



COLLABORATION FOR ENVIRONMENTAL EVIDENCE

REVISIÓN SISTEMÁTICA No. 70

USO DE TÉCNICAS DE MICROPROPAGACIÓN PARA AUMENTAR LA TASA REPRODUCTIVA EN ORQUÍDEAS

BORRADOR DE PROTOCOLO DE REVISIÓN

Revisor líder: *Claret Michelangeli de Clavijo*
Dirección postal: *Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA), Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Vía El Limón, Edo. Aragua, Venezuela, Apartado postal 4579.*
Correo electrónico: *michelangelic@agr.ucv.ve; claremiche@gmail.com*
Teléfono: *+58-243-5507322*
Fax: *+58-243-5507322*

1. ANTECEDENTES

La familia Orchidaceae comprende un gran número de especies de gran interés y demanda mundial por su valor ornamental, lo que ha favorecido un extenso mercado, tanto para plantas como para flores de corte, donde pueden adquirir precios elevados. Paralelamente, constituye una de las familias más vulnerables, por la destrucción de sus hábitats y la gran extracción a la que ha estado sujeta. Algunos de los factores que inciden en la problemática descrita y que ubica a muchas especies en las categorías de amenazadas o en peligro de extinción, son: dificultades de conservación, amenazas por la reducción de su ambiente natural, germinación compleja y largos periodos de crecimiento. La existencia de centros de reproducción masiva de orquídeas silvestres ayudaría a disminuir la extracción de sus hábitats naturales.

En consecuencia, la toma de acciones que conlleven un manejo sustentable de las orquídeas se hace inaplazable. Al respecto, el uso de técnicas de cultivo *in vitro* tiene como ventajas: una rápida multiplicación de materiales en ambientes controlados y asépticos, los cuales pueden obtenerse libres de enfermedades obviándose las fluctuaciones de temperatura, cambios de clima, ataques de patógenos y otros problemas que constantemente afectan a las colecciones de campo. Asimismo, permite ahorrar en espacio y costo para la producción de genotipos de interés, para la producción masiva y uniforme; conservación de germoplasma, aspecto particularmente importante en especies recalcitrantes y de difícil propagación. Independientemente del método de propagación empleado, las plántulas obtenidas deben además ser aclimatadas. En esta etapa pueden ocurrir pérdidas considerables, debido a fallas en la adaptación de las plántulas al ambiente *ex vitro*, requiriéndose por tanto, de protocolos para su aclimatación que permitan disminuir tales fallas y por ende los costos de producción.

El establecimiento de sistemas de micropropagación, para conseguir la reproducción de orquídeas en forma masiva a partir de semillas o tejidos vegetativos y su aclimatación en invernaderos o umbráculos, puede mantener una producción continua de las especies de interés, amenazadas o en peligro de extinción de manera de reducir la extracción de sus hábitats naturales (Lee y Lee, 1991). Según Arditti y Krikorian, 1996, las orquídeas fueron las primeras plantas propagadas *in vitro* a partir de la siembra de semilla sexual, tanto de forma simbiótica por Noel Bernard, c. 1900, como asimbiótica por Lewis Knudson en 1921; o clonalmente al introducirse la técnica del cultivo de meristemas para la propagación vegetativa o asexual (Morel, 1960, 1964) (Capellades y col., 1991).

Posterior a la producción de las vitroplantas, se hace necesaria su aclimatación; esta se refiere a una etapa final en la mayoría de los esquemas de micropropagación, donde deben ser adaptadas a nuevas condiciones ambientales de humedad relativa, iluminación y temperatura, entre otras. Se considera que la calidad intrínseca de las plántulas obtenidas *in vitro* es uno de los factores más importantes que gobierna el éxito durante la transición a condiciones *ex vitro*. Los principales factores a superar son los relativos a la excesiva pérdida de agua por transpiración y a su aparato fotosintético poco

desarrollado. En general, el mayor porcentaje de pérdidas de las plantas producidas *in vitro* ocurre en la fase de transferencia a nuevas condiciones ambientales (Roca, 1991). En consecuencia, el éxito de la propagación *in vitro* radica en lograr la aclimatación de las vitroplantas a nuevas condiciones ambientales. Durante esta etapa se produce un retorno gradual al funcionamiento autotrófico de las mismas, así como la recuperación de las características morfológicas y fisiológicas típicas de la especie. Asimismo, en esta etapa las plántulas sufren un estrés provocado por el cambio de las condiciones de humedad, temperatura e iluminación, que les permitirá adaptarse a las condiciones definitivas de sus hábitats naturales.

En la presente revisión se evalúan alternativas en la búsqueda de soluciones que permitan la producción masiva de plantas, basadas en el uso de técnicas de reproducción artificial, las cuales se puede llevar a cabo de manera eficiente, rápida y segura mediante la propagación *in vitro* o micropropagación y posterior aclimatación de las plántulas obtenidas bajo condiciones de invernadero.

La revisión sistemática se llevará a cabo en la familia Orchidaceae, en los estudios relativos a la micropropagación o propagación *in vitro*, así como en la aclimatación de las *vitroplántulas*.

2. OBJETIVO

Examinar la efectividad de las técnicas de propagación *in vitro* y posterior aclimatación en orquídeas

Pregunta primaria:

¿Es la propagación *in vitro* y posterior aclimatación de las vitroplantas una metodología efectiva para aumentar la tasa reproductiva en orquídeas?

3. MÉTODOS

Estrategia de búsqueda de información

Se realizará una búsqueda en internet mediante los siguientes motores de búsqueda.

- Google (<http://www.google.com>)
- Google Scholar (www.scholar.google.com)
- Intute (www.intute.ac.uk)
- www.alltheweb.com
- www.dogpile.com

Las siguientes bases de datos serán consultadas:

- Índices de Trabajos de tesis de pre y postgrado en forma electrónica.
- Editoriales de libros (Elsevier, CAB internatiional, etc)
- Informes Técnicos

- Bibliotecas del país (IVIC, FAGRO, etc)
- Consultas a expertos y miembros de Sociedades de Orquidología del país
- Resúmenes de eventos científicos nacionales e internacionales
- ConservationEvidence.com
- Ebsco (<http://web.ebscohost.com>)
- Directory of Open Access Journals (<http://www.doaj.org>)
- Copac (<http://copac.ac.uk>)
- Scientific Electronic Library Online (<http://www.scielo.org>)
- Scirus for scientific information only (<http://www.scirus.com>)
- Index to Theses Online (<http://www.theses.com>)
- Agricola (<http://agricola.nal.usda.gov>)
- JSTOR (<http://www.jstor.org>)
- Science.gov (<http://www.science.gov>)

También se consultarán otras bases de datos y catálogos que sean relevantes según los expertos:

- Scielo
- Biological abstracts
- CAB Abstracts (<http://www.cabi.org>)
- Cambridge Scientific Abstracts
- USDA Nacional Agricultural Library
- w³tropicos: nomenclatural and specimen database of the missouri botanical garden
- epic: electronic plant information centre of royal botanic gardens, kew
- Science Direct
- ISI web of knowledge, web of Science
- Science Citation Index (SCI), Biosis previews
- Latindex Catálogo
- Visitas a orquidarios (distribución geográfica, aspectos fenológicos, morfología, etc).

Tabla 1. Términos de búsqueda (en español e inglés)

Español	Inglés
Orquídeas Y propagación	orchids AND propagation
Orquídeas Y micropropagación	orchids AND micropropagation
Orquídeas Y cultivo in vitro	orchids AND in vitro culture
Orquídeas Y propagación in vitro	orchids AND in vitro propagation
Orquídeas Y aclimatación	orchids AND acclimatization

Se llevará a cabo una revisión amplia: orquídeas-micropropagación-aclimatación. Así mismo, se harán revisiones en cuanto a la aclimatación de las plántulas obtenidas bajo condiciones *in vitro*. Se incorporarán las palabras claves incluidas en los estudios encontrados. Se examinarán los documentos (Word o PDF) en cada búsqueda para verificar si contienen información pertinente.

Se consultarán expertos en el área de las orquídeas.

Criterios de inclusión para el estudio

- **Sujeto relevante:** Orquídeas en las que se han llevado a cabo estudios de micropropagación o propagación *in vitro*.
- **Tipos de intervención:** micropropagación sexual y asexual; aclimatación de plántulas obtenidas bajo condiciones *in vitro*.
- **Tipos de comparadores:** propagación convencional; tipos de aclimatación.
- **Tipos de respuestas a las intervenciones:** Producción masiva de plantas en pequeños espacios, plantas aclimatadas en umbráculos o invernaderos.
- **Tipos de estudio:** Descriptivos y cuantitativos. Se considerarán los estudios que presenten información relevante sobre el sujeto propuesto, la intervención y las variables e indicadores planteados.

Los criterios de inclusión serán empleados en tres etapas con la finalidad de filtrar los estudios más relevantes. Las tres etapas estarán definidas por la evaluación de los estudios a partir de:

1. Título y palabras claves: se incluirán aquellos estudios que según el título y palabras claves estén vinculados con el objetivo de la revisión.
 2. Resumen: luego del primer filtro, se estudiarán los resúmenes de los trabajos para seleccionar aquellos que tengan más relevancia.
 3. Artículo completo: los estudios más relevantes serán revisados por completo para seleccionar los más adecuados para el análisis.
- **Potenciales razones para heterogeneidad:** Variaciones en los tiempos de colecta pueden conllevar variaciones en la respuesta *in vitro*. La posible heterogeneidad de las plántulas obtenidas bajo condiciones *in vitro* puede ocasionar variaciones en el proceso de la aclimatación, interacciones con las poblaciones locales, cambios ambientales y presencia de plagas en las plantas.

Evaluación de calidad de los estudios

Se considerarán artículos completos, los cuales se someterán a análisis de calidad mediante tablas de evaluación de cada estudio; se hará especial atención sobre los elementos generadores de sesgo. Si los estudios son apropiados, se incluirán tanto en el análisis cualitativo como cuantitativo basado en meta-análisis, dependiendo de la existencia de datos comparables. Los estudios serán clasificados según su importancia, basado en el objetivo general. Se hará análisis de validez basado en los protocolos para la propagación *in vitro* y para la aclimatación utilizados en los artículos y en las variables bajo estudio. Luego de la clasificación, un segundo revisor evaluará una muestra del 25% de los trabajos para verificar si los criterios están claramente definidos y han sido correctamente utilizados para clasificar los estudios.

Estrategia para extracción de los datos

Para el análisis de los estudios seleccionados para la revisión, se garantizará la repetibilidad en el proceso de extracción de los mismos con un revisor independiente. Se crearán planillas para recopilar datos cualitativos y otras para los datos cuantitativos de las variables definidas anteriormente para la evaluación de la intervención. Se considerarán estudios que midan la eficiencia de los tipos de propagación para establecer comparaciones y se tomarán en cuenta los criterios sobre calidad de las fuentes. Una muestra del 25% de los estudios serán evaluados por un segundo revisor para verificar si los criterios de extracción de los datos y la efectividad de las planillas es la adecuada. La información bibliográfica incluirá la cita completa más el resumen (si está disponible) del estudio y se organizará con un programa específico (ver apéndice).

Durante la extracción de los datos se registrarán características del estudio como: tipo de estudio (experimental, teórico), especie, localidad, fecha, nivel de los investigadores, fuentes de heterogeneidad, categoría de calidad del estudio, entre otras características.

Síntesis de los datos

De ser posible, se incluirá un estudio de meta-análisis de los efectos que resulten de la intervención propuesta. Si la calidad de la información no es adecuada, se harán revisiones descriptivas. Se crearán tablas resumen para recopilar la información sobre los autores, organización, año del estudio, fuente, entre otros.. Para cada estudio analizado se crearán fichas o tablas resumen en las que se colocará de manera concreta los aspectos más importantes extraídos: características y calidad del estudio, fuentes de heterogeneidad, resultados (cualitativos y cuantitativos) importantes, etc. En estas tablas resumen se incluirá una síntesis narrativa que describa el estudio. En caso de obtener datos importantes y suficientes, se elaborarán cuadros para contrastarlos y analizarlos de manera ordenada.

4. POTENCIALES CONFLICTOS DE INTERÉS Y FUENTES DE SOPORTE

No se declaran fuentes potenciales de conflictos de interés. El Proyecto es financiado primeramente por la ONG PROVITA y la Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. CIBA.

5. REFERENCIAS

1. Arditti, J. 1996. Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigators. *Botanical Journal of the Linnean Society* 122:183–241.

2. Arditti, J. y Krikorian A.D. 1996. Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigators. *Botanical Journal of the Linnean Society* 122: 183-241pp.
3. Capellades, M., Beruto M., Vanderschaeghe A. y Debergh P. C. 1991 Ornamentals. En: Debergh, P.C. y Zimmerman (Eds). *Micropropagation technology and application*. Kluwer Academic Publishers. 215-229.
4. Lee, J. Y Lee H. 1991. Micropropagación de orquídeas a partir de semillas. *Boletín informativo de FIRA XXIV* 2:15-30.
5. Roca W. 1991. *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicación*. CIAT, Colombia.

APÉNDICE

Referencia	Sujeto relevante	Intervención	Variable respuesta	Resumen de los principales resultados	Metodología empleada
	Orquídeas	Propagación in vitro y aclimatación de vitroplantas	<ul style="list-style-type: none">▪ Tasa reproductiva▪ No. de plantas aclimatadas		