK 11.8.6 fue el que obtuvo mejores resultados en cuanto al desarrollo de las plantas, medido en términos de número de hijos (tabla 19). No se observó diferencia significativa en las variables de sobrevivencia, altura y número de raíces como resultado de los tratamientos aplicados.

Tabla 15

Resultado de prueba Kruskal-Wallis para la variable de sobrevivencia

T	Descripción del tratamiento	N	Media	D. E.	Mediana	H	p
11	sustrato: coco/pomez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.85	0.37	1.00	4.45	0.1579
9	sustrato: coco/pomez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.85	0.37	1.00		
15	sustrato: coco/pomez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.85	0.37	1.00		
13	sustrato: coco/pomez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.90	0.31	1.00		
12	sustrato: pino/pomez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.70	0.47	1.00		
10	sustrato: pino/pomez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		
16	sustrato: pino/pomez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.95	0.22	1.00		
14	sustrato: pino/pomez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.90	0.31	1.00		

Nota. Abreviaturas: N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 16

Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis para la variable de raíces

T	Descripción del tratamiento	N	Media	D. E.	Mediana	H	p
11	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.15	0.37	0.00	4.70	0.2793
9	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.15	0.37	0.00		
15	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.15	0.37	0.00		
13	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.20	0.41	0.00		
12	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.20	0.41	0.00		
10	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.25	0.44	0.00		
16	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.40	0.50	0.00		
14	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.40	0.50	0.00		

Nota. Abreviaturas: N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 17

Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis para la variable de keikis o hijos

T	Descripción del tratamiento	N	Media	D. E.	Mediana	H	P
11	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.40	0.50	0.00	12.50	0.0124
9	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.65	0.49	1.00		
15	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.50	0.51	0.50		
13	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.70	0.47	1.00		
12	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	20	0.65	0.49	1.00		
10	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.45	0.51	0.00		
16	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.80	0.41	1.00		
14	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	20	0.90	0.31	1.00		

Nota. Abreviaturas: N: tamaño de la muestra; D. E.: desviación estándar; H: estadístico de prueba; p: valor de probabilidad. Fuente: elaboración propia.

Tabla 18

Resultado de la prueba de medias para la variable de keikis

Tratamiento	Descripción	Rango
11	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	62.00 A
10	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	66.00 A B
15	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	70.00 A B
9	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	82.00 A B C
12	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	82.00 A B C
13	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	86.00 A B C
16	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	94.00 B C
14	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	102.00 C

Nota. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia.

Tabla 19Resumen de los resultados de los tratamientos aplicados en *Guarianthe guatemalensis*

T	Descripción	Altura	n.º de hojas	Supervivencia	Raíces	Keikis
10	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	0
11	sustrato: coco/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0
12	sustrato: pino/pómez; sombra 50 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0
13	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	0
14	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	1
15	sustrato: coco/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0
16	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 11.8.6	0	0	0	0	0
9	sustrato: pino/pómez; sombra 90 %; fertilización NPK 20.20.20	0	0	0	0	0

Nota. 1: tratamientos con efecto estadísticamente significativo sobre el factor referido; 0: tratamientos sin efecto estadísticamente significativo sobre el factor referido. Fuente: elaboración propia.

Las dos especies analizadas difieren entre sí en cuanto a sus características morfológicas y se evidencia que también se distinguen en cuanto a su desarrollo y aclimatación post *in vitro*, ya que cada una requiere de condiciones específicas para la obtención de plantas vigorosas y capaces de sobrevivir por sí mismas en espacios naturales, sobre todo en el caso de *Epidendrum macdougalli*.

Los resultados de *E. macdougalli* muestran que se trata de una especie que responde a condiciones de sombra, sustrato y fertilización con mayor o menor desarrollo de raíces, altura y número de hijos. Incluso, la supervivencia de la especie se ve afectada por cambios en las variables utilizadas en el experimento. Para esta especie, los mejores resultados de desarrollo y, por ende, de aclimatación a condiciones de invernadero se obtuvieron con una sombra del 50 %, sustrato de corteza de pino y piedra pómez y fertilizante con proporciones NPK 11.8.6 (T2). Al comparar la respuesta a este tratamiento con los otros dos tratamientos que tuvieron los siguientes mejores resultados (T6 y T7), se evidencia que la especie se beneficia de sustratos con alto grado de drenaje y requiere de fertilización en bajas concentraciones.

El único parámetro de desarrollo que tuvo una respuesta estadísticamente superior como consecuencia de los tratamientos aplicados a la especie *Guarianthe guatemalensis* fue el de nuevos hijos o *keikis*. Las variables de desarrollo de nuevas raíces, supervivencia y altura de las plantas no mostraron diferencias significativas.

La variable de número de hojas desarrolladas no respondió de forma diferente ante ninguno de los tratamientos en ninguna de las dos especies. El número de hojas en orquídeas es constante en plantas sanas

de acuerdo a la especie. *Guarianthe guatemalensis* se caracteriza por tener dos hojas gruesas por planta, mientras que *Epidendrum macdougalli* presenta numerosas hojas por planta que se pierden para regenerarse nuevamente.

Conclusiones

Las condiciones de aclimatación posteriores al crecimiento de orquídeas germinadas *in vitro* son definitivas para la supervivencia y el desarrollo de las plantas. La especie *Epidendrum macdougalli* se desarrolla mejor –en términos de altura, raíces y *keikis*– en un sustrato compuesto por un 50 % de corteza de pino y otro 50 % de piedra pómez, con tratamientos semanales de fertilización NPK 11.8.6 y en condiciones de sombra del 50 %.

La respuesta de *Guarianthe guatemalensis* a los tratamientos utilizados en este experimento no fue contundente en cuanto al desarrollo de altura y raíces. No obstante, sí existió una respuesta de generación de *keikis* estadísticamente significativa al tratamiento, que consistió en un sustrato compuesto por 50 % de corteza de pino y 50 % de piedra pómez, tratamientos semanales de fertilización NPK 11.8.6 y condiciones de sombra del 90 %.

El proceso de aclimatación de plantas germinadas en condiciones *in vitro* no puede generalizarse para especies que pertenezcan a la misma familia. Las especies utilizan diferentes estrategias de supervivencia para superar el reto de adaptarse a un medio diferente al de germinación. En este caso en particular, la especie *Guarianthe guatemalensis* tuvo una reacción de adaptación que se basó en la generación de nuevas plantas hijas. Por el contrario, la estrategia de adaptación de *Epidendrum macdougalli*

consistió en el desarrollo de las plantas germinadas *in vitro*.

Referencias

- Archila, F. (2017). Listado de orquídeas de Guatemala. *Guatemalensis*, 17(2), 32-71.
- Epidendra. (27 de junio de 2019). *The global orchid taxonomic network*. Epidendra. <http://epidendra.org/taxones/Epidendrum/Epidendrum%20macdougalli/index.html>
- Instituto Nacional de Bosques. (2019). *Cobertura forestal de Guatemala 2016 y dinámica de cobertura forestal 2010-2016*. <http://www.infoiarna.org.gt/wp-content/uploads/2019/06/folleto-dinamica-cobertura-forestal-2010-2016LR.pdf>
- Kleyn, K. L. (1996). *Plants from test tubes* (3.ª ed.). Timber Press.
- Royal Horticultural Society. (1995). *Manual of Orchids* (J. S. Griffiths, ed.). Timber Press.
- Swarts, N. D. y Dixon, K. D. (2009). Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany*, 104, 543-556.
- Withner, C. L. (1988). *The cattleyas and their relatives* (vol. 1). Timber Press.