



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGIA

## FERTILIZACIÓN FOLIAR Y SU RUTA DE PENETRACIÓN EN LA ORQUÍDEA *Cymbidium* sp.

VÍCTOR GARCÍA GAYTÁN

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2013

La presente tesis titulada, "**FERTILIZACIÓN FOLIAR Y SU RUTA DE PENETRACIÓN EN LA ORQUÍDEA *Cymbidium sp***". realizado por el alumno: **Víctor García Gaytán**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

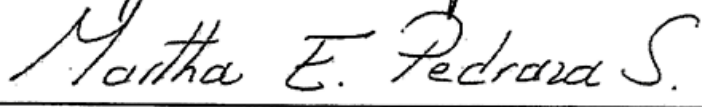
MAESTRO EN CIENCIAS  
EDAFOLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

  
DRA. MA. DE LAS NIEVES RODRÍGUEZ MENDOZA

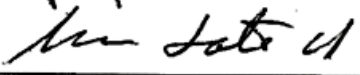
DIRECTOR

  
DRA. MARTHA E. PEDRAZA SANTOS

ASESOR

  
DRA. LIBIA IRIS TREJO TÉLLEZ

ASESOR

  
DR. MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto de 2013

# FERTILIZACIÓN FOLIAR Y SU RUTA DE PENETRACIÓN EN LA ORQUÍDEA *Cymbidium* sp.

Víctor García Gaytan, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2013

La presente investigación se dividió en tres experimentos, dos realizados en el Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo Edo. México y la tercera en la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Uruapan Michoacan. Dada la importancia de la fertilización foliar como práctica común en los medios de producción y escasa información disponible sobre la absorción de nutrientes a nivel foliar en orquídeas, en el primer estudio se caracterizó la anatomía foliar de *Cymbidium* sp. e identificó las rutas de penetración de un fertilizante foliar 10-10-10 NPK. En esta etapa se encontró que el grosor de la cutícula varía a lo largo de la hoja. La porción media fue más gruesa (29.90  $\mu\text{m}$ ) que la apical y basal (26.91 y 25.75  $\mu\text{m}$ ). El número de estomas fue constante a lo largo de la hoja. En la región media de la hoja, el grosor de tejido epidérmico y el diámetro de los haces de fibras subepidérmicas (63.045 y 184.55  $\mu\text{m}$ ) mostraron los mayores valores, mientras que el mayor diámetro de haz vascular (1031  $\mu\text{m}$ ) y mayor grosor del mesófilo (3777.91  $\mu\text{m}$ ) se registró en la porción basal. En la ruta de penetración del fertilizante foliar con los colorantes azul negro de naftol más verde rápido y calcofluor. El fertilizante foliar penetró vía cutícula y estomática a partir de los 30 min después de haber asperjado. A los 120 min, se observó su absorción en los pseudobulbos. Por lo tanto, se demostró que la fertilización foliar es una alternativa viable que puede implementarse en las prácticas de producción de esta ornamental. En el segundo experimento, los aceites esenciales de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso se obtuvieron por hidrodestilación. Para la identificación y cuantificación relativa de los componentes químicos se realizó el perfil cromatográfico por cromatografía en capa fina (CCF), en combinación con la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Con CCF, se identificaron cinco componentes en la flor, siendo los más abundantes; terpineol, linalool y zingibereno, los más abundantes en el ovario pedicelado: borneol, cineol y  $\beta$ -bisaboleno, para el residuo acuoso el más abundante fue el geraniol. Mediante GC/MS, se identificaron 25 componentes volátiles asociados con la flor, de estos los más abundantes fueron: linalool (22.92%), 4-metil fenol (15.07%) y p-ment-1-en-8-ol (12.32%). En el ovario pedicelado se identificaron 13 componentes: 4-metil fenol (31.24%), biciclo [4.4.0] dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno- (17.74%) y linalool (4.62%); mientras que, en el residuo acuoso se encontraron 18 componentes siendo los más abundantes 4-metil fenol (18.71%) y 2-cyclohexen-1-ol (14.60%). En el tercer experimento, se cuantificó el desarrollo y floración de la orquídea en función de las relaciones de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (100/00, 80/20, 60/40 y 00/100) en la solución nutritiva, en combinación con fertilización foliar (FF) y frecuencia de aplicación de la solución una vez martes (M) o dos martes y viernes (MV) a la semana. Bajo condiciones de invernadero, en plantas de cuatro años de edad. La combinación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  influyó en las lecturas SPAD (79.76 en enero), el mayor número de brotes vegetativos (5.04), y número de pseudobulbos (4.95) se presentó con la relación 60/40. La mayor longitud de escapos florales y vigor se presentó en plantas con la solución nutritiva relación 80/20. Las relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  influyeron en la concentración de nitrógeno y manganeso en la planta.

**Palabras clave:** fertilización foliar, cromatografía en capa fina, espectrometría de masas, pseudobulbos escapo.

# FOLIAR FEEDING AND ITS PENETRATION PATHWAY IN THE ORCHID *Cymbidium* sp.

Víctor García Gaytan, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2013

This paper presents the results of three experiments, two carried out at the Postgraduate College in Agricultural Sciences, Montecillo Campus, State of Mexico, and the third at the "Presidente Juárez" Faculty of Agrobiology in Uruapan, Michoacán. Given the importance of foliar feeding as a common practice in the means of production and the scant information available on the absorption of nutrients at leaf level in orchids, the first study characterized the leaf anatomy of *Cymbidium* sp. and identified the penetration pathways of foliar fertilizer 10-10-10 (N-P-K). At this stage it was found that cuticle thickness varies along the leaf. The middle portion (29.90  $\mu\text{m}$ ) was thicker than the apical and basal sections (26.91 and 25.75  $\mu\text{m}$ ). The number of stomata was constant throughout the leaf. In the middle region of the leaf, the thickness of the epidermal tissue and the diameter of the subepidermal fiber bundles (63,045 and 184.55  $\mu\text{m}$ ) showed higher values, while the largest vascular bundle diameter (1031  $\mu\text{m}$ ) and thickest mesophyll (3777.91  $\mu\text{m}$ ) were recorded in the basal portion. The penetration pathway of the foliar fertilizer was identified with naphthol and calcofluor fast green-black blue dyes. The foliar fertilizer entered via cuticles and stomata beginning 30 min after having been sprayed. At 120 minutes, their absorption into the pseudobulbs was observed. Therefore, it was demonstrated that foliar feeding is a viable alternative that can be used in the production practices of this ornamental. In the second experiment, the essential oils in the flower, pedicellate ovary and aqueous residue were obtained by hydrodistillation. For the identification and relative quantification of the chemical components, the chromatographic profile was obtained by thin layer chromatography (TLC), combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). With TLC, five components were identified in the flower, with the most abundant being terpineol, linalool and zingiberene; the most abundant in the pedicellate ovary were borneol, cineole, and  $\beta$ -bisabolene, while for the aqueous residue the most abundant was geraniol. Using GC/MS, 25 volatile components associated with the flower were identified, of which the most abundant were linalool (22.92%), 4-methylphenol (15.07%) and p-Menth-1-en-8-ol (12.32%). In ovaries 13 components were identified, with the most abundant being 4-methylphenol (31.24%), bicyclo [4.4.0] dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene- (17.74%) and linalool (4.62%), while in the aqueous residue 18 components were found, with the most abundant being 4-methylphenol (18.71%) and 2-cyclohexen-1-ol (14.60%). In the third experiment, the development and flowering of the orchid was quantified as a function of the  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratios (100/00, 80/20, 60/40 and 00/100) in the nutrient solution, in combination with foliar feeding (FF) and the application frequency of the nutrient solution, which was once a week (every Tuesday) or twice a week (every Tuesday and Friday). Under greenhouse conditions, in four-year-old plants. The  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  combination influenced SPAD readings (79.76 in January); the highest number of vegetative buds (5.04) and number of pseudobulbs (4.95) occurred with the ratio 60/40. The longest and most robust floral scapes were presented in the plants watered with nutrient solution ratio 80/20. The  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratios influenced the concentration of nitrogen and manganese in the plant.

**Keywords:** *foliar feeding, thin layer chromatography, mass spectrometry, pseudobulbs, scapes.*

## AGRADECIMIENTOS

**A los ciudadanos y ciudadanas de México** que pagan impuestos, quienes a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han financiado parte de mi formación.

**Al Colegio de Postgraduados** agradezco infinitamente los apoyos y las facilidades brindadas en la culminación de mi formación.

**A todos los integrantes de mi Consejo Particular; (Consejera, Directora, Asesores y Sinodal)** Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza, Dra. Martha E. Pedraza Santos, Dra. Libia Iris Trejo-Téllez, Dr. Ramón Marcos Soto Hernández y Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce. Les reitero mi sincera gratitud, admiración y respeto, por compartirme sus conocimientos sin condiciones para el desarrollo de esta investigación.

**A todos los que integran el Área de Nutrición Vegetal;** doctores, maestros y personal administrativo, quienes de manera directa contribuyeron en mi formación durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

**A los laboratorios de Histopatología Vegetal, Fitoquímica y Nutrición Vegetal** por la facilidades brindadas de materiales y equipos para la culminación de éste trabajo.

**A la Dra. Martha E. Pedraza** y a su esposo **Ing. Fidel Carrillo** por el prestamo del material vegetal (*Cymbidium*) y a su equipo de trabajo por el apoyo brindado durante mi estancia y experimento en el invernadero.

**Al personal de la biblioteca y sala de cómputo** por las facilidades brindadas para llevar acabo mi investigación.

**A la Línea Prioritaria de Investigacion LPI4,** Agronegocios, Agroecoturismo y Arquitectura del Paisaje. Por todas la facilidades y apoyos prestados para la realización de esta investigación.

## **DEDICATORIA**

**A ti mi amada y compañera, Fanny Hernández Mendoza;** por estar con migo en todos los momentos agradables de mi vida, por alentarme y motivarme cada instante con tu respeto, amor y cariño muchas gracias mi Fanylu.

**A ti mi querida madre Juana Gaytán Vazquéz;** Quien me ha dado la vida y amor, por el apoyo en todas mis decisiones, y que has tomado desde mi niñez el deber de padre y madre a la vez mi admiración siempre y respeto querida madre, la quiero mucho.

**A mis queridos y estimados hermanos;** Eloy, Alicia, Paula, Angelina y Patricia. Por el apoyo incondicional brindando en todos momentos de mi vida.

**A mis sobrinos;** Yessica, Eliasit, Natanel, Betsi, Yaret, Melli, Joel y Aurora. Ustedes siempre seran mi alegría y motivación.

# CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	i
ABSTRACT .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
CONTENIDO .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Objetivos .....</b>	<b>3</b>
1.1. Objetivo general.....	3
1.2. Objetivos particulares .....	3
<b>2. Hipótesis .....</b>	<b>3</b>
2.1. Hipótesis general.....	3
2.2. Hipótesis particulares.....	4
<b>3. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
3.1. Origen y distribución de <i>Cymbidium</i> sp.....	4
3.2 Morfología de <i>Cymbidium</i> sp. ....	6
3.2.1. Raíz.....	6
3.2.2. Pseudobulbos .....	6
3.2.3. Hojas.....	7
3.2.4. Flores .....	8
3.2.5. Semillas .....	10
3.3. Requerimientos de temperatura.....	10
3.4. Fertilización foliar en orquídeas.....	11
3.5. Factores que influyen en la penetración de fertilizantes foliares.....	13
3.5.1. Factores ambientales.....	13
3.5.2. Composición química del fertilizante foliar .....	13
3.5.3. Tamaño de la gota y la forma de aspersión.....	14
3.5.4. La formulación de adyuvantes .....	15
3.6. Absorción de $\text{NO}_3^-$ y $\text{NH}_4^+$ en orquídeas.....	16
3.7. Importancia medicinal de <i>Cymbidium</i> sp.....	19
3.8. Métodos y técnicas de análisis en aceites esenciales.....	20
3.9. Constituyentes químicos activos .....	21
<b>4. Bibliografía citada .....</b>	<b>23</b>

<b>CAPÍTULO II. EVIDENCIAS DE LA NUTRICIÓN FOLIAR EN <i>Cymbidium</i> sp.</b>	<b>34</b>
Resumen	34
Abstract	35
<b>I. Introducción</b>	<b>36</b>
<b>II. Materiales y métodos</b>	<b>37</b>
2.1. Primera etapa: caracterización de la lámina foliar	37
2.2. Segunda etapa: Identificación de las rutas de penetración del fertilizante foliar	39
<b>III. Resultados y discusión</b>	<b>40</b>
3.1. Caracterización de lámina foliar	40
3.1.2 Grosor de cutícula	42
3.1.3. Densidad estomática	42
3.1.4. Grosor de tejido epidérmico	43
3.1.5. Diámetro de fibras subepidérmicas	45
3.1.6. Diámetro del haz vascular	47
3.1.7. Ancho del mesófilo esponjoso	47
3.1.8. Peso seco de la hoja	49
3.2. Rutas de penetración del fertilizante foliar	49
3.2.1. Fertilizante foliar más verde rápido y azul negro de naftol (F-VR + ANN)	49
3.2.2. Fertilizante foliar más el calcoflúor (F-C)	50
3.2.3. Absorción del fertilizante foliar más el calcoflúor (F-C) en pseudobulbos	52
<b>IV. Conclusiones</b>	<b>54</b>
<b>V. Literatura citada</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO III. COMPONENTES VOLÁTILES DE LA FLOR, OVARIO PEDICELADO Y RESIDUO ACUOSO EN <i>Cymbidium</i> sp. (ORCHIDACEAE)</b>	<b>61</b>
Resumen	61
Abstract	62
<b>I. Introducción</b>	<b>63</b>
<b>II. Materiales y métodos</b>	<b>64</b>
2.1. Análisis de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por cromatografía en capa fina (CCF)	64
2.2. Análisis de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso mediante cromatografía de gases acoplado a un detector selectivo de masas (GC/MS)	65
<b>III. Resultados y discusión</b>	<b>65</b>
3.1. Caracterización de los componentes de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por (CCF)	65
3.2. Identificación y cuantificación de las sustancias en la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por (GC/MS)	66
<b>IV. Conclusiones</b>	<b>71</b>



V. Literatura citada .....	72
<b>CAPÍTULO IV. VARIABLES AGRONÓMICAS EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE <i>Cymbidium</i> sp. (ORCHIDACEAE) .....</b>	<b>76</b>
Resumen .....	76
Abstract .....	77
<b>I. Introducción .....</b>	<b>78</b>
<b>II. Materiales y métodos .....</b>	<b>80</b>
2.1 Variables evaluadas .....	83
2.2. Cinética de crecimiento: .....	83
2.2.1. Número de brotes, número de hojas de los brotes, número de pseudobulbos, número de hojas en pseudobulbos .....	83
2.2.2. Índice de verdor.....	84
2.3 A los doce meses .....	84
2.3.1. Determinación de $\text{NO}_3^-$ y $\text{NH}_4^+$ en el extracto tisular <i>Cymbidium</i> sp. ....	84
2.3.2. Análisis químico de tejido vegetal.....	84
2.4 Al corte de la flor. ....	85
2.4.1. Longitud de escapo floral .....	85
2.4.2. Número de nudos por escapo .....	85
2.4.3. Diámetro de escapo .....	85
2.4.4. Número de flores .....	85
2.5. Postcosecha.....	85
2.5.1. Vida de florero.....	85
2.6 Análisis estadístico .....	86
<b>III. Resultados y discusión .....</b>	<b>87</b>
3.1. Lecturas SPAD.....	89
3.2. Número de brotes vegetativos .....	91
3.3. Número de hojas en brotes.....	93
3.4. Número de pseudobulbos .....	94
3.5. Número de hojas en pseudobulbos .....	96
3.6. Concentración de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en el extracto tisular de hojas.....	98
3.7. Concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp. ....	102
3.8. Longitud de escapo floral.....	107
3.9. Número de nudos por escapo .....	109
4.0. Distancia de entrenudos en escapo .....	110
4.1. Diámetro del escapo floral .....	111
4.2. Número de flores en escapos florales .....	112
4.3. Vida de florero del escapo.....	114
<b>IV. Conclusiones .....</b>	<b>119</b>
<b>V. Bibliografía citada .....</b>	<b>120</b>
<b>VI. Conclusiones generales .....</b>	<b>125</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Página

### CAPÍTULO III

<b>Cuadro 1.</b>	Componentes volátiles encontrados en flores de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>69</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Componentes volátiles encontrados en el ovario pedicelado de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>70</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Compuestos volátiles encontrados en el residuo acuoso de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>71</b>

### CAPÍTULO IV

<b>Cuadro 1.</b>	Tratamientos establecidos con diferentes relaciones de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva y número de riegos para medir su efecto en el desarrollo de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>81</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Tratamientos establecidos con diferentes relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva y fertilización foliar para medir su efecto en el desarrollo de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>82</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Salas minerales utilizadas en la preparación de las soluciones nutritivas.	<b>83</b>
<b>Cuadro 4.</b>	Análisis de varianza del efecto de las relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y frecuencia de aplicación de las soluciones nutritivas sobre el desarrollo de <i>Cymbidium</i> sp. en condiciones de invernadero.	<b>88</b>
<b>Cuadro 5.</b>	Análisis de varianza del efecto de las relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y fertilización foliar sobre el desarrollo de <i>Cymbidium</i> sp. en condiciones de invernadero.	<b>88</b>
<b>Cuadro 6.</b>	Concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp. por efecto de la relación de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva.	<b>102</b>
<b>Cuadro 7.</b>	Concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp. por efecto de la fertilización foliar.	<b>103</b>
<b>Cuadro 8.</b>	Efecto de la interacción de los factores de estudio: relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva y fertilización foliar en la concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>104</b>

<b>Cuadro 9.</b>	Concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp. por efecto de la relación de la frecuencia de aplicación de riegos.	<b>105</b>
<b>Cuadro 10.</b>	Efecto de la interacción de los factores de estudio: relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva y frecuencia de aplicación de riegos en la concentración nutrimental en hojas de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>106</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Morfología de <i>Cymbidium</i> . <b>A.</b> Planta. <b>B.</b> Flores: vista lateral. <b>C.</b> Flor: vista frontal. <b>D.</b> Labelo: aplanado para medir las partes de sus estructuras. <b>E.</b> Labelo: vista frontal. El lóbulo es recurvado. <b>F.</b> columna y labio: vista lateral con pétalos y sépalos. <b>G.</b> Polinario rodeada por la antera. Du Puy y Cribb, 2007.	<b>9</b>

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1.</b> Porciones apical (A), media (M) y basal (B) en hoja de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>38</b>
<b>Figura 2.</b> Fotomicrografías de secciones transversales de hojas de <i>Cymbidium</i> sp. A) Tejido epidérmico (e) e hipodérmico (h) haces de fibras (f) distribuidos debajo de la hipodermis. Células parenquimatosas del mesófilo (m) de forma isodiamétrica y pared delgada. Tejido vascular (tv) rodeado por fibras. B) Sección teñida con Sudán IV. El color anaranjado de la pared tangencial externa de la epidermis indica la naturaleza lipídica de la cutícula (c). C) Aparato estomático. D) Rafidios (r).	<b>41</b>
<b>Figura 3.</b> Sección longitudinal de la hoja sobre el grosor de cutícula en <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>43</b>
<b>Figura 4.</b> Sección longitudinal de la hoja sobre la densidad estomática en <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>44</b>
<b>Figura 5.</b> Sección longitudinal de la hoja sobre el grosor de la epidermis en <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>44</b>
<b>Figura 6.</b> Sección longitudinal de la hoja sobre el diámetro de fibras subepidérmicas <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>46</b>

<b>Figura 7.</b>	Sección longitudinal de la hoja sobre el diámetro del haz vascular en <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>46</b>
<b>Figura 8.</b>	Sección longitudinal de la hoja sobre la anchura del mesófilo en <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>48</b>
<b>Figura 9.</b>	Sección longitudinal de la hoja sobre el peso seco de <i>Cymbidium</i> sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey $p \leq 0.05$ ).	<b>48</b>
<b>Figura 10.</b>	Corte transversal de hoja de <i>Cymbidium</i> sp. asperjadas con el fertilizante foliar 10-10-10NPK mezclado con verde rápido y azul negro de naftol. Treinta (A), 60 (B), 90 (C) y 120 (D) minutos después de la aplicación del fertilizante.	<b>50</b>
<b>Figura 11.</b>	Corte transversal de hojas de <i>Cymbidium</i> sp. asperjadas con fertilizante foliar 10-10-10 NPK más calcoflúor. Planta testigo sin fertilizar (A y B), 30 (C), 60 (D), 90 (E) y 120 (F) min después de la aplicación del fertilizante.	<b>52</b>
<b>Figura 12.</b>	Corte transversal del pseudobulbo de <i>Cymbidium</i> sp. de plantas asperjadas vía foliar con el fertilizante 10-10-10 con el colorante calcoflúor. (A) Pseudobulbo con presencia del fertilizante y colorante después de 120 min de la aspersión. (40x). (B y C) Planta testigo sin la presencia del fertilizante y colorante vista en el microscopio de luz fluorescente (40x).	<b>53</b>

### CAPÍTULOS III

<b>Figura 1.</b>	A) Flores de <i>Cymbidium</i> sp. B) corte de las flores en trozos pequeños y C) Cromatografía en Capa Fina (CCF), en órgano floral, ovario pedicelado y residuo acuoso de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>68</b>
<b>Figura 2.</b>	Cromatograma de gas de extracto de flores de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>68</b>
<b>Figura 3.</b>	Cromatograma de gas en el extracto del ovario pedicelado de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>69</b>
<b>Figura 4.</b>	Cromatograma de gas del residuo acuoso de <i>Cymbidium</i> sp.	<b>70</b>

## CAPÍTULOS IV

<b>Figura 1.</b>	A) Temperatura (C°) y B) Humedad relativa (%) máxima, media y mínima, en invernadero durante los meses de junio a mayo (2012-2013).	<b>87</b>
<b>Figura 2.</b>	Efecto de la relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de la solución nutritiva en las lecturas SPAD de las hojas de <i>Cymbidium</i> sp. durante 12 meses de evaluación. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>90</b>
<b>Figura 3.</b>	Efecto de la relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de la solución nutritiva en el número de brotes vegetativos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>92</b>
<b>Figura 4.</b>	Relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de la solución nutritiva en el número de hojas en brotes vegetativos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>94</b>
<b>Figura 5.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de la solución nutritiva en el número de pseudobulbos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>95</b>
<b>Figura 6.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de la solución nutritiva en el número de hojas en pseudobulbos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>97</b>
<b>Figura 7.</b>	Concentración de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en extracto tisular de hojas en <i>Cymbidium</i> sp. por efecto de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva A) Con uno y dos riegos a la semana, B) Con y sin fertilización foliar. DMS= diferencia mínima significativa.	<b>99</b>
<b>Figura 8.</b>	Concentración de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en el extracto tisular en hojas de <i>Cymbidium</i> sp. por efecto de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, A) con dos riegos a la semana y B) Con y sin fertilización foliar. Letras iguales en la barra indican valores estadísticamente no diferentes ( $p \leq 0.05$ ).	<b>101</b>
<b>Figura 9.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre la longitud del escapo floral en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>108</b>
<b>Figura 10.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el número de nudos en escapos florales en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>109</b>

<b>Figura 11.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre la distancia de entre nudos en escapos florales en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>110</b>
<b>Figura 12.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el diámetro de escapo floral en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>112</b>
<b>Figura 13.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el número de flores por escapo floral en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>113</b>
<b>Figura 14.</b>	Efecto de las relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre la vida de florero en la orquídea <i>Cymbidium</i> sp. producida en invernadero. (2)= riego cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.	<b>114</b>
<b>Figura 15.</b>	Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 80/20 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 88 cm, con cinco nudos y mayor diámetro basal (10.9 mm). B) mayor número de flores (9) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (38 días).	<b>116</b>
<b>Figura 16.</b>	Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 100/00 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 73 cm, con cuatro nudos y mayor diámetro apical (9.3 mm). B) mayor número de flores (8) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (37 días).	<b>117</b>
<b>Figura 17.</b>	Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 100/00 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 75 cm, con cuatro nudos y mayor diámetro parte media (9.3 mm). B) mayor número de flores (6) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (41 días).	<b>118</b>

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las orquídeas son una de las plantas ornamentales más apreciadas del mundo por su valor económico. La especie *Cymbidium* con potencial comercial por su alto costo como flor de maceta y de corte, se tienen reportes que se han cultivado desde la antigüedad en China. Los géneros más cotizados en el mercado desde 1993 hasta 2002 son: *Phalaenopsis* (30%), *Dendrobium* (20%), *Oncidium* (20%), *Cymbidium* (15%) y *Cattleya* (10%). Los países con mayor producción de orquídeas en maceta son China, Alemania, Japón, Países Bajos, Taiwan, Tailandia y los Estados Unidos de América. De manera reciente República Dominicana, Costa Rica y la India han iniciado la producción de orquídeas para la exportación.

En el 2009, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América (USDA) reportó la venta de 19.5 millones de orquídeas en maceta, con un total de venta al por mayor de \$ 160 millones de dólares, convirtiéndose como el cultivo de flores en maceta más valoradas en dicho país. Por tanto, la producción comercial de orquídeas se ha incrementado considerable en todo el mundo, convirtiéndose en un reto importante para los horticultores y conservacionistas, a fin de satisfacer la demanda de los consumidores y conservar de la mejor manera las poblaciones naturales de orquídeas, ya que la reproducción artificial es generalmente lenta y no puede satisfacer la demanda de los consumidores, éstos y otros retos importantes enfrentan los horticultores y conservacionistas. La expectativa actualmente de los cultivadores comerciales es la búsqueda de otras especies de orquídeas que presenten características atractivas para el consumidor, que puedan ser cultivadas y vendidas en los mercados masivos.



En el campo de la floricultura, México tiene un gran potencial, gracias a las favorables condiciones climáticas de algunas regiones para el desarrollo de la actividad y la cercanía geográfica con Estados Unidos de América, segundo consumidor de flores en el mundo, lo cual permite enviar los productos vía terrestre, garantizando la calidad de éstos, lo que no pueden hacer países que son grandes productores. En México, se producen alrededor de 50 tipos diferentes de flores, pese a la gran variedad que se puede producir no destaca el cultivo de orquídeas. En el comercio exterior las flores que sobresalen son la *Rosa* sp, *Gladiolus* sp, *Limonium sinuatum*, *Bellis perennis* y *Dianthus caryophyllus*. De 2000 a 2011 el valor de producción de la floricultura aumentó a una tasa media anual de 9.5%; para el último año, el valor alcanzado fue de 5 mil 646 millones de pesos. En 2011, el cultivo de la flor y plantas en maceta se realizó en 6 mil 439 ha, de las cuales se obtuvieron 53.6 millones de plantas, 27.6 millones de gruesas (rosas, crisantemos, claveles y gerbera), 13.7 millones de manojos (aster y estática), 8.4 millones de m<sup>2</sup> de pasto tapetes y 36 mil toneladas de flores como el girasol, principalmente. Según estimaciones, en el 2010 25 mil 500 productores, quienes encabezan estas actividades y generan alrededor de 188 mil empleos permanentes, 50 mil eventuales y 1 millón de indirectos. Sin embargo, México se encuentra por debajo del consumo promedio anual per cápita de plantas ornamentales, lo cual podría revertirse si se logra llegar a más gente. Siete de cada diez productores residen en el Estado de México, Distrito Federal, Jalisco, Morelos y Puebla.

En México, los trabajos de fertilización mineral por vías foliar y radical en la producción de orquídeas, así como los relacionados con la extracción de componentes aromáticos para la industria son escasos. En tanto que los países que más reportan trabajos sobre producción de estas orquídeas son: China, Japón, Estados Unidos y Brasil. Por lo anterior, se plantea la

siguiente investigación bajo el supuesto de que la fertilización foliar y radical mejora la producción y calidad en la floración de *Cymbidium* sp.

## **1. Objetivos**

### **1.1. Objetivo general**

- Cuantificar la respuesta de *Cymbidium* a la fertilización foliar y la nutrición vía radical en la producción de flores y aceites esenciales de esta orquídea.

### **1.2. Objetivos particulares**

- Identificar las estructuras de la lámina foliar y las rutas de penetración de un fertilizante foliar en *Cymbidium* sp.
- Identificar y cuantificar los componentes volátiles de la flor, ovario y residuo acuoso en *Cymbidium* sp.
- Evaluar el efecto de la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la cinética de crecimiento y floración en *Cymbidium* sp.

## **2. Hipótesis**

### **2.1. Hipótesis general**

- La aplicación del fertilizante foliar como complemento a la nutrición vía radical incrementara la producción de escapos florales y concentración de aceites esenciales en *Cymbidium* sp, producido en invernadero.

## 2.2. Hipótesis particulares

- La hoja coriácea, grosor de cutícula, posición de los estómas son las principales barreras y vías de penetración del fertilizante, posteriormente la absorción será vía apoplástica en células epidérmicas y su distribución en el parénquima esponjoso.
- La concentración de los componentes volátiles como terpenoides y compuestos fenólicos será mayor en la flor que en el ovario.
- La relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de las soluciones nutritivas empleadas en la nutrición de plantas de *Cymbidium* influencia el crecimiento y la vida postcosecha de la flor, siendo la relación óptima  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  para esta especie la de 80/20.

## 3. REVISIÓN DE LITERATURA

### 3.1. Origen y distribución de *Cymbidium* sp.

La familia *Orchidaceae* es la más grande dentro de las angiospermas, consta de más de 35,000 especies y 750 géneros aproximadamente, y están ampliamente distribuidas en regiones templadas y tropicales, a excepción de la Antártida, cuyas características estructurales y anatómicas son muy diversas (Bechetel *et al.*, 1992; Albert *et al.*, 2010; Yoshikawa *et al.*, 2013). Sharma *et al.* (2011) por su parte reportan que son 25,000 especies y más de 800 géneros; mientras que Cribb y Govaerts (2005) indican que son más de 25,000 especies descritas en 859 géneros.

La orquídea *Cymbidium* o “barco”, es un género que incluye de 44 a 50 especies terrestres, litófitas y epífitas, pertenece a la subfamilia *Epipedroideae*, tribu *Cymbidieae* y a la subtribu *Cymbidiinae*. Las orquídeas *Cymbidium* se distribuyen en las zonas tropicales de Asia (India,

China, Japón, Malasia, Filipinas y Borneo) y el norte de Australia, en donde por lo general crecen a altas elevaciones sobre el nivel del mar, en clima frío (Du Puy y Cribb, 1988; Sharma *et al.*, 2011). Sus flores hermosas y su capacidad para crecer y sobrevivir en ambientes fríos y templados, ha hecho que el género *Cymbidium* se cultivara durante miles de años. Desde China se expandieron gradualmente a otras partes del mundo, incluyendo Europa y América del Norte (Wu *et al.*, 2010). La popularidad de *Cymbidium* en América del Norte se refleja en una sociedad y una conferencia anual dedicada a este género (<http://www.cymbidium.org/>).

En México existen pocos viveros o invernadero productores de orquídeas los más destacados son: Vive Plants principal empresa mexicana productora de *Dendrobium*. Orquídeas Río Verde, productora de *Epicattleyas*, *Cattleyas*, *Dendrobiums*, *Phalaenopsis*, *Oncidiums*, *Paphiopedillum*, y de plantas en cultivo *in vitro*; Orquídeas Monarca empresa mexicana, principal productora de *Phalaenopsis*; Orquídeas Tahi empresa mexicana productora de *Phalaenopsis*; Invernaderos de Zitácuaro S. de R.L. productor de *Cymbidium*, agapando, anthurio, azucenas, girasol, iris, liatris, liliun, pompón y tulipán. Finalmente Chiapas Flower productor de *Cymbidium*, anturio, heliconias, follajes, anturio en maceta, *Phalaenopsis* en maceta y *Dendrobium* en maceta. Sin embargo la producción a nivel comercial de *Cymbidium* en México es muy baja y se da principalmente como flor de corte, por lo que su potencial de producción sería una alternativa rentable a nivel nacional y de exportación.

## **3.2 Morfología de *Cymbidium* sp.**

### **3.2.1. Raíz**

Las raíces de las especies de *Cymbidium* están cubiertas con un velamen y esta a su vez se subdivide en epivelamen y endovelamen. El velamen tiene múltiples capas de células, que van desde 3 hasta 5 en *C. karan* y de 10 hasta 16 células en *C. ensifolium*. Las células del epivelamen, capa más externa del velamen, son poligonales e isodiamétricas, mientras que las células del endovelamen por lo general son completamente anticlinales, en ocasiones isodiamétricas como en *C. dayanum* y *C. aliciae*. Por otra parte, las células exodermales tienen paredes delgadas o ligeramente engrosadas en algunas especies como *C. karan*. El córtex varía de 7 a 8 capas en *C. dayanum* y de 18 a 25 capas de células de grosor en *C. ensifolium*. La mayoría de las células en la capa media son de paredes delgadas, circulares u ovals o regulares. En raíces de orquídeas es común la presencia de pelotones y masas muertas de hifas de hongos. En las células de la capa media se presentan granos de almidón entrecruzados, sílice y rafídios se presentan en las células de la capa media. La endodermis y el periciclo son uniseriados. El cilindro vascular es diversamente poliarco; agrupaciones elípticas del floema desde ovals a circulares alternado con las fibras del xilema alrededor de la circunferencia del cilindro vascular. En todas las especies existe una médula central de células de paredes delgadas con prominentes espacios intercelulares (Yukawa y Stern, 2002; Du Puy y Cribb, 2007).

### **3.2.2. Pseudobulbos**

La cutícula del pseudobulbo es variable según la especie; en *C. aliciae* es de 2  $\mu\text{m}$ , mientras que en *C. tigrinum* de 42  $\mu\text{m}$ . No se encuentran estomas ni tricomas en este órgano, la

epidermis comprende formas de cuadros, rectángulos, células redondeadas u otras formas dependiendo de la especie. Las células de la epidermis constan de pared celular engrosada, a menudo en forma de U, cutícula gruesa en la mayoría de las especies. El tejido de la base consta de una amplia pared delgada con células con forma circular capaces de almacenar agua, en ocasiones con paredes rodeadas por pequeños espacios intercelulares triangulares, en el centro de la base del tejido están ocupados por xilema y floema, algunos rafidios aparecen en la base del tejido, los haces vasculares son numerosas y generalmente colaterales distribuidos en el tejido (Yukawa y Stern, 2002; Du Puy y Cribb, 2007).

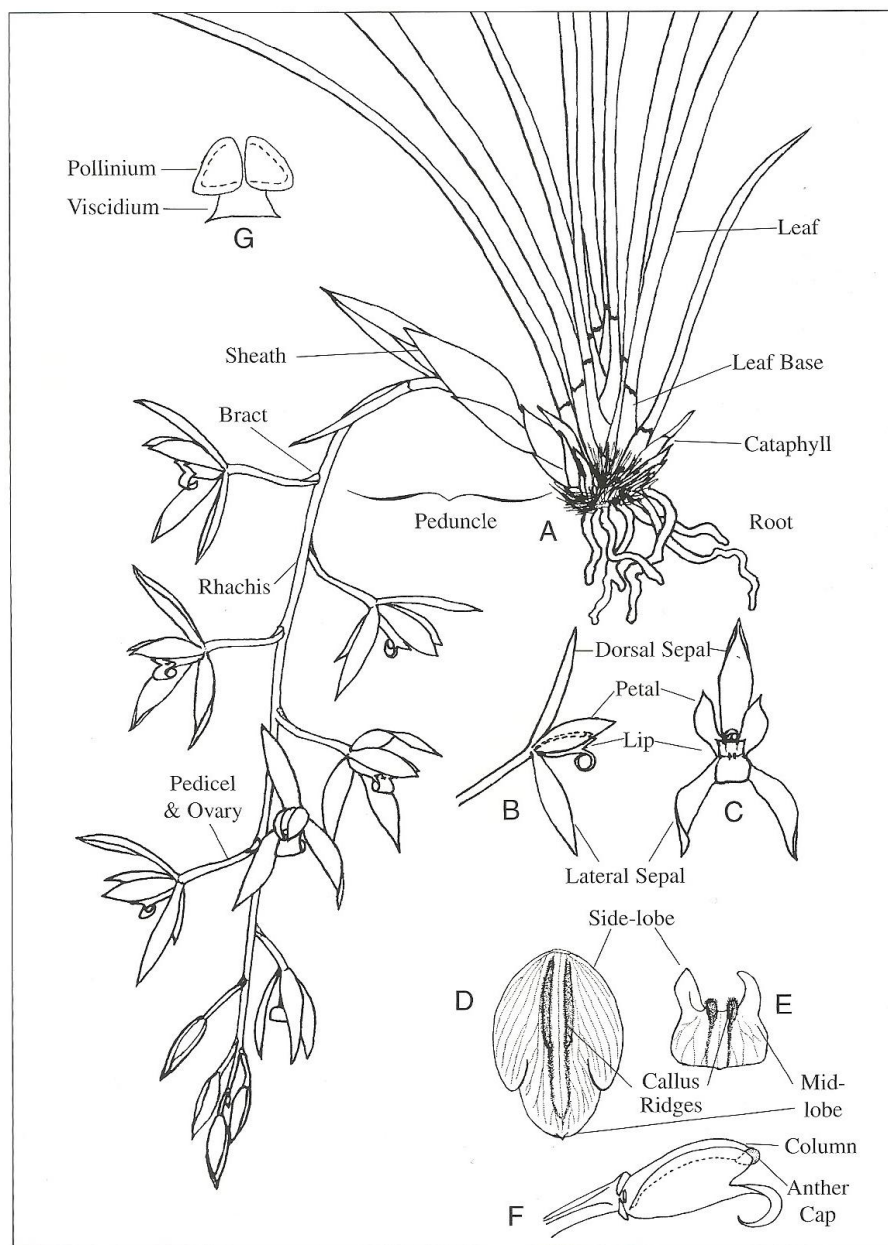
### **3.2.3. Hojas**

*Cymbidium* presenta entre 3 y 12 hojas alternadas sobre dos ejes opuestos (crecimiento dístico), sonde color verde. La lámina de la tienen un crecimiento dístico de 3-12 hojas, de color verde. La lámina de la hoja está articulada a la base del pseudobulbo por una zona de abscisión, y aunque la lámina es finalmente hoja caduca, por lo general persiste en los pseudobulbos entre 2 y 4 años. A menudo, en la base de las hojas se presenta un revestimiento que encierran completamente los pseudobulbos, persisten en él después de que la lámina ha sido cortada. Las hojas de *Cymbidium* son siempre duplicadas (dobladadas a lo largo de la vena central) o plegadas (acanaladas) cuando son maduras. Ninguna especie tienen hojas que puedan clasificarse como plegado verdadero (en forma de abanico). La mayoría de estas orquídeas tienen hojas relativamente delgadas con 3 mm de espesor aproximadamente y de textura flexible, aunque están en la categoría de hojas coriáceas (Withner *et al.*, 1975; Du Puy y Cribb 2007). Es posible que estas adaptaciones puedan estar relacionadas con el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Otras modificaciones en la forma de la hoja

pueden estar vinculadas a la ecología de las especies que incluyen hojas anchas y elípticas de especies de sombra como *C. lancifolium* y *C. devonianum* (Winter *et al.*, 1983; Du Puy y Cribb, 2007).

#### **3.2.4. Flores**

La inflorescencia de *Cymbidium* es erguida y no se ramifica, arqueada y con pedúnculos. El pedúnculo (escapo) generalmente está cubierto por cerca de ocho vainas. Uno a dos inflorescencias se desarrollan a partir de la base de los pseudobulbos maduros (Fig. 1). Las especies afines a *C. eburneum* producen inflorescencias en las axilas de las hojas, mientras que en *C. elongatum* y en *C. suave* las inflorescencias surgen en las axilas de las hojas superiores. En *C. lancifolium* surgen en uno de los nudos centrales de los pseudobulbos. Las flores generalmente son de entre 3 y 10 cm (de diámetro). El número de flores varía desde una en *C. goeringii* var. *Goeringii* y *C. eburneum*, hasta alrededor de 50 en *C. canaliculatum* y *C. suavissimum*. Cada flor tiene un ovario inferior y pedicelo corto que son difíciles de delimitar entre sí, y está suspendida por una pequeña bráctea escariosa. La flor comprende un sépalo dorsal y dos sépalos laterales, dos pétalos libres que pueden ser extendidos o cubriendo la columna, un labelo y una columna central. El labelo, que es un pétalo modificado, que está articulado a la base de la columna (Du Puy y Cribb, 2007).



**Figura 1.** Morfología de *Cymbidium*. A. Planta, B. Flores: vista lateral. C. Flor: vista frontal. D. Labelo: aplanado para medir las partes de sus estructuras. E. Labelo: vista frontal. El lóbulo es recurvado. F. columna y labio: vista lateral con pétalos y sépalos. G. Polinario rodeada por la antera. Du Puy y Cribb, 2007.



### **3.2.5. Semillas**

La semilla de *Cymbidium*, es muy diminuta, de entre 520-1900  $\mu\text{m}$  (0.5-1.9 ó 0.02-0.07 mm) de largo de forma fusiforme o filiforme. Consta de un embrión esférico sin endospermo cubierto por una testa delgada. Existen variaciones entre el tamaño y forma de las semillas en varias especies de *Cymbidium*, ejemplo de ello en *C. devonianum*, *C. elegans* y de *C. canalicatum* (sección *Austrucymbidium*) con las semillas más cortas de este género con tan solo 520-650  $\mu\text{m}$  de largo, mientras que las de *C. eburneum*, *C. lowianum* son los más grandes con forma fusiforme con 800-1200  $\mu\text{m}$  de largo; se han encontrado en *Cymbidium* secciones como *Jensoa* y *Pachyrhizantha*, y algunas especies de *Eulophia* semillas filiformes muy finas entre 1400-1900  $\mu\text{m}$  de largo (Du Puy y Cribb, 2007).

### **3.3. Requerimientos de temperatura**

La mayoría de las *Cymbidium*, incluidos sus híbridos prefieren lugares frescos o en condiciones controladas. En temperaturas cálidas las flores por lo general no duran tanto como en condiciones frescas. Las flores se adaptan a un intervalo de temperatura de entre 10 y 30 °C. Temperaturas fuera de éste intervalo causarán estrés, sin embargo, a finales de verano y principios de otoño, requieren temperaturas más bajas en la noche, para iniciar la formación de flores (temperatura máxima de 12 °C). Este descenso en la temperatura nocturna es esencial para garantizar la floración óptima. Eventos tales como amarillamiento de los botones en los tallos son debidos a las altas temperaturas nocturnas o bien a temperaturas extremadamente cálidas durante el día; por tanto, es necesario que se mantengan en lugar fresco hasta que florezcan (Du Puy y Cribb, 2007).

Went (1957) observó que plantas de la especie *C. giganteum* var. *lowianum* Rchb. f. no florecieron al cultivarlas entre 1 y 3 meses a temperaturas de 14-26 °C ó 14-23 °C, algunas inflorescencias se desarrollaron en 7-26 °C ó 10-26 °C, sin embargo donde obtuvieron la mayor floración se produjo con temperaturas de 10-20 °C y 14-20 °C. Así, las temperaturas del día y de la noche tienen efecto sobre la inducción floral. Los productores de *Cymbidium* en California proporcionan intensidades de luz relativamente altas y temperaturas nocturnas de 10 a 13 °C durante la iniciación del botón floral (Goh y Arditti, 1985).

En Japón, la temperatura que utilizan para la inducción floral es de 10 a 16 °C, y la temperatura acumulativa necesaria para la diferenciación de brotes es de 34,000 °C por la noche (se calcula multiplicando las horas de exposición por la temperatura a 10 ó 16 °C) (Ichihashi, 1997).

Powell *et al.* (1988) reportaron que plantas de *Cymbidium* Rahah Astronaut expuestas a temperaturas día-noche de 12-26 °C y un fotoperíodo de 14 h produjo un promedio de 5.9 inflorescencias por planta que aquellas expuestas a 12-20 °C ó 18-26 °C, sólo 0.8 y 1.7 inflorescencias se desarrollaron por plantas respectivamente.

#### **3.4. Fertilización foliar en orquídeas**

La fertilización foliar es una forma eficiente y económica de complementar los nutrientes a las plantas. Este método en orquídeas depende del tipo de crecimiento, el sustrato utilizado y las condiciones climáticas de cultivo. La aplicación foliar de nutrientes es una práctica común en

los invernaderos de orquídeas. Aunque son limitados los estudios de la absorción de nutrientes por aplicaciones foliares, lo cual es necesario demostrar su efectividad (Grossmann, 1997).

Los estudios sobre absorción y transporte de nutrientes en orquídeas son escasos; entre ellos una investigación sobre absorción y transporte de fósforo a través de hojas y raíces de *Phalaenopsis*; Al suministrar  $^{32}\text{P}$  a las raíces de *Phalaenopsis*, registrándose que el 13% de éste fue absorbido y transportado a la hoja. De la misma manera, cuando el  $^{32}\text{P}$  se suministró vía foliar, el 19% de éste se absorbió por las hojas y se trasloca hacia las raíces. Por lo tanto, la absorción del  $^{32}\text{P}$  a través de las hojas es comparable a la de las raíces. Por otra parte al realizar aplicaciones de  $^{32}\text{P}$  a las hojas maduras de *Cattleya* aproximadamente el 34% de la cantidad suministrada se encontró en los pseudobulbos 24 h más tarde. En este estudio, no está claro si el medio de crecimiento tiene algún efecto sobre la disponibilidad de  $^{32}\text{P}$  a las raíces y la eficiencia de la absorción de éste por las raíces y hojas. Se ha sugerido que la nutrición foliar, es más eficaz para las orquídeas CAM, si se realiza de noche, cuando los estomas están abiertos. Sin embargo, la ruta a través de los estomas en las hojas es una de las rutas sugeridas por la planta ( Sheehan *et al.*, 1967; Poole y Sheehan, 1980).

Barman *et al.* (2012) al evaluar el efecto de diferentes tipos de sustratos y la frecuencia de aplicaciones foliar NPK 19-19-19 (semanal y quincenal), a concentraciones de  $1 \text{ g L}^{-1}$  en el híbrido "H.C. Aurora" de *Cymbidium* observaron que las aplicaciones quincenales influyeron significativamente en el crecimiento y floración, donde los números máximos de brotes fueron 4.54, la longitud de espigas 54.59 cm y el número de flores por espiga fueron 10.19.

### **3.5. Factores que influyen en la penetración de fertilizantes foliares**

#### **3.5.1. Factores ambientales**

La absorción foliar en plantas está determinada por muchas características, entre las que se encuentran la morfología de la hoja, la estructura, posición, la exposición al sol o la velocidad de los procesos fisiológicos de la planta. Las condiciones ambientales predominantes durante el crecimiento vegetal tienen una influencia directa sobre la superficie de la hoja, en términos del espesor de cutícula y composición de las ceras epicuticulares (Bird y Gray, 2003; Koch *et al.*, 2006). En contraste, se ha observado que las temperaturas altas modifican la morfología y la composición de las ceras epicuticulares (Riederer y Schneider, 1990; Welker y Haas, 1999).

Evidencias recientes sugieren que la cutícula puede desempeñar un papel fundamental en el control ambiental del desarrollo de células epidérmicas (Bird y Gray, 2003). Se ha demostrado que la composición de las ceras cuticulares tiene una influencia sobre el grado de desarrollo de estomas en la epidermis de la hoja. Sin embargo, no es claro si los lípidos cuticulares son moléculas de señalización en el desarrollo o si están involucrados indirectamente, que en última instancia afecta la tasa de penetración de solutos destinados a las hojas de las plantas (Holroyd *et al.*, 2002; Bird y Gray, 2003).

#### **3.5.2. Composición química del fertilizante foliar**

De acuerdo con la Ley de Fick, el gradiente de concentración es la fuerza impulsora para la difusión. Las tasas de penetración de la difusión de cualquier soluto aplicado externamente a través de la superficie de la hoja, depende tanto de su concentración en la superficie de la hoja y dentro de ésta. La concentración de un soluto dentro de la hoja, es decir, en el apoplasto

depende de la naturaleza del compuesto y de los factores asociados a la planta, tales como la movilidad y la tasa de absorción en las células de la epidermis y del mesófilo (Grignon *et al.*, 1999; Ewert *et al.*, 2000). Por tanto, se puede concluir que las tasas de absorción foliar se rige principalmente por la concentración externa de los solutos.

La relación entre la concentración de la solución aplicada y las tasas de penetración foliar no está bien claro. Aunque varios estudios indican que hay una relación positiva entre la concentración de la solución foliar y la tasa de penetración para ciertos elementos y especies de plantas (en frutales y vegetales) (Schönherr, 2001; Zhang y Brown, 1999). Por el contrario, al trabajar con Fe sobre la cutícula de (*Populus x canescens* y *Vici faba*) Schönherr *et al.* (2005) y Schlegel *et al.* (2006) encontraron una relación negativa entre la concentración y la tasa de penetración expresada en porcentaje de la cantidad aplicada, la cual sin embargo representó, una alta concentración de la penetración de Fe en las hojas.

### **3.5.3. Tamaño de la gota y la forma de aspersión**

La mayoría de los estudios relacionados con las técnicas de aplicación y rendimiento se han llevado a cabo con pesticidas y herbicidas (Leaper y Holloway, 2000; Steiner *et al.*, 2006; Wang y Liu, 2007). El proceso de aspersión implica una serie de eventos complejos relacionados entre sí, la formulación de un ingrediente activo, la atomización de la solución, el transporte de la pulverización a la superficie de la planta, la difusión, la retención en la superficie de las hojas, la formación de residuos y la penetración en la hoja (Brazee *et al.*, 2004).

La aplicación de una formulación foliar implica la trayectoria del líquido a través de un sistema de generación en aerosol para producir gotitas, que son comúnmente boquillas de presión (Butler Ellis *et al.*, 1997). Este método de tratamiento es inherentemente ineficiente, ya que sólo una cantidad limitada de líquido se reúne en la superficie de la hoja debido a las pérdidas relacionadas, con la reflexión de la gota, el escurrimiento y la evaporación (Leapery Holloway, 2000; Wang y Liu, 2007). Los principales factores que están influenciados por el funcionamiento de las boquillas son el riego que deriva de la pulverización, la distribución de depósito en las superficies de destino y el modo de acción del ingrediente activo en la superficie de la hoja.

Por otra parte, el rendimiento de la boquilla depende de la interacción entre las propiedades físico-químicas de la solución pulverizante y el diseño de la boquilla (Miller y Butler Ellis, 2000). La eficiencia de pulverización también se puede mejorar mediante el cambio de volumen de pulverización ya sea un aumento en la presión o un cambio en la punta de la boquilla (Shaw *et al.*, 1987). Además de las características de las boquillas y de la solución, la eficiencia de retención en el follaje de las plantas depende de muchos factores, incluyendo el clima predominante y orientación (Bukovac *et al.*, 2002). Si las hojas están mojadas por la lluvia, rocío o bien se aplica un gran volumen de pulverización, existe una mayor probabilidad de que se dé el escurrimiento y la retención disminuirá (Zabkiewicz, 2000).

#### **3.5.4. La formulación de adyuvantes**

La presencia y la topografía de ceras epicuticulares en la superficie de las hojas hacen que difícilmente las plantas se mojen (Schönerr, 2000). Y en función de sus características es

posible que las gotas de una solución acuosa solo hagan contacto con las estructuras de las ceras (Neinhuis y Barthlott, 1997). La adición de adyuvantes pueden modificar las propiedades fisicoquímicas de la solución y pueden permitir humectación efectiva de la superficie de la hoja (Schönherr, 2000). Los adyuvantes se definen como cualquier sustancia en una formulación que modifica la actividad del ingrediente activo o las características de la pulverización (Hazen, 2000).

### **3.6. Absorción de $\text{NO}_3^-$ y $\text{NH}_4^+$ en orquídeas**

La adquisición del nitrógeno por las plantas se basa en los sistemas de transporte de la membrana plasmática de las células radicales, la arquitectura del sistema radical y los mecanismos que regulan la actividad de los sistemas de transporte del N. Factores externos, tales como el amonio del suelo ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), compuestos orgánicos, el pH del suelo, la luz y la temperatura, así como factores internos tales como el carbono (C) y los metabolitos, son mediadas por las plantas para regular la absorción del N. Sistemas de transporte de alta afinidad (HATS) en las raíces son capaces de secuestrar el  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , desde el suelo a concentraciones entre 1  $\mu\text{M}$  mientras que la actividad de los sistemas de transporte de baja afinidad (LATS) se hace evidente cuando estos iones son abundante (por encima de 0.5 mM, una concentración supera al menos temporalmente en todos los sistemas de cultivo) (Jackson *et al.*, 2008).

Para muchas plantas, el  $\text{NO}_3^-$  es reducido y asimilados en la raíces, pero la mayor parte es transportada a los brotes, donde es reducido primero a nitrito por la enzima nitrato reductasa en el citoplasma, y posteriormente el nitrito reducido a amonio por la enzima nitrito reductasa

en el plastidio. Después del proceso de reducción del  $\text{NO}_3^-$ , inician los procesos de asimilación realizados por la enzima glutamina sintetasa (GS) es en plastidio y citoplasma. El amonio se deriva a partir del nitrato o es absorbido directamente por los transportadores de amonio ( $\text{AMT}_s$ ), y es asimilado en los aminoácidos a través del ciclo de GS/glutamina-2-oxoglutarato amino-transferasa (GOGAT) (Xu *et al.*, 2012).

La asimilación de nitrógeno en las plantas en general ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, hay poca información sobre la absorción, transporte y el almacenamiento de nitrógeno en orquídeas (Hew *et al.*, 1993).

Trabajos realizado por Rui-Chi y Jun-Xian, (1994) evaluaron el efecto de  $\text{NO}_3^-$ -N y  $\text{NH}_4^+$ -N en *Cymbidium sinense* (Andr.) Willd. a concentraciones de 1 a 10  $\text{mmol L}^{-1}$  en un medio sin suelo. Observaron que a 1  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ -N y  $\text{NH}_4^+$ -N la tasa de crecimiento en hojas era similar. Al aumentar la concentración de  $\text{NH}_4^+$ -N a 50  $\text{mmol L}^{-1}$  la tasa de crecimiento en las hojas se redujo drásticamente. La mayor formación de flores y capullos, se tuvo con el tratamiento de las plantas con  $\text{NO}_3^-$ -N a concentraciones de 1 y 10  $\text{mmol L}^{-1}$ . Los autores sugieren que durante la etapa vegetativa deben de aplicarse concentraciones bajas de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ , mientras que en la etapa reproductiva (diferenciación de yemas florales) es favorable la aplicación de  $\text{NO}_3^-$ -N a concentraciones de 1 y 10  $\text{mmol L}^{-1}$ . Se considera que el lento crecimiento de *C. sinense* puede deberse a su menor tasa de fotosíntesis y baja actividad de la enzima nitrato reductasa.



Al estudiar la absorción de  $\text{NO}_3^-$ -N y  $\text{NH}_4^+$ -N en dos orquídeas terrestres (*Bromhedia finlaysonia* y *Cymbidium sinense*) y una epífita (*Dendrobium* “White Fairy”) cultivadas en solución nutritiva, observaron que las tasas de absorción de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  fueron lineales, siendo más altas para  $\text{NH}_4^+$ , mencionan que la absorción de nitrato en las tres especies de orquídeas fueron 10 veces menor que otras plantas de cultivo como las monocotiledóneas (Hew *et al.*, 1993).

Trabajos realizados en la misma orquídea *Cymbidium sinense* indican que el crecimiento de hojas y raíces es más rápido cuando se les suministra nitrato de amonio  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , sin embargo el contenido de clorofila en hojas es más alta en la plantas cultivadas solo con  $\text{NH}_4^+$  (Hew y Young, 2004).

Al evaluar el efecto de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  en el cultivo de *Phalaenopsis* con dos tipos de sustratos: musgo y mezcla de cortezas, encontraron que la mayor área de hoja, longitud de la hoja, floración temprana, número de flores, diámetro de flores, área de flores y longitud de tallo, se obtuvo con las concentraciones de 50, 75 y 100 % de  $\text{NO}_3^-$ , mientras que con la adición de  $\text{NH}_4^+$  no se observaron tales efectos (Wang, 2008). Si el  $\text{NH}_4^+$  es la principal fuente de N en la solución de nutrientes, puede dar lugar a toxicidad. En algunos casos el  $\text{NH}_4^+$  es deseable ya que en experimentos se han demostrado que su presencia en la solución nutritiva estimula la absorción de  $\text{NO}_3^-$ . Plantas con un suministró exclusivo de  $\text{NH}_4^+$ -N tienen altas demandas de esqueletos de carbono para la asimilación de éste y un alto consumo de  $\text{O}_2$ , lo que resulta en una baja concentración de azúcar en las raíces y pobre crecimiento de plantas (Matsumoto y Tamura, 1981; Arnozis *et al.*, 1988; Wang, 2008). Las variaciones de porcentaje de cada fuente dependerán de las especies de plantas, y de la etapa de crecimiento (Jones, 2005).

### 3.7. Importancia medicinal de *Cymbidium* sp.

Desde tiempos antiguos la familia *Orchidaceae* se ha utilizado no sólo para fines ornamentales, sino también como plantas medicinales, para tratar la parálisis, diarrea y úlceras, por lo tanto, puede decirse que es una fuente prodigiosa de nuevos fármacos (Kovacs *et al.*, 2008). El polvo de las raíces secas de *Cymbidium aloifolium* lo han utilizado para curar la parálisis. El extracto de las hojas se utiliza para tratar las infecciones cutáneas y fiebre. También lo han utilizado como tónico y para el tratamiento del dolor de oído, enfermedades crónicas, debilidad de ojos, vértigo, quemaduras y llagas (Hossain *et al.*, 2009). Diversas investigaciones han reportado la existencia de sustancias bioactivas en la familia *Orchidaceae*, ejemplo de ello son cuatro derivados de fenantreno (ephemeranthoquinone B, marylaurencinols A y B, y marylaurencinoside A), seis fenantrenos y sus actividades antibacteriales y citotóxicas, aislados de las raíces frescas de *Cymbidium* Gran Flor Marie Laurencin (Yoshikawa *et al.*, 2011).

En otro estudio, se evaluó el efecto del extracto etanólico de hojas en *Cymbidium aloifolium* (L.), en sistema nervioso central (SNC), utilizando varios modelos experimentales neurofarmacológicos en ratones. Los resultados sugieren que el extracto etanólico a una dosis de 200 a 400 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal; demostró tener actividad depresora del SNC mediante la reducción de la actividad locomotora y exploratoria tanto en pruebas de comportamiento en campo abierto y ensayos de cruce de un agujero (hole cross test), en comparación con el control (Howlader y Alam, 2011). La actividad locomotora se refiere a un aumento en el estado de alerta y a la disminución de la actividad locomotora considerada como efecto sedante. El principal neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central es el ácido

gamma amino butírico (GABA). Los diferentes tipos de ansiolíticos, relajantes musculares, drogas sedativas hipnóticas, muestran su acción a través de GABA<sub>A</sub>, esta es la razón del porqué los extractos de *Cymbidium aloifolium* probablemente actúen mediante la hiperpolarización de la membrana que potencializa la inhibición del receptor GABA-érgico inhibiendo el SNC, que conduce o a la disminución de la frecuencia de descargas de neuronas críticas en el cerebro o la activación directa de receptores GABA por los extractos. Diferentes tipos de flavonoides y esteroides neuroactivos fueron unidos a los receptores GABA<sub>A</sub> en el sistema nervioso central, lo que indican que actúan como moléculas del tipo benzodiazepinas (Khatun *et al.*, 2011). Una revisión de literatura revela que *Cymbidium aloifolium*, contiene flavonoides, azúcares reductores, glucósidos cianogénicos, terpenos y taninos (Maridass *et al.*, 2008).

El aislado de la orquídea *C. goeringii* (cimbidina A) es un monómero relacionado con los peptidoglicanos que implican cuatro aminoácidos (D-alanina, ácido meso diaminopimélico, ácido D-glutámico y L-valina) y dos amino azúcares (N-acetilglucosamina y 1,6-anhidroácido N-acetilmurámico). Estos compuestos mostraron actividad hipotensora y actividad diurética (Watanabe *et al.*, 2007).

### **3.8. Métodos y técnicas de análisis en aceites esenciales**

Para conocer la cantidad y calidad de los aceites esenciales en plantas aromáticas se han desarrollado métodos de extracción así como técnicas cromatográficas. Los métodos de extracción más comunes son la destilación por arrastre de vapor, la hidrodestilación y extracción con destilación simultánea (Bayramoglu *et al.*, 2008; Lemberkovicks *et al.*, 2003).

En relación a técnicas de análisis cromatográfico se tiene a la cromatografía de capa fina (CCF), que es una técnica muy sensible y económica y es utilizada en la caracterización preliminar de los aceites esenciales (Pyka *et al.*, 2005) Otras técnicas especiales para el análisis de aceites esenciales son la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y olfatometría (CG-EM-O). Existen otras técnicas menos habituales como la cromatografía de gases multidimensional (MDGC) y la del acoplamiento directo de cromatografía de líquidos y cromatografía de gases (LC-GC) que permiten el fraccionamiento selectivo de distintos grupos de compuestos sin recurrir a la preparación de muestras (Herraiz, 2007). Estas técnicas permiten tener un perfil detallado de los componentes de los aceites esenciales; así como la cantidad de cada uno de sus componentes volátiles (Goodner *et al.*, 2006).

### **3.9. Constituyentes químicos activos**

Según Bourgaud *et al.* (2001), las propiedades medicinales y aromáticas resultan de constituyentes químicos que se encuentran en el tejido vegetal y son conocidos por tener un papel importante en la adaptación de las plantas a su ambiente, debido a que actúan como sustancias de protección para la planta, al evitar el ataque de algunos insectos y otros animales. Estos constituyentes químicos derivan del metabolismo secundario y son clasificados de acuerdo con su ruta biosintética. Las dos rutas principales son la del ácido shikímico y la del mevalónico. Dewick (2002) menciona que los alcaloides, antraquinonas, glicósidos cardiacos, cumarinas, flavonoides, irridoides, esteroides, fenilpropanoides y terpenos son los constituyentes asociados con las plantas medicinales y aromáticas. Estos componente están formados principalmente por C, H, y O y algunos contienen N y S.

La estructura molecular, grupos funcionales y la estereoquímica son los factores que determinan las propiedades químicas de una molécula y su bioactividad. Los aceites esenciales pertenecen al grupo de los terpenos y están implicados en las relaciones ecológicas de las plantas que los producen, ya que debido a sus propiedades organolépticas atraen insecto y a otros animales que favorecen la polinización (Gershenzon y Croteau, 1991; Bakkali, *et al.*, 2008). Los aceites esenciales son mezclas volátiles de diferentes sustancias orgánicas liposolubles (Sangwan *et al.*, 2001), formadas por unidades de 5 C llamadas prenilo y se dividen en dos clases: monoterpenos (C<sub>10</sub>) y sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) presentan grupos funcionales como los alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres. Muchos de estos compuestos se acumulan en estructuras vegetales específicas tales como ductos, cavidades secretoras y tricomas glandulares (Gershenzon y Croteau, 1991), las cuales pueden estar distribuidas en hojas, tallos y raíces (Sangwan *et al.*, 2001). Estas características permiten su fácil extracción por procesos simples de destilación (Carrubba y Catalano, 2009). De acuerdo con Başer y Demirci (2007) existen dos rutas metabólicas independiente para la síntesis de terpenos: la del mevalonato y la del fosfato deoxixilulosa. La que corresponde a las plantas superiores y algunas algas es la ruta del mevalonato que a partir del AcetilCoA y a través de la vía del ácido mevalónico (MVA) son sintetizados. La segunda ruta corresponde a la ruta fosfato deoxixilulosa y es propia de bacterias y organismos fototróficos (Başer y Demirci, 2007).

Debido la importancia ornamental que tiene *Cymbidium* por su alto valor económico, ya sea en planta o como flor de corte, se tiene un gran potencial de cultivo, gracias a las favorables condiciones climáticas de muchas regiones de país para su producción. El manejo de la

fertilización foliar y radical, bajo condiciones de invernadero, es uno de los tantos factores que pueden ser utilizados con la finalidad de incrementar la calidad de la planta y flor, asimismo explotar el rendimiento y la calidad de los aceites esenciales. Por lo tanto, en la presente investigación se aborda en primera instancia la caracterización de lámina foliar y la ruta de penetración de un fertilizante foliar en *Cymbidium*, el efecto de las relaciones de fuente de N ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) en la solución nutritiva, en el crecimiento y floración bajo condiciones de invernadero y la caracterización de los componentes volátiles en los órganos florales de esta orquídea, los resultados se presentan en tres capítulos. Dos capítulos corresponden al trabajo desarrollado en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo en el Estado de México y el tercero corresponde a la investigación realizada en la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” en Urupan, Michoacan, México.

#### **4. Bibliografía citada**

Albert N., W., Arathoon A., Collette V., E, Schwinn K., E, Jameson, E., P, Lewis D., H, Zhang H., and K. Davies M. 2010. Activation of anthocyanin synthesis in *Cymbidium* orchids: variability between known regulators. *Plant Cell Organ Cult* 100: 355-360.

Arnozis P., A., J. Nelemans A. and G. Findenegg R. 1988. Phosphoenolpyruvate carboxylase activity in plants grown with either  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$  as inorganic nitrogen source. *J. Plant Physiol.* 132: 23-27.

Bakkali F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology.* 46(2): 446-475.

- Barman D., T. Bharathi U., and R. Medhi P. 2012. Effect of media and nutrition on growth and flowerin of *Cymbidium* hybrid 'H.C. Aurora'. Indian Journal of Horticulture. 69 (3): 395-398.
- Başer H., K., C. y F. Demirci. 2007. Chemistry of essential oils. *In*: Flavours and fragrances. Bergeer R. G. (Ed.) Springer. Berlín pp: 648.
- Bayramoglu B., S. Sahin and G. Summu. 2008. Solven-free microwave extraction of essential oil from oreganum. Journal of Food Engineering 88:355-540.
- Bechetel H., P. Cribb and E Launert. 1999. The manual of cultivated orchid species, 3rd edn. MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Bird S., M., and J. Gray E. 2003. Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. New Phytol. 157: 9-23.
- Bourgaud F., A. Grovot, S. Milesi, and E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science 161: 839-851.
- Braze R., D., M. Bukovac J., and H. Zhu. 2004. Diffusion model for plant cuticular penetration by spray-applied weak organic acid bioregulator in presence or absence of ammonium nitrate. Trans. Amer. Soc. Ag. Eng. 47(3): 629-635.
- Bukovac M., J., J. Cooper A. R. Whitmoyer E., and R. Brazee D. 2002. Spray application plays a determining role in performance of systemic compounds applied to the foliage of fruit plants. Acta Horticulturae 594: 65-75.
- Butler Ellis M., C., C. Tuck R., and P. Miller C. H. 1997. The effect of some adjuvants on sprays produced by agricultural flat fan nozzles. Crop Protection 16: 41-50.

- Carrubba A. and C. Catalano. 2009. Essential oil crops for sustainable agriculture. A review. In: Climate change intercropping pest control and beneficial microorganisms. E. Lichfouse (Ed.) Springer Netherlands. Vol 2. pp: 137-187.
- Cribb P. and Govaerts R. 2005. Just how many orchids are there? *In*: Raynal-Roques A, Roguenant A, Prat D, Eds. Proceedings of the 18 World Orchids Conference. Dijon. France pp: 161-172.
- Cymbidium* Society of America, INC. An International Orchid Society. Disponible en línea. <http://www.cymbidium.org/>. (Revisado el 15 de Julio del 2013).
- Dewick P., M. 2002. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. Second edition. Wiley & Sons. Great Britain. pp: 507.
- Du Puy D. and P. Cribb J. 2007. The genus *Cymbidium*. Royal Botanic Gardens, Kew Publishing. pp. 369.
- Du Puy D. and P. Cribb J. 1988. The genus *Cymbidium*. C. Helm, London & Timber Press, Portland, Oregon.
- Ewert M., S., W. Outlaw Jr. H., Zhang S., Aghoram K., and K. Riddle A. 2000. Accumulation of an apoplastic solute in the guard-cell wall is sufficient to exert a significant effect on transpiration in *Vicia faba* leaflets. *Plant Cell Environ.* 23: 195-203.
- Gershenzon J. and R. Croteau. 1991. Terpeoids. *In*: Hervibores: their interactions with secondary metabolites. G. A. Rosenthal y M. R. Berenbaun (Eds) Academic Press Inc. United States of America. pp: 457.



- Goh C. J. and Arditti J. 1985. Orchidaceae. Handbook of flowering. *In*: A.H. Halevy (ed). CRC Press, Boca Raton, Fla. 1: 309-336.
- Goodner K., L., K. Mahattanatawee, A. Ploto, J. Sotomayor A., and M. Jordán J. 2006. Aromatic profiles of *Thymus hyemalis* and Spanish T. *vulgaris* essential oils by GC-MS/GC-O. *Industrial Crops and Product* 24: 264-268.
- Grignon N., Jeusset J. Lebeau E. Moro C. Gojon A. and P. Fragu. 1999. SIMS localization of nitrogen in the leaf of soybean: basis of quantitative procedures by localized measurements of isotopic ratios. *Journal of Trace Microprobe Techniques* 17: 477-490.
- Grossmann J. 1997. Foliar fertilization of orchids. *Horticultural Crops Plant Nutrition Series. Department of Horticultural Sciences. Vol. VIII.*
- Hazen J., L. 2000. Adjuvants—Terminology, classification, and chemistry. *Weed Technology* 14: 773-784.
- Herraiz C., M. 2007. Nuevas perspectivas en la investigación y desarrollo de las plantas aromáticas y medicinales. *In*: Jornadas Técnicas dedicadas a las plantas aromáticas y medicinales. Brihuega, España. pp: 1-78.
- Hew C., S. L. Lim Y., and C. Low M. 1993. Nitrogen uptake by tropical orchids. *Environmental and Experimental Botany* 2(33): 273-281.
- Hew C.S. and W. Young. 2004. *The physiology of tropical orchids in relation to the industry.* British Library. 2nd ed. World Scientific Publishing Singapore. 329 p.
- Holroyd G., H., A. Hetherington M., and J. Gray E. 2002. A role for the cuticular waxes in the environmental control of stomatal development. *New Phytologist* 153: 433-439.

- Hossain M., M., Madhu S. and P. Promila. 2009. Cost effective protocol for in vitro mass propagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.- a medicinally important orchid. *Engineering in Life Science* 9(6): 444-453.
- Howlader M., A. and M. Alam. 2011. Central nervous system depressant effects of the ethanolic extract of *Cymbidium aloifolium* (L.). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 1(09): 60-62.
- Ichihashi S. 1997. Orchid production and research in Japan. In: Arditti, J., Pridgeon, A.M. (Eds.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands.
- Jackson L., E., Burger M. and R. Cavagnaro. 2008. Roots, Nitrogen Transformations, and Ecosystem Services. *Annual Review of Plant Biology* 59: 341-63.
- Jones B., J. J. 2005. *Hydroponics. A Practical Guide for the Soilless Grower*. Second Edition. CRC. PRESS. Florida. USA. 424 p.
- Khatun M., H., M. Islam R., Mamun A., Nahar L., Luthfunnesa, and M. Islam A. U. 2011. *In vivo* Evaluation of CNS Depressant and Antinociceptive activities of Methanol Extract of *Hibiscus sabdariffa* Fruits' *Journal of Applied Sciences Research* 7(6): 798-804.
- Koch K., K. Hartmann D., Schreiber L., Barthlott W., and C. Neinhuis. 2006. Influence of air humidity on epicuticular wax chemical composition, morphology and wettability of leaf surfaces. *Environmental and Experimental Botany* 56: 1-9.
- Kovács A., Vasas A. and J. Hohmann. 2008. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry* 69: 1084-1110.

- Leaper C., and P. Holloway J. 2000. Adjuvants and glyphosate activity. *Pest Management Science* 56: 313-319.
- Lemberkovics E., A. Kéry, A. Kakasy and B. Simándi. 2003. Effect of extraction methods on the composition of essential oils. *Acta Horticulturae* 597:49-55.
- Maridass M., M. Hussain I. Z., and G. Rajuac. 2008. Phytochemical survey of orchids in the tirunelveli hills of South India. *Ethnobotanical Leaflets* 12: 705-712.
- Matsumoto H. and K. Tamura. 1981. Respiratory stress in cucumber roots treated with ammonium or nitrate nitrogen. *Plant Soil* 60: 195-204.
- Miller P., C., H. and M. Butler Ellis C. 2000. Effects of formulation on spray nozzle performance for applications from ground-based boom sprayers. *Crop Protection* 19: 609–615.
- Neinhuis C. and W. Barthlott. 1997. Characterization and distribution of waterrepellent, self cleaning plant surfaces. *Ann. Bot* 79: 667-677.
- Poole H., D. and T. Sheehan B. 1980. Mineral nutrition of orchids. *In: J. Arditti (ed), Orchids Biology: Reviews and Perspective II* pp: 197-211.
- Poole H., D. and T. Sheehan B. 1980. Mineral nutrition of orchids.. *In: J. Arditti (ed), Orchids Biology: Reviews and Perspective II (1982)* pp. 197-211.
- Powell C., L., K. Caldwell I. R. Littler A., and I. Warrington. 1988. Effect of temperatura regime and nitrogen fertilizer level on vegetative and reproductive bud development in *Cymbidium* orchids. *Journal of the Amercan Society for Horticultural Science* 113: 552-556.
- Pyka A., Gurak D., Bober K., Klimaczok W., and G. Janikowska. 2005. Influence of the mobile and stationery phases on the separation of selected essential oil

components and aroma substances investigated by TLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 28: 2525-2537.

Riederer M. and G. Schneider. 1990. The effect of the environment on the permeability and composition of Citrus leaf cuticles. II. Composition of soluble cuticular lipids and correlation with transport properties. *Planta* 180: 154-165.

Rui-Chi P, and C. Jun-Xian. 1994. Effects of nitrate-nitrogen and ammonium-nitrogen of growth and development in *Cymbidium sinense*. *Acta Botanica Yunnanica* 16(3): 285-290.

Sangwan N., S., A. Farooqi H. A. Shabih F. and R. Sangwan S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plants Growth Regulation* 34: 3-21.

Schlegel T. Schönherr J. and L. Schreiber. 2006. Rates of foliar penetration of chelated Fe(III): role of light, stomata, species, and leaf age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 6809-6813.

Schönherr J. 2000. Calcium chloride penetrates plant cuticles via aqueous pores. *Planta* 212: 112-118.

Schönherr J. 2001. Cuticular penetration of calcium salts: effects of humidity, anions, and adjuvants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164: 225-231.

Schönherr J. Fernández V. and L. Schreiber. 2005. Rates of cuticular penetration of chelated Fe-III: Role of humidity, concentration, adjuvants, temperature, and type of chelate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4484-4492.

- Sharma S., K. Kumaria S., Tandon P., and S. Rao. 2011. Single primer amplification reaction (SPAR) reveals inter-and intra-specific natural genetic variation in five species of *Cymbidium* (Orchidaceae). *Gene* 483: 54-62.
- Shaw G., B., R. McKercher B., and R. Ashford. 1987. The effect of spray volume on spray partitioning between plant and soil. *Plant Soil* 100: 323-331.
- Sheehan T., J., J. Joiner N., and J. Cowart K. 1967. Absorption of P<sup>32</sup> by *Cattleya* 'Trimos' from foliar and root applications. *Florida Agricultural Experiment Stations Journal Series*. No. 2812.
- Steiner C., M. Destain F. Schiffers B. and F. Lebeau. 2006. Droplet size spectra and drift effect of two phenmediapham formulations and four adjuvant mixtures. *Crop Protection*. 25: 1238-1243.
- U. S. Department of Agricultura. 2010. Floriculture crops. 2009 summary. *Agr. Stat. Board*, Wash., D.C.
- Wang C. J. and Z. Liu Q. 2007. Foliar uptake of pesticides - present status and future challenge. *Pesticides Biochemistry and Physiology* 87: 1-8.
- Wang Y., T. 2008. High NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N to NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N Ratios Promote Growth and Flowering of a Hybrid *Phalaenopsis* Grown in Two root Substrates. *HortScience* 43(2): 350-353.
- Watanabe K., Tanake R., Sakurai H., Iguchi K., Yamada Y., C. Hsu S., Sakuma C., Kikuchi H., Shibayama H., and T. Kawai. 2007. Structure of cyomidine A, a monomeric peptidoglycan-related compound with hypotensive and diurec activities, isolated from a higher plant, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *Chemical Pharmaceutic Bulletin*. 55: 780-783.

- Welker O. A. and K. Haas. 1999. Temperature-depending micromorphology of epicuticular wax in cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). *Journal. App. Bot* 73: 99-104.
- Went F., W. 1957. The experimental control of plant growth. *Chron. Bot* 17: 148-152.
- Winter K., B. Wallace J. G. Stocker C., and Z. Roksandic. 1983. Crassulacean Acid Metabolism in Australian vascular epiphytes and some related species. *Oecologia* 57: 129-141.
- Withner C., L., P. Nelson H., and P. Wejksnora J. 1975. The anatomy of the orchids. *In:* Withner, C. L., ed. *The Orchids, Scientific Studies*: J. Wiley & Sons, New York pp: 267-347.
- Wu J., H. Ma M., Lü S., Han Y., Zhu H., Jin J., Liang, L. Liu and J. Xu. 2010. Rhizoctonia fungi enhance the growth of the endangered orchids *Cymbidium goeringii*. *Botany* 88: 20-29.
- Xu G., Fan X. and J. Miller A. 2012. Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual. Review of Plant Biology*. 63:153-82.
- Yoshikawa K., Otsu M., Ito T., Asakawa Y., Kawano S., and T. Hashimoto. 2013. Aromatic constituents of *Cymbidium* Great Flower Marie Laurencin and their antioxidative activity. *Journal of Natural Medicines* 67(1): 217-221.
- Yoshikawa S., Ito T., Iseki K., Baba C., Imagawa H., Yagi Y., Morita H., Asakawa Y., Kawano S., and T. Hashimoto. 2011. Phenanthrene derivatives from *Cymbidium* Great Flower Marie Laurencin and their biological activities. *Journal of Natural Products* 75(4): 605-9.

Yukawa T. and W. Stern. 2002. Comparative vegetative anatomy and systematic of *Cymbidium* (*Cymbidieae: Orchidaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society* 138(4): 383-419.

Zabkiewicz J., A. 2002. Adjuvants and herbicidal efficacy—present status and future prospects. *Weed Res.* 40(1): 139–149.

Zhang Q. and P. Brown. 1999. The mechanism of foliar zinc absorption in pistachio and walnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124: 312-317.





## CAPÍTULO II. EVIDENCIAS DE LA NUTRICIÓN FOLIAR EN *Cymbidium* sp.

### EVIDENCES OF FOLIAR NUTRITION IN *Cymbidium* sp.

#### Resumen

La fertilización foliar es una práctica común en los sistemas de producción de orquídeas, pero en *Cymbidium* se tiene poca información sobre la absorción de nutrientes a nivel foliar y radical (Hew y Young 2004), por lo que los objetivos de la presente investigación fueron caracterizar la anatomía foliar e identificar las rutas de penetración de un fertilizante foliar 10-10-10 (NPK) en esta especie de orquídea. La investigación se llevó a cabo en dos etapas en el laboratorio de Histopatología Vegetal del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo, durante los meses de abril a agosto de 2012. La primera etapa consistió en la caracterización anatómica de la lámina foliar de esta especie. El grosor de la cutícula a lo largo de la hoja no fue uniforme, siendo más gruesa en la porción media (29.90  $\mu\text{m}$ ) que en las porciones apical (26.91  $\mu\text{m}$ ) y basal (25.75  $\mu\text{m}$ ). El número de estomas a lo largo de la hoja fue constante. En la región media de la hoja, el grosor de tejido epidérmico (63.045  $\mu\text{m}$ ) y el diámetro de los haces de fibras subepidérmicas (184.55  $\mu\text{m}$ ) mostraron los mayores valores, mientras que el mayor diámetro de haz vascular (1031  $\mu\text{m}$ ) y mayor grosor del mesófilo (3777.91  $\mu\text{m}$ ) se registró en la porción basal. En la segunda etapa, se identificó la ruta de penetración del fertilizante foliar con los colorantes verde rápido-azul negro de naftol y calcoflúor. El fertilizante foliar penetró vía cutícula y estomática a partir de los 30 min de haberlo asperjado. A los 120 min, se observó su absorción en los pseudobulbos. Los resultados obtenidos, demostraron que la fertilización foliar es una alternativa viable que puede implementarse en las prácticas de producción de esta ornamental.

**Palabras clave;** Fertilización foliar, orquídeas, cutícula, fibras.

### **Abstract**

Foliar feeding is a common practice in orchid production systems, but in *Cymbidium* there is little information about nutrient absorption at leaf and root level (Hew and Young 2004). Therefore, the objectives of this research were to characterize the leaf anatomy and identify the penetration pathways of foliar fertilizer 10-10-10 (N-P-K) in this species of orchid. The research was conducted in two stages in the plant histopathology laboratory at the Postgraduate College in Agricultural Sciences, Montecillo Campus, during the months of April to August 2012. The first stage consisted of the anatomical characterization of the leaf blade of this species. The thickness of the cuticle along the blade was not uniform, being thicker in the middle portion (29.90  $\mu\text{m}$ ) than in the apical (26.91  $\mu\text{m}$ ) and basal (25.75  $\mu\text{m}$ ) portions. The number of stomata along the leaf was constant. In the middle region of the leaf, the thickness of epidermal tissue (63.045  $\mu\text{m}$ ) and the diameter of the subepidermal fiber bundles (184.55  $\mu\text{m}$ ) showed the highest values, while the largest vascular bundle diameter (1031  $\mu\text{m}$ ) and the thickest mesophyll (3777.91  $\mu\text{m}$ ) were recorded in the basal portion. In the second stage, the penetration pathway of the foliar fertilizer was identified with naphthol and calcofluor fast green-black blue dyes. The foliar fertilizer entered via cuticles and stomata beginning 30 min after having been sprayed. At 120 minutes, their absorption into the pseudobulbs was observed. The results demonstrated that foliar feeding is a viable alternative that can be used in the production practices of this ornamental.

**Keywords:** foliar feeding, orchids, cuticle, fibers.

## I. Introducción

La aplicación de nutrientes vía foliar puede ser un método que contribuya a reducir el impacto ambiental asociado con la fertilización al suelo. Sin embargo la respuesta a menudo es variable y no reproducible debido a la falta de conocimiento de muchos factores relacionados con la penetración foliar (Fernández y Eichert, 2009). La orquídea *Cymbidium* se considera como una de las flores más importantes en maceta por su potencial ornamental y su alto valor económico (Huang *et al.*, 2011). Su demanda ha crecido en la últimas décadas, tanto en diversidad de especies, como producción de flores. La aplicación foliar de nutrientes es una práctica común en los sistemas de producción de orquídeas, la cuestión es que se tiene poca información sobre la eficacia de la absorción de nutrientes minerales a través de las hojas y zona radicular en orquídeas (Hew y Young, 2004). Durante años ha habido controversia sobre las características estructurales y químicas de la cutícula que se relacionan con la absorción de los fertilizantes foliares (Poole y Sheehan, 1980). Grossman (1997), evidenció que la penetración a través de la cutícula está en función de la naturaleza de ésta. La cera epicuticular es el componente más externo e hidrofóbico sobre la superficie de la hoja, su estructura limita la penetración de agua y de iones a través de la membrana (Marschner, 1995; Wójcik, 2004), lo que afecta de manera significativa la permeabilidad cuticular. Cutículas con estructuras completamente reticuladas son más permeables a ciertas sustancias que aquellas con una región laminosa externa (Ray, 2006). Se ha sugerido que la absorción de iones por las hojas puede ser completada en tres etapas. En la primera, las sustancias penetran la cutícula y la pared de celulosa a través de difusión libre; en la segunda, estas sustancias, se adsorben a la membrana plasmática por algún mecanismo de unión; y en la tercera, las sustancias son absorbidas y llevadas al citoplasma en un proceso que requiere energía derivada del

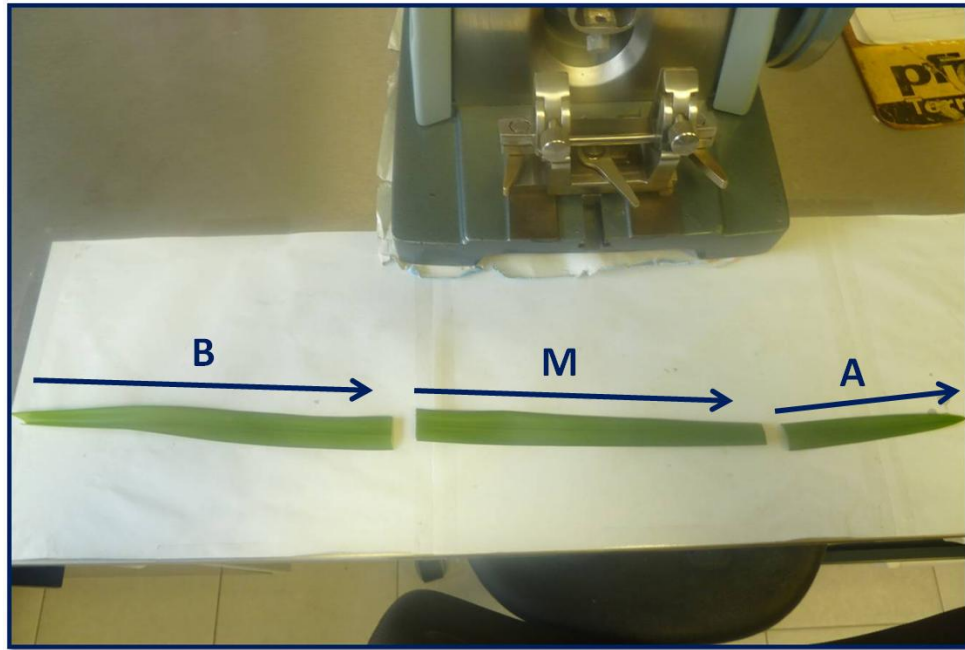
metabolismo (Fageria *et al.*, 2009). Dada la importancia de la fertilización en plantas de *Cymbidium*, el objetivo de esta investigación fue caracterizar la anatomía foliar de la orquídea e identificar las rutas de penetración de un fertilizante foliar.

## **II. Materiales y métodos**

La investigación se hizo en el Laboratorio de Histopatología Vegetal del Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados. Las plantas de orquídea (*Cymbidium* sp.) de 5 años de edad se obtuvieron de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” en Uruapan, Michoacán. La investigación se hizo durante los meses de abril a agosto de 2012. El trabajo experimental se dividió en dos etapas. La primera etapa consistió en caracterizar su estructura foliar, y en la segunda se determinó la ruta de penetración de un fertilizante y su translocación a los órganos de almacenamiento.

### **2.1. Primera etapa: caracterización de la lámina foliar**

De cada planta se disectaron fragmentos foliares de entre 2 y 3 cm<sup>2</sup> de longitud de las porciones apical, media y basal (Figura 1), y se cortaron en un microtomo de congelación (American Optical, modelo 880) a 25 µm de grosor. Las secciones obtenidas se montaron en agua y se midieron los grosores de cutícula y del mesófilo, así como los diámetros de las células epidérmicas, fibras subepidérmicas y haces vasculares de acuerdo con la metodología descrita por (Sandoval, 2005). La densidad estomática se hizo determinó mediante impresiones de la lámina foliar y el conteo de los estomas en un microscopio compuesto Velab modelo VE-B6 (Rodés y Collazo, 2006).



**Figura 1.** Porciones apical (A), media (M) y basal (B) de la hoja en *Cymbidium* sp.

Para medir el grosor de la cutícula, las secciones obtenidas se tiñeron con Sudan IV durante 25 min y se montaron en glicerol (35 secciones por cada sección). Se tomaron fotografías con una cámara digital integrada a un microscopio compuesto marca Velab modelo VE-B6, y la medición de la cutícula se hizo con el software Motic Image Plus 2.0 ML considerando cuatro campos visuales por corte transversal y sección de la hoja. El grosor y el diámetro de la células epidérmicas, fibras subepidérmicas y haces vasculares se midieron también con el software antes referido a partir de las imágenes obtenidas de cuatro campos visuales de 35 cortes. Las fotomicrografías se tomaron a 40x con el equipo indicado anteriormente.

La densidad estomática se cuantificó en las porciones apical, media y basal de cuatro hojas. En la superficie adaxial de cada muestra se aplicó una gota de la mezcla de Exactoden<sup>®</sup> (silicón fluido) y solución endurecedora, a los 10 min se retiró y se aplicó esmalte de uñas a la zona de contacto. Después de 5 min, se desprendieron las impresiones con unas pinzas, y montaron en portaobjetos para observarse en un microscopio compuesto (marca Carl Zeiss). Se contó el número de estomas por mm<sup>2</sup> en cinco campos visuales de 10 impresiones (Rodés y Collazo, 2006).

Para determinar el peso seco de las hojas, se cortaron 50 fragmentos de 1 cm<sup>2</sup> de dos hojas de las porciones apical, media y basal, las muestras se colocaron en un estufa de aire forzado marca Riossa Mod. Hof-125 a 70 °C durante 72 h hasta alcanzar peso constante (Alcántar y Sandoval, 1999; Rodríguez y Rodríguez, 2011). Posteriormente, cada segmento se pesó en una balanza digital marca OHAUS.

Con los resultados obtenidos se hizo un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS 9.3. (SAS, 2010)

## **2.2. Segunda etapa: Identificación de las rutas de penetración del fertilizante foliar**

El fertilizante foliar 10-10-10 (NPK), a base de urea y fosfato monopotásico al 1%, complementada con DAP-PLUS<sup>®</sup> como agente tensoactivo, se preparó independientemente con los colorantes verde rápido + azul negro de naftol a una concentración de 0.05% (F-VR+ANN) y con calcoflúor a una concentración de 0.01% (F-C), los colorantes se disolvieron en agua destilada, el pH de la solución del fertilizante fue de un rango de 5.5 a 6.0. Plantas

independientes fueron asperjadas hasta cubrir todas las hojas con F-VR+ANN y F-C y como tratamiento testigo se asperjó agua destilada, la aspersión se realizó por la mañana en horario de 8:00 am. Después de los 30, 60, 90 y 120 min de haber aplicado el fertilizante con los colorantes referidos o bien el agua, se muestrearon hojas las cuales se disectaron en fragmentos de 0.6 x 0.4 cm (Sandoval, 2005), se cortaron transversalmente con un microtómo de congelación (American Optical modelo 880) a 25  $\mu$ m de grosor. Los cortes se montaron entre porta y cubreobjetos, las muestras tratadas con F-VR+ANN se observaron en un microscopio compuesto marca Velab modelo VE-B6, y las asperjadas con F-C en un microscopio de fluorescencia marca Carl Zeiss.

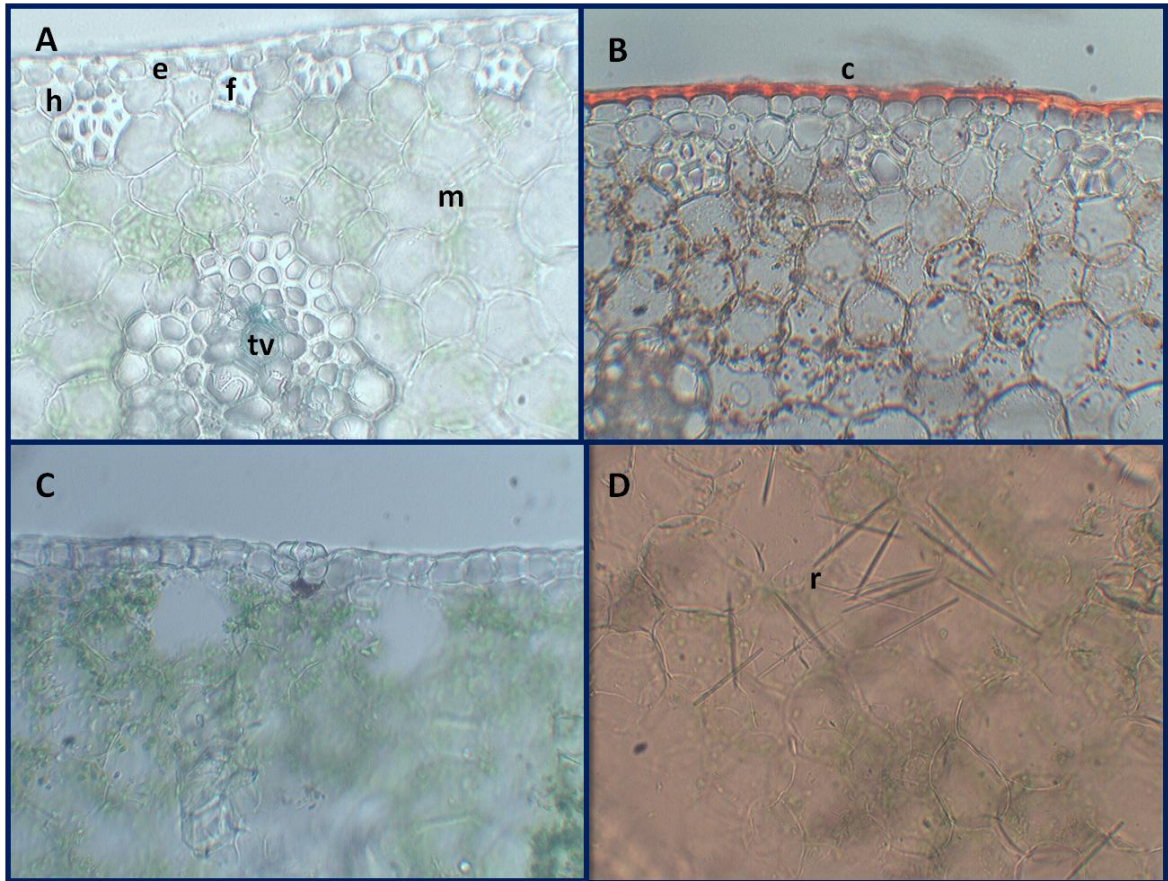
Adicionalmente, se asperjó una planta completa de *Cymbidium* sp. con F-C; dos horas después se realizaron cortes a mano con una navaja de afeitar de aproximadamente 1 mm de grosor desde la base de la hoja a la mitad del pseudobulbo. Las secciones obtenidas se montaron en agua y se observaron en el microscopio de fluorescencia.

### **III. Resultados y discusión**

#### **3.1. Caracterización de lámina foliar**

Las hojas de las plantas de *Cymbidium* son conduplicadas, rígidas y coriáceas. El tejido epidérmico, está formado por un estrato de células de forma cuadrada a circular con una cutícula gruesa (Figura 2A y 2B) que se proyecta hacia las paredes anticlinales. Las células guarda, son superficiales (Figura 2C) y presentan poros fusiformes en la parte central. En *C. ensifolium*, la cutícula cubre los estomas, y parte de las células guarda se eleva por encima de

la cutícula. Estas características pueden ser una modificación xerofítica (Du Puy y Cribb, 2007).



**Figura 2.** Fotomicrografías de secciones transversales de hoja de *Cymbidium* sp. A) Tejido epidérmico (e) e hipodérmico (h) haces de fibras (f) distribuidos debajo de la hipodermis. Células parenquimatosas del mesófilo (m) de forma isodiamétrica y pared delgada. Tejido vascular (tv) rodeado por fibras. B) Sección teñida con Sudán IV. El color anaranjado de la pared tangencial externa de la epidermis indica la naturaleza lipídica de la cutícula (c). C) Aparato estomático. D) Rafidios (r).

Por debajo de la epidermis adaxial y abaxial se presentaron de uno a tres estratos de células hipodérmicas entre las que se agrupan alternadamente haces de tejido esclerenquimatoso (fibras) (Figuras 2A). El mesófilo estuvo constituido por un sólo tipo de células de



clorénquima de forma redonda y pared delgada entre las cuales se distribuyen los haces vasculares (Figura 2A). En las células del mesófilo se presentan rafidios de gran tamaño (Figura 2D). Algunas de las células parenquimatosas del mesófilo cercanas a la nervadura central se alargan en dirección a la superficie de la hoja.

### **3.1.2 Grosor de cutícula**

Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el grosor de cutícula a lo largo de las hojas. La porción media fue más gruesa (29.90  $\mu\text{m}$ ) que en las porciones apical y basal (26.91 y 25.75  $\mu\text{m}$ , respectivamente) (Figura 3). Es posible que el mayor grosor en la porción media de las hojas se asocie con su posición, ya que esta sección requiere de mayor resistencia, minimizando la pérdida de agua, y el flujo de transpiración y solutos (Riederer y Schreiber, 2001). En 21 especies de *Cymbidium* se encontraron diferencias en el grosor de la cutícula entre la parte adaxial (más gruesa) y la abaxial (más delgada) con valores que van de 27  $\mu\text{m}$  a 7.5  $\mu\text{m}$  en *C. finlaysonianum* (Yukawa y Stern, 2002). Esta evidencia apoya las sugerencias por Du Puy y Cribb (2007), donde mencionan que las hojas coriáceas son una modificación xerofítica de las más primitivas y que es posible que estas adaptaciones se relacionen con el metabolismo ácido crasuláceo (CAM) de esta orquídea.

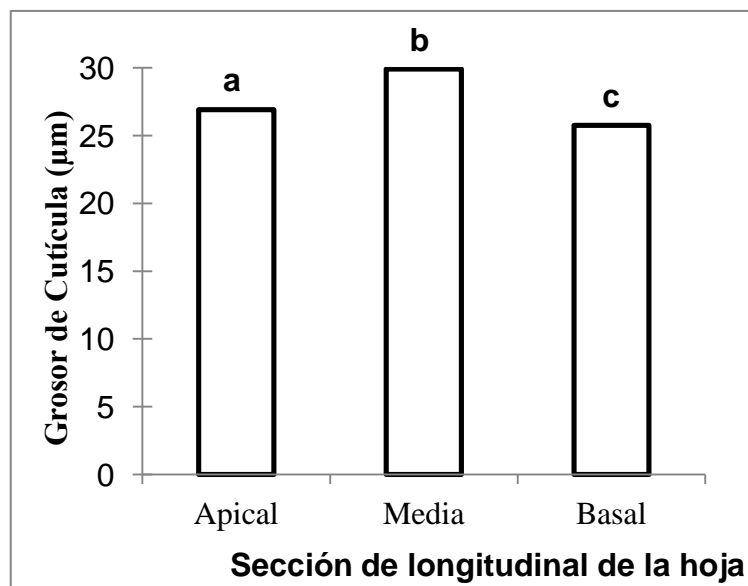
### **3.1.3. Densidad estomática**

*Cymbidium* sp. presentó estomas anfiestomáticos. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en el número de estomas por  $\text{mm}^2$  a lo largo de la hoja. En la porción apical se cuantificaron en promedio 7.5 estomas, en la media 7 y en la basal 7.3 (Figura 4). Éstos resultados coinciden con lo reportado por Bird y Gray (2003), quienes indican que la densidad estomática es muy variable de acuerdo a la capacidad fotosintética de las hojas. La densidad

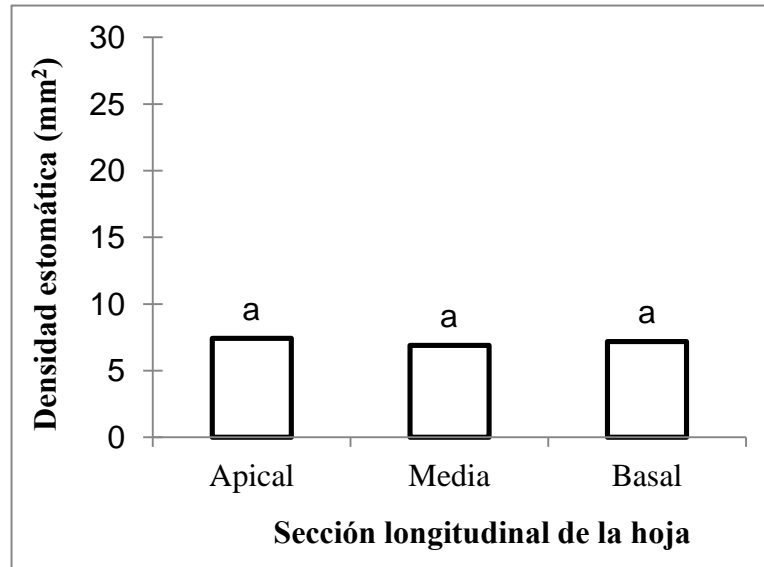
también varía en diferentes secciones de la misma hoja y en diferentes hojas de la misma planta, por factores ambientales como los niveles de luz y CO<sub>2</sub>. Los efectos ambientales en estomas y tricomas pueden ser mediados a través de la composición de cera cuticular. La densidad estomática es mayor en las hojas xeromórficas, que en las hojas de plantas mesomórficas e hidromórficas (Roth, 1990).

### 3.1.4. Grosor de tejido epidérmico

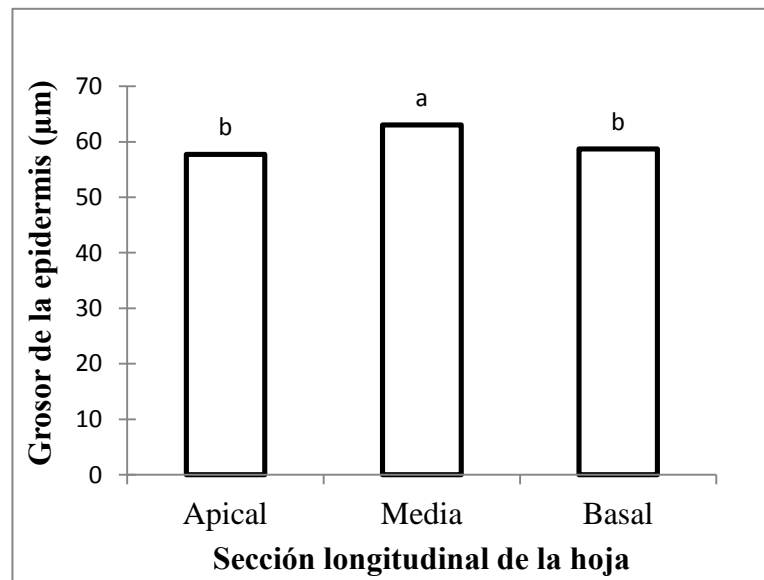
Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el grosor de células epidérmicas. En la porción media de la hoja, el grosor de la epidérmis fue mayor (63.045 μm), que en las porciones basal y apical (58.71 y 57.738 μm, respectivamente) (Figura 5). Es probable que el mayor grosor en la porción media le de mayor soporte a la hoja.



**Figura 3.** Sección longitudinal de la hoja sobre el grosor de cutícula en *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).



**Figura 4.** Sección longitudinal de la hoja sobre la densidad estomática en *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

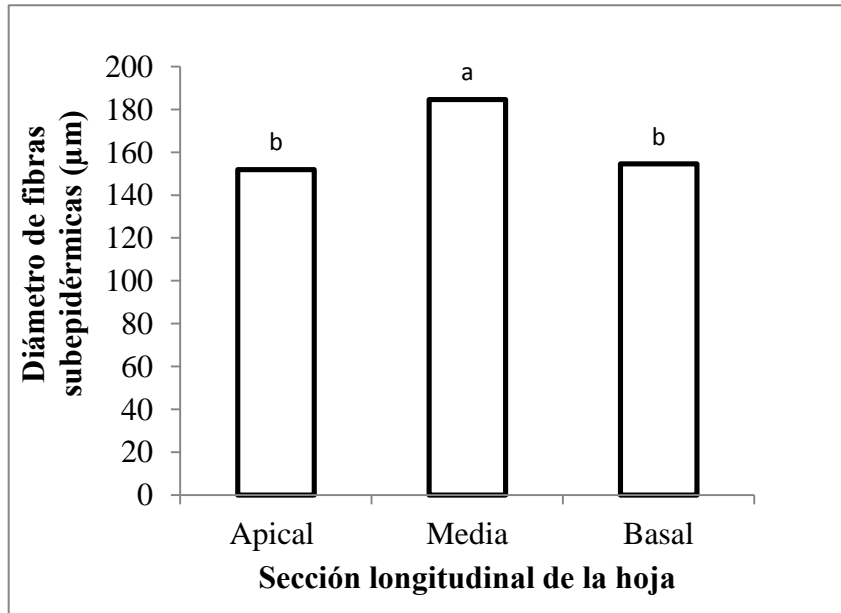


**Figura 5.** Sección longitudinal de la hoja sobre el grosor de la epidermis en *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

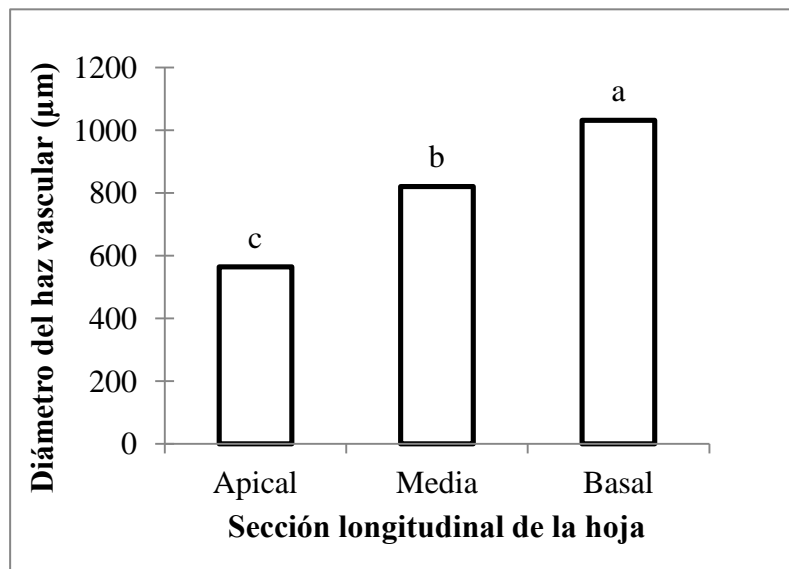
Los cambios en el grosor de las células epidérmicas, están relacionados con el hábitat en donde se desarrollan las (Cutler *et al.*, 2007). Estas características le confieren mayor soporte mecánico y rigidez a la hoja, protección al mesófilo de la radiación UV-B, almacenamiento de algunos productos metabólicos, minimiza la pérdida de agua así como la aireación del tejido interno a través de los estomas (Dietz *et al.*, 1994; Bilger *et al.*, 2001; Ray, 2006). Estudios realizados en *C. ensifolium* y *C. bicolor* se describe que las células epidérmicas fueron pequeñas en ambas especies, y al realizar cortes transversales se menciona que eran anchas y alargadas, aunque en su estudio no se realizaron mediciones (Yukawa y Stern, 2002). En *Maxilaria miniata* orquídea epífita, mediante secciones transversales encontraron que presentan células epidérmicas cuadrangulares y hasta rectangulares, con mediciones de 12.5-17.5 x 22.5-32  $\mu\text{m}$  en zonas adaxiales, mientras que las abaxiales de 12.5-19 x 19-27  $\mu\text{m}$  (alto x ancho) (Ely *et al.*, 2007).

### **3.1.5. Diámetro de fibras subepidérmicas**

Los haces de fibras subepidérmicas presentaron el mayor diámetro (184.55  $\mu\text{m}$ ) en la porción media de las hojas en comparación con la parte basal y apical (Figura 6). Estas células son característica común de este género y de los miembros de la Subtribu *Cymbidiinae*, cuya función es la de rodear y fortalecer las células parenquimatosas del mesófilo (Yukawa y Stern, 2002). Además de dar soporte mecánico, las fibras protegen contra la pérdida de agua e intensidad de la luz (Zanenga y Gonçalves, 2003).



**Figura 6.** Sección longitudinal de la hoja sobre el diámetro de fibras subepidérmicas *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).



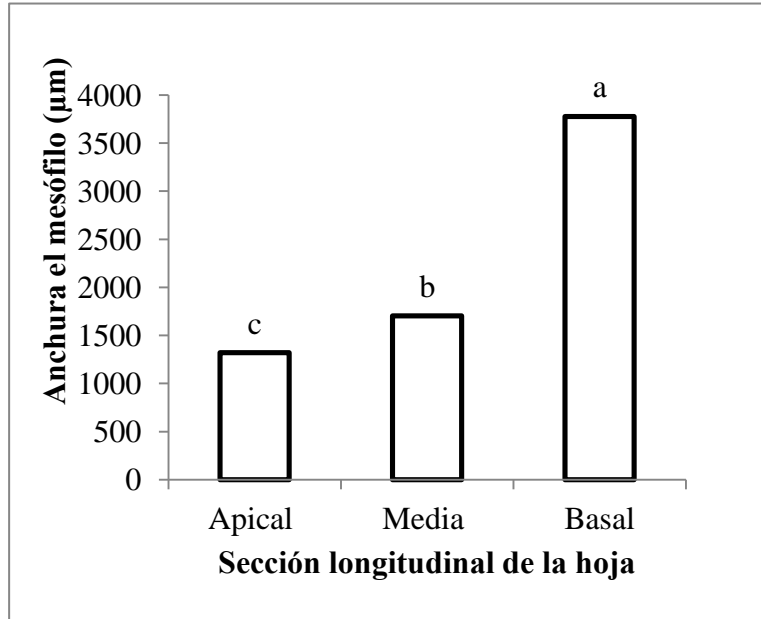
**Figura 7.** Sección longitudinal de la hoja sobre el diámetro del haz vascular en *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

### **3.1.6. Diámetro del haz vascular**

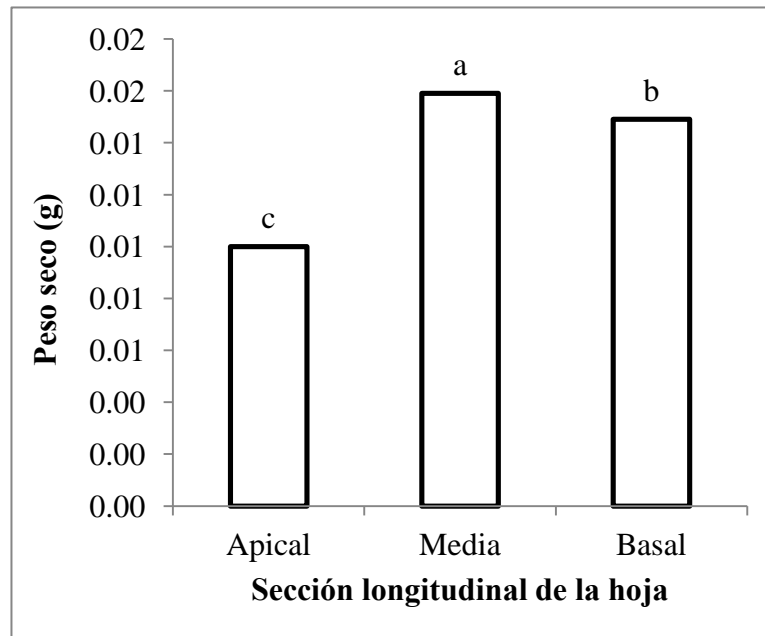
El diámetro del haz vascular fue mayor en la porción basal (1 031  $\mu\text{m}$ ) en comparación de las porciones media (820.26  $\mu\text{m}$ ) y apical (564.35  $\mu\text{m}$ ) (Figura 7). Existen investigaciones realizadas en varias especies de *Cymbidium* aunque en ninguna de ellas se midieron los haces vasculares. Por ejemplo, en *C. ensifolium* se reportó que los haces vasculares son de diferentes tamaños, los más grandes se extienden hacia ambas epidermis, aunque en otras especies se encuentran sólo abaxialmente. En *C. pendulum*, los haces vasculares son muy pequeños, rodeados por células parenquimatosas con clorofila (vainas del haz). Entre el xilema y floema se encontraron células de parénquima con paredes gruesas (Yukawa y Stern, 2002). En *C. bicolor*, como ocurre a menudo en las orquídeas xerofíticas, el floema se encuentra unido con el xilema por células engrosadas, lo cual es una condición para evitar la deshidratación en las hojas (Yukawa y Stern, 2002).

### **3.1.7. Ancho del mesófilo esponjoso**

El mayor grosor del mesófilo se encontró en la porción basal de la hoja (3 777.91  $\mu\text{m}$ ), seguido por las porciones media (1 703.61  $\mu\text{m}$ ) y apical (1 320.01  $\mu\text{m}$ ) (Figura 8). En *C. alofolium*, *C. bicolor* y *C. filaysonianum*, indican que el mesófilo es heterogéneo, aunque en estas el mesófilo presentó parénquima en empalizada de 3 a 5 células grandes y alargadas en dirección perpendicular a la superficie de la hoja. El parénquima esponjoso tuvo de 5 a 8 células anchas, circulares u ovals, algunas de las cuales con engrosamiento helicoidal (Yukawa y Stern, 2002).



**Figura 8.** Sección longitudinal de la hoja sobre la anchura del mesófilo en *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).



**Figura 9.** Sección longitudinal de la hoja sobre el peso seco de *Cymbidium* sp. Letras iguales indican valores estadísticamente no diferentes (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

### **3.1.8. Peso seco de la hoja**

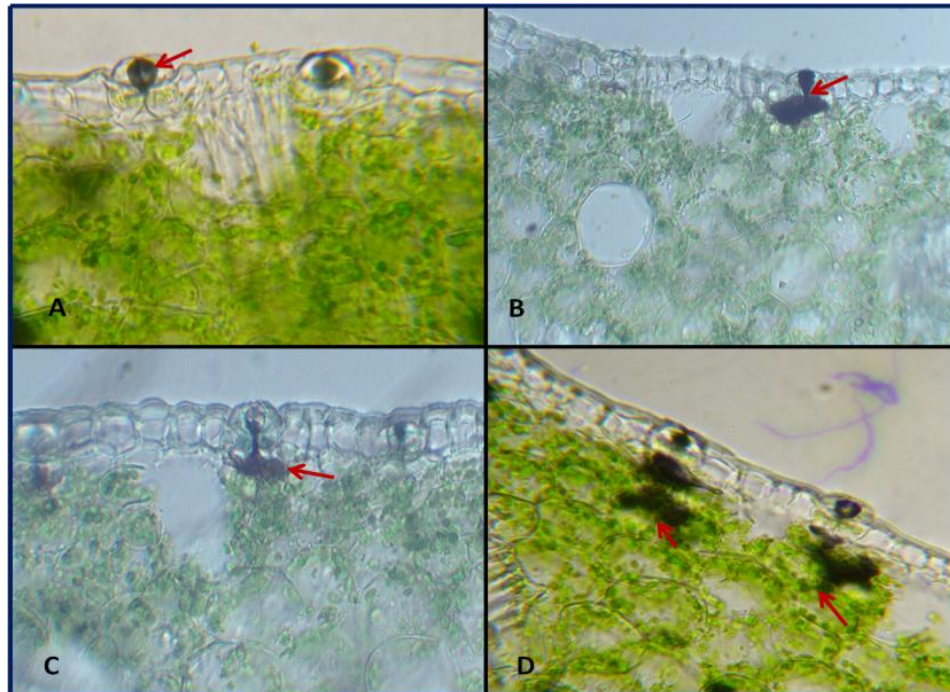
El análisis de varianza indicó diferencias estadísticas significativas entre el peso seco de las secciones de hoja. En la porción media, el peso fue el doble ( $0.02 \text{ g cm}^{-1}$ ) que el de las porciones apical y basal ( $0.01 \text{ g cm}^{-1}$ ) (Figura 9). Los valores encontrados en el grosor de cutícula, tejido epidérmico y diámetro de los haces de fibras subepidérmicas en la sección media de la hoja, estadísticamente superiores a los valores registrados en las secciones apical y basal, por tanto es posible que exista mayor capacidad fotosintética y asimilados en la parte media. Con los resultados se identifica que la parte media de la hoja contiene estructuras más gruesas que permite el dobléz de la hoja como principal órgano de la planta donde se lleva a cabo la mayor parte de los fotoasimilados resultantes del metabolismo vegetal (Gayón, 1992).

## **3.2. Rutas de penetración del fertilizante foliar**

### **3.2.1. Fertilizante foliar más verde rápido y azul negro de naftol (F-VR + ANN)**

A los 30 min después de la aspersión foliar, se observó acumulación del fertilizante en el poro (Fig. 10A) y en la cutícula. A los 60 y 90 min, el fertilizante se observó en la cámara estomática y en los primeros estratos del mesófilo esponjoso (Fig. 10B, C y D). A las 120 min se distribuyó en todo el mesófilo esponjo. La presencia de fertilizante en los poros estomáticos concuerdan con estudios recientes con trazadores fluorescentes donde la penetración de solutos ocurrió por difusión a través de los estomas (Eichert y Burkhardt, 2001; Eichert *et al.*, 2008).



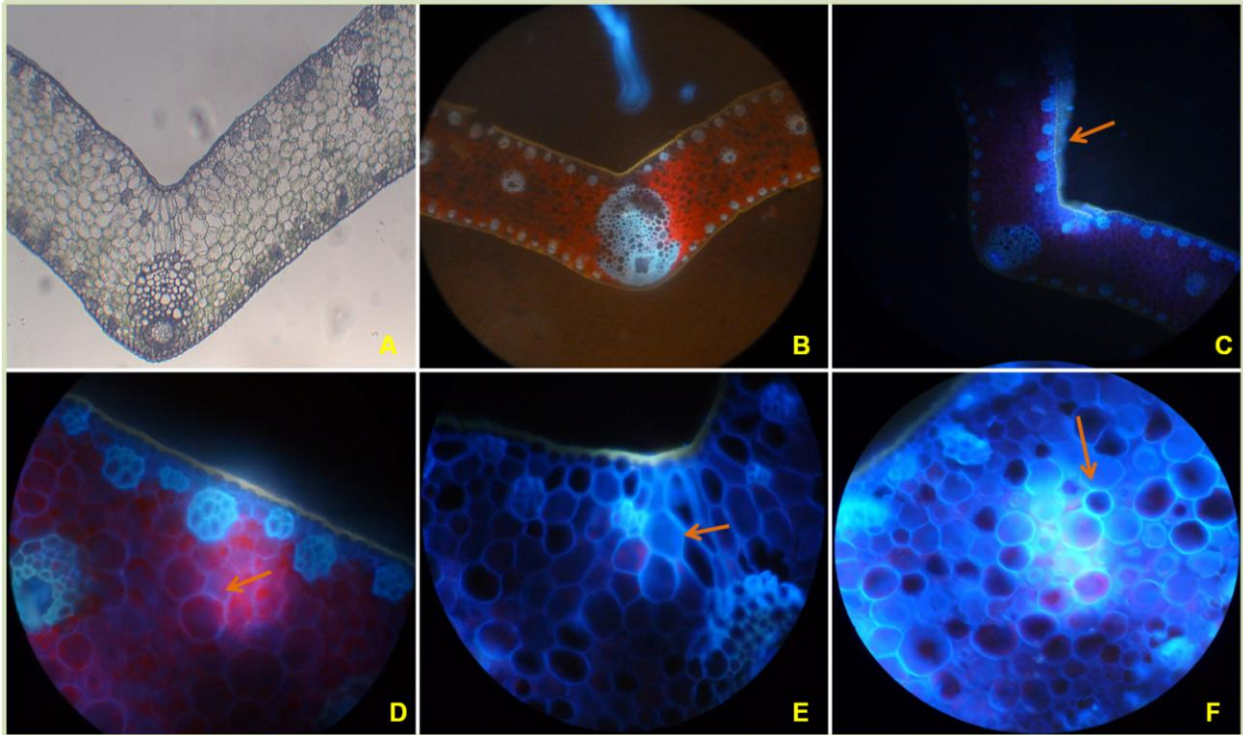


**Figura 10.** Corte transversal de hoja de *Cymbidium* sp. aspejadas con el fertilizante foliar 10-10-10NPK mezclado con verde rápido y azul negro de naftol. Treinta (A), 60 (B), 90 (C) y 120 (D) minutos después de la aplicación del fertilizante.

### 3.2.2. Fertilizante foliar más el calcoflúor (F-C)

El F-C se acumuló en la cutícula después de los 30 min de haber hecho la aplicación (Figura 11C). Una hora después, se observó entre las células epidérmicas y del mesófilo (Figura 11D) con una fluorescencia tenue. A los 90 y 120 min después de la aspersion, el F-C se encontró en todas las células del parénquima esponjoso (Figura 11E y 11F). También se observó la acumulación del fertilizante en la cutícula y en el tejido epidérmico de las superficies adaxial y abaxial. En las secciones histológicas de las hojas de la planta testigo se observó autofluorescencia de color blanco-azuloso en las fibras subepidérmicas, y en los elementos de vaso del xilema. La clorofila en el mesófilo fluoreció de color rojo y la cutícula de color

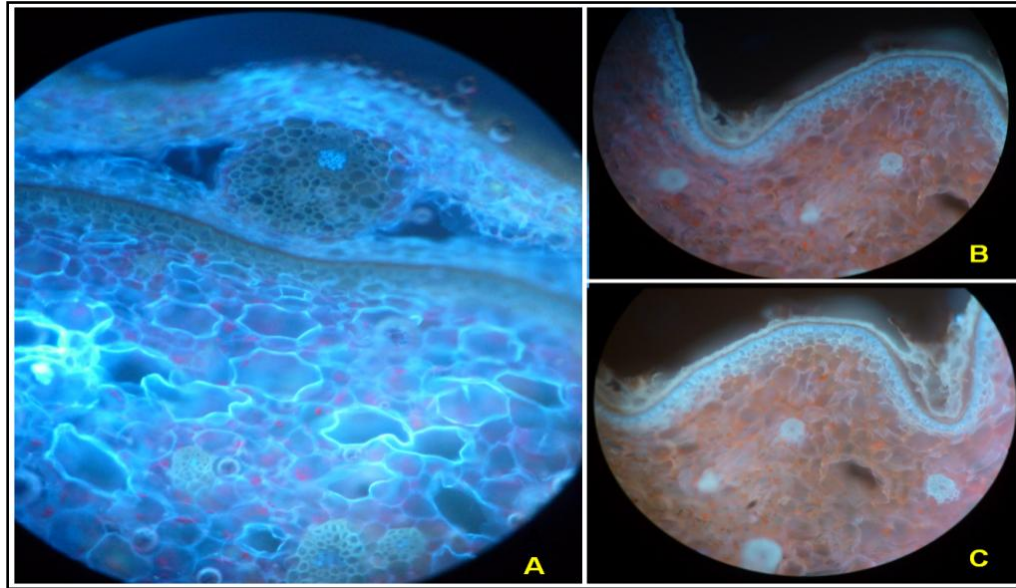
amarillo (Figura 11B). La autofluorescencia de las fibras subepidérmicas y elementos de vaso se debe a la presencia de lignina en sus paredes (Yukawa y Stern, 2002). La penetración de sustancias en las hojas es un proceso pasivo impulsado por gradientes de concentración (Eichert y Goldbach, 2008). De acuerdo con Schönherr (2000) los iones hidratados de  $\text{CaCl}_2$  penetran la cutícula a través de poros acuosos en un proceso relativamente lento, pero al agregar agentes humectantes como el Glupon 215 CSUP a  $0.2 \text{ g L}^{-1}$ , la constante de velocidad aumentó. Por su parte, Schlegel *et al.* (2005), trabajaron con la selectividad que tienen los poros acuosos en la cutícula de hojas de *Vicia faba* a sales de  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{CaCl}_2$ , concluyendo que el  $\text{AgNO}_3$  se precipita como  $\text{CaCl}_2$  en las células guarda, tricomas glandulares y en la base de los tricomas, marcando la ubicación de poros acuosos en las cutículas.



**Figura. 11.** Corte transversal de hojas de *Cymbidium* sp. asperjadas con fertilizante foliar 10-10-10 NPK más calcoflúor. Planta testigo sin fertilizar (A y B), 30 (C), 60 (D), 90 (E) y 120 (F) min después de la aplicación del fertilizante.

### 3.2.3. Absorción del fertilizante foliar más el calcoflúor (F-C) en pseudobulbos

A los 120 min después de la aplicación, el fertilizante se observó en los tejidos del pseudobulbo. Las paredes celulares de la epidermis y del parénquima (células isodiamétricas y de pared delgada) se observaron de color blanco-azuloso fluorescente (Figura 12A). Datos similares se obtuvieron en plantas de *Cattleya* 'Trimos' en donde se aplicó  $^{32}\text{P}$  al follaje. Después de 24 h el  $^{32}\text{P}$  se encontró en los pseudobulbos, mientras que raíces más jóvenes (de 2 a 4 años de edad) absorbieron con mayor rapidez el  $^{32}\text{P}$ . Cabe resaltar que no realizaron cortes histológicos para observar la acumulación del  $^{32}\text{P}$  en los pseudobulbos (Sheehan *et al.*, 1967).



**Figura. 12.** Corte transversal del pseudobulbo de *Cymbidium* sp. de plantas asperjadas vía foliar con el fertilizante 10-10-10 con el colorante calcoflúor. (A) Pseudobulbo con presencia del fertilizante y colorante después de 120 min de la aspersión. (40x). (B y C) Planta testigo sin la presencia del fertilizante y colorante vista en el microscopio de luz fluorescente (40x).

De acuerdo con Ng y Hew (2000), el pseudobulbo de *Cymbidium* sp. es el órgano encargado del reparto de asimilados y almacenamiento de agua, carbohidratos y minerales. Zheng *et al.* (1992), demostraron que los pseudobulbos son capaces de retener aproximadamente el 64% de su contenido de agua después de 42 días en condiciones de estrés hídrico, por lo que es posible que la evolución de la orquídea para adaptarse a hábitat secos haya conducido el desarrollo de los pseudobulbos. La succulencia de los pseudobulbos minimiza la porosidad máxima en paredes laterales, ya que los órganos suculentos, a diferencia de los no suculentos, tienden a tener tasas de conducción menos rápida por unidad de tiempo. Los pseudobulbos pueden ser vistos como estructuras conductoras, que aseguran la sobrevivencia de las raíces en periodos de desecación (Carlquist, 1975; Carlquist y Schneider, 2006). Adicionalmente, la acumulación activa de

nutriente minerales durante el período de desarrollo del pseudobulbo constituye una importante fuente de reserva para el posterior desarrollo de los nuevos brotes e inflorescencias.

#### **IV. Conclusiones**

La porción media de las hojas de *Cymbidium* sp. presentó el mayor grosor de cutícula, de tejido epidérmico, de diámetro de las fibras subepidérmicas y de peso seco. El mayor diámetro de los haces vasculares y del grosor del mesófilo se presentaron en la región basal de la hoja. La densidad estomática fue la misma a lo largo de la hoja. El fertilizante foliar 10-10-10 (NPK) penetró estomas y cutícula. El fertilizante se acumuló en los pseudobulbos dos horas después de haber sido asperjado a las hojas

#### **V. Literatura citada**

- Alcántar G. G. y Sandoval V. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. México. 56 p.
- Alejo-Plata C., J. Gómez L. y I. Salgado-Ugarte H. 2011. Edad y crecimiento del dorado *Coryphanea hippurus*, en el Golfo de Tehuantepec, México. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 2(46): 125-134.
- Bilger W., T. Johnsen and U. Schreiber. 2001. UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. Journal of Experimental Botany 52: 2007-2014.

- Bird S. M. and J. Gray E. 2003. Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. *New Phytologist* 157: 9-23.
- Carlquist S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. University of California Press, Berkeley, California, USA. 245 p.
- Carlquist S. and E. Schneider L. 2006. Origins and nature of vessels in monocotyledons: 8 Orchidaceae. *American Journal of Botany* 93(7): 963-971.
- Cutler D., F., T. Botha and D. Stevenson W. 2007. *Plant Anatomy An applied approach*. Published by Blackwell Publishing Ltd. 313 p.
- Dietz K., J. Hollenbach B. and E. Hellwege. 1994. The epidermis of barley leaves is a dynamic intermediary storage compartment of carbohydrates, amino acids and nitrate. *Physiology Plant* 92: 31-36.
- Du Puy D. and P. Cribb J. 2007. The genus *Cymbidium*. Royal Botanic Gardens, Kew Publishing. 369 p.
- Eichert T. and H. Goldbach E. 2008. Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces-further evidence for a stomatal pathway. *Physiology Plant* 132: 491-502.
- Eichert T., A. Kurtz U. Steiner and H. Goldbach E. 2008. Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiology Plant* 134: 151-60.
- Eichert, T. and J. Burkhardt. 2001. Quantification of stomata uptake of ionic solute using a new model system. *Jornal of Experimental Botany* 52: 771-781.

- Ely F., F. Torres. F. Rada y León Y. 2007. Estudio morfo-anatómico de dos orquídeas de una selva nublada tropical. *Interciencia* 32: 0378-1844.
- Fageria N., K., M. P. Barbosa F. A. Moreira, and C. Guimarães M 2009. Foliar Fertilization of Crop Plants. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1044-1064.
- Fernández V. and T. Eichert. 2009. Uptake of Hydrophilic Solutes Through Plant Leaves: Current State of Knowledge and Perspectives of Foliar Fertilization. *Critical Reviews in Plant Sciences* 28(1-2): 36-68.
- Gayón G. 1992. Fotosíntesis y productividad de cultivos. *Revista Comalfi* 19(2): 23-21.
- Grossmann J. 1997. Foliar fertilization of orchids. Department of Horticultural Sciences, Texas A&M University, Collage Station, TX 77843-2133.
- Guerrero C., B., S. H. Ramírez U., O. Varela R. E. Mondragón J. D., R. Meléndez J. L., C. León J. M., y A. López M. 2008. Evaluación del sellado apical de sistemas resinosos en la obturación de conductos radiculares: “estudio *in vitro*”. *Acta Odontol. Venez* 1(48): 1-11.
- Hew C. S and W. Yong. 1997. The physiology of tropical orchids in relation to the industry. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 333 p.
- Hew C. S and C. Ng. K.Y. 1996. Changes in mineral and carbohydrate content in pseudobulbs of the C<sub>3</sub> epiphytic orchids hybrid *Oncidium* Goldiana at different growth stage. *Lindleyana* 11: 125-134.
- Hew C. S and W. Young. 2004. The physiology of tropical orchids in relation to the industry. British Library. World Scientific Publishing Singapore. 329 p.

- Huang Y., L. Fang, and C. Kunsong. 2011. Scent profiling of *Cymbidium ensifolium* by electronic nose. *Scientia Horticulturae* 128: 306-310.
- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London. 889 p.
- Martínez R., R. y R. Gragera R. M. 2008. Fundamentos teóricos y prácticos de la Histoquímica. Consejo Superior de Investigación Científica. España. 426 p.
- Ng Y., C. K and C. Hew S. 2000. Orchids pseudulbs false bulbs with a genuine importance in orchid growth and survial!. *Scientia Horticulturae* 83: 165-172.
- Poole H. D. and T. Sheehan B. 1980. Mineral nutrition of orchids. *In*: J. Arditti (ed), *Orchids Biology: Reviews and Perspective II* (1982) pp. 197-211.
- Ray F., E. 2006. Esau's Plant Anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. By John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 591 p.
- Riederer M, and Schreiber L. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany* 52: 2023-2032.
- Rodés R., G y O. Collazo M. 2006. Manual de practicas de fotosíntesis. 1er edición Universidad Autónoma de México. Facultad de Ciencias. 159 p.
- Rodríguez H. F. y J. Rodríguez A. 2011. Métodos de análisis de suelo y planta criterios de interpretación. Universidad Autónoma de Nuevo León. Ed. Trillas. 2nd. México. 157 p.



- Roth I. 1990. Leaf Structure of a Venezuelan Cloud Forest in Relation to the Microclimate: Encyclopedia of Plant Anatomy, Band 14, Teil 1, Gerbrüder Borntraeger, Berlin 244 p.
- Sandoval Z., E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Instituto de Biología. Colección: Cuadernos del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. 280 p.
- SAS Institute Inc. 2010. SAS/STAT® User's Guide. Version 9.0 SAS Institute Inc., Cary. NC.
- Schlegel K., T, Schönherr, J and Schreiber L. 2005. Size selectivity of aqueous pores in stomatous cuticles of *Vicia faba* leaves. *Planta* 221: 648-655.
- Schönherr J. 2000. Calcium chloride penetrates plant cuticles via aqueous pores. *Planta* 212(1): 112-118.
- Sheehan T. J., J. Joiner N., and J. Cowart K. 1967. Absorption of P<sup>32</sup> by *Cattleya* 'Trimos' from foliar and root applications. Florida Agricultural Experiment Stations Journal Series. No 2812.
- Weltz M. 1897. Zur Anatomie der monandrischen sympodialen. *Orchideen*. Heidelberg.
- Wójcik P. 2004. Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization (Review). *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 12: 202-218.
- Yukawa T. and W. Stern. 2002. Comparative vegetative anatomy and systematic of *Cymbidium* (*Cymbidieae: Orchidaceae*). *Botanical Journal of Linnean Society* 138(4): 383-419.

Zanenga-Godoy R. y C. Gonçalves C. 2003. Anatomía foliar de cuatro especies de género de *Cattleya* Lindl. (ORCHIDACEAE) Do Planalto Central Brasileiro. Acta Botanica Brasilica 17(1): 101-118.

Zheng X. N., Z. Wen Q., and C. Hew S. 1992. Reponse of *Cymbidium sinense* to drought stree. Journal of Horticultural Science 67: 295-299.



### **CAPÍTULO III. COMPONENTES VOLÁTILES DE LA FLOR, OVARIO PEDICELADO Y RESIDUO ACUOSO EN *Cymbidium* sp. (ORCHIDACEAE)**

#### **VOLATILE COMPONENTS FLOWER, OVARY PEDICELLATE AND RESIDUE AQUEOUS IN *Cymbidium* sp. (ORCHIDACEAE)**

##### **Resumen**

*Cymbidium* sp., tiene varios usos ornamentales, medicinales y cosméticos. Mediante la extracción por hidrodestilación de flor y ovario pedicelado se obtuvieron los aceites esenciales, se realizó el perfil cromatográfico por cromatografía en capa fina (CCF), en combinación con la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) para la identificación y cuantificación relativa de diversas sustancias en tres muestras de la orquídea (flor, ovario pedicelado y residuo acuoso). Con CCF, se identificaron cinco componentes en la flor, siendo los más abundantes: terpineol, linalool y zingibereno, cinco para el ovario, encontrándose en mayor concentración borneol, cineol,  $\beta$ -bisaboleno; para el residuo acuoso el más abundante fue el geraniol. Mediante GC/MS se identificaron 25 componentes volátiles asociados con la flor, de estos los más abundantes fueron: linalool (22.92%), 4-metil fenol (15.07%) y p-ment-1-en-8-ol (12.32%). En ovarios pedicelados se identificaron 13 componentes, siendo los más abundantes 4-metil fenol (31.24%), biciclo [4.4.0] dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno- (17.74%) y linalool (4.62%); mientras que, en el residuo acuoso se encontraron 18 componentes siendo los más abundantes 4-metil fenol (18.71%) y 2-cyclohexen-1-ol (14.60%). Por lo que en el siguiente estudio se identificaron y cuantificaron los componentes volátiles en la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium* sp.

**Palabras clave:** Cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, Orchidaceae, hidrodestilación.

### **Abstract**

*Cymbidium* sp. has several ornamental, medicinal and cosmetic uses. Essential oils were obtained through extraction by hydrodistillation of flower and ovary pedicellate. The chromatographic profile was obtained by thin layer chromatography (TLC), combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), for the identification and relative quantification of various substances in three samples from the orchid (flower, ovary pedicellate and aqueous residue). With TLC, five components were identified in the flower, with the most abundant being terpineol, linalool and zingiberene, and five in the ovary, with borneol, cineole, and  $\beta$ -bisabolene being in the greatest concentration, while for the aqueous residue the most abundant was geraniol. Using GC/MS, 25 volatile components associated with the flower were identified, of which the most abundant were linalool (22.92%), 4-methylphenol (15.07%) and p-Menth-1-en-8-ol (12.32%). In ovaries 13 components were identified, with the most abundant being 4-methylphenol (31.24%), bicyclo [4.4.0] dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene- (17.74%) and linalool (4.62%), while in the aqueous residue 18 components were found, with the most abundant being 4-methylphenol (18.71%) and 2-cyclohexen-1-ol (14.60%). Therefore in the following discussion to identify and quantify the volatile components in the flower, ovary pedicellate and aqueous residue of *Cymbidium* sp

**Keywords:** thin layer chromatography, gas chromatography, Orchidaceae, hydrodistillation.

## I. Introducción

Las plantas sintetizan y emiten una gran cantidad de compuestos químicos éstos no solo son beneficiosos para el ser humano si no que también sus funciones principales juegan un papel clave en la supervivencia y la reproducción de estos organismos, tales como la defensa contra los herbívoros, patógenos y la atracción de apareamiento para la polinización (Jürgens and Viljoen, 2010; Schiestl, 2010; Soler *et al.*, 2011). En orquídeas los compuestos fitoquímicos presentes en las raíces, tubérculos, rizomas, pseudobulbos y hojas se han utilizado para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades (Cai *et al.* 2006; Adams *et al.*, 2011; Hossain, 2011). La familia *Orchidaceae* es la más grande dentro de las angiospermas, consta de más de 35, 000 especies y 750 géneros aproximadamente; y se encuentra ampliamente distribuida en regiones templadas y tropicales, a excepción de la Antártida, cuyas características estructurales y anatómicas son muy diversas (Albert *et al.*, 2010; Yoshikawa *et al.*, 2012). El género *Cymbidium*, representa una importante especie ornamental comercial, ya que es una de las orquídeas más populares y demandadas a nivel internacional por la belleza de sus flores. Asimismo, se ha utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de la parálisis, de forúnculos y fiebre. De las raíces frescas de *Cymbidium* Gran Flor Marie Larencin, se han aislado compuestos con actividad antibacteriana y citotóxica, tales como los fenantrenos. En *C. goeringii* se han aislado compuestos con actividad hipotensora y actividad diurética como el monómero peptidoglicano (Hossain *et al.*, 2009; Yoshikawa *et al.*, 2011; Watanabe *et al.*, 2007). Empero estas investigaciones, el estudio y la evaluación de los componentes volátiles emitidos por las orquídeas y sus posibles aplicaciones médicas es un campo amplio emergente a investigar (Gershenzon y Durarevam 2007; Dunkel *et al.*, 2009; Jürgens y Viljoen, 2010). En este contexto, el presente estudio, para contribuir al

conocimiento químico de *Cymbidium*, se aislaron identificaron y cuantificaron los componentes volátiles en la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium* sp.

## **II. Materiales y métodos**

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Se tomaron flores frescas de *Cymbidium* sp. mismas que fueron retiradas de la espiga floral; asimismo, de las flores se separó el ovario pedicelado, y se cortaron en pequeños fragmentos (Fig. 1A). En total se obtuvieron 549 g, y 71.22 g ovario pedicelado, éstas fueron pesadas mediante una balanza digital electrónica OHAUS, modelo (CT1200-S).

### **2.1. Análisis de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por cromatografía en capa fina (CCF)**

Los compuestos tanto de flores como de ovarios pedicelados se extrajeron por hidrodestilación durante 3 h. Se colectaron 30 mL de cada destilado, al cual se le hicieron tres extracciones con 30 mL de diclorometano ( $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ ) cada una. El extracto orgánico se secó con sulfato de sodio anhidro, el disolvente se evaporó usando un rotaevaporador y el rendimiento del aceite se obtuvo por diferencias de peso. Los extractos se almacenaron en frascos tipo vial, hasta su análisis. El perfil cromatográfico se hizo por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una placa de silica gel 60 F<sub>254</sub> con base de aluminio (10x10 cm). De las muestras disueltas en diclorometano se tomaron 10-20  $\mu\text{L}$  y se aplicaron en forma puntual en la placa. Esta se desarrolló en un sistema de tolueno: acetato de etilo (93:7 v:v) con previa saturación de la cámara cromatográfica. El revelado se hizo con el reactivo: vainillina a 2% en EtOH, ácido sulfúrico a 10% en EtOH, a 110 °C durante 5 min (Wagner y Bladt, 1996).

## **2.2. Análisis de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso mediante cromatografía de gases acoplado a un detector selectivo de masas (GC/MS)**

El análisis cuantitativo se realizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS) con un cromatógrafo de gases (HP-6890) acoplado a un detector de masas (HP-5973). La separación se realizó con una columna capilar HP-5ms (5% fenil metil siloxano) de 30 m X 250  $\mu\text{m}$  X 0.25  $\mu\text{m}$ . Las condiciones de operación del cromatógrafo fueron: temperatura inicial de 60 °C por 2 min aumentando 4 °C  $\text{min}^{-1}$ ; temperatura final fue de 250 °C, puerto de inyección a 250 °C; el split 10:1; flujo del gas helio de 1.5  $\text{mL min}^{-1}$ , cuadrupolo a 230 °C y voltaje a 1388 mV. Una alícuota del aceite se diluyó en 1 mL de diclorometano; inyectándose 1  $\mu\text{L}$  de la solución resultante. La identificación y cuantificación tomó como base a los tiempos e índices de retención, así como la biblioteca de espectros de masas del National Institute of Standards and Technology (NIST).

### **III. Resultados y discusión**

#### **3.1. Caracterización de los componentes de la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por (CCF)**

Mediante la técnica de CCF se identificaron cinco componentes en el aceite esencial de la flor de *Cymbidium* sp., cinco en el aceite del ovario pedicelado y dos en el residuo acuoso (Figura 1C). Los componentes que destacan en la flor son el terpineol con un valor de factor de retención ( $R_f$ ) de 0.14 y coloración café, linalool con un  $R_f$  de 0.38 y coloración azul, zingibereno con un  $R_f$  de 0.52 y coloración azul y la presencia de otros sesquiterpenoides con un  $R_f$  de 0.6 y coloración violeta. En el ovario pedicelado los componentes que destacan son: borneol con un  $R_f$  de 0.18 y coloración café, cineol con un  $R_f$  de 0.4 y coloración azul,  $\beta$ -

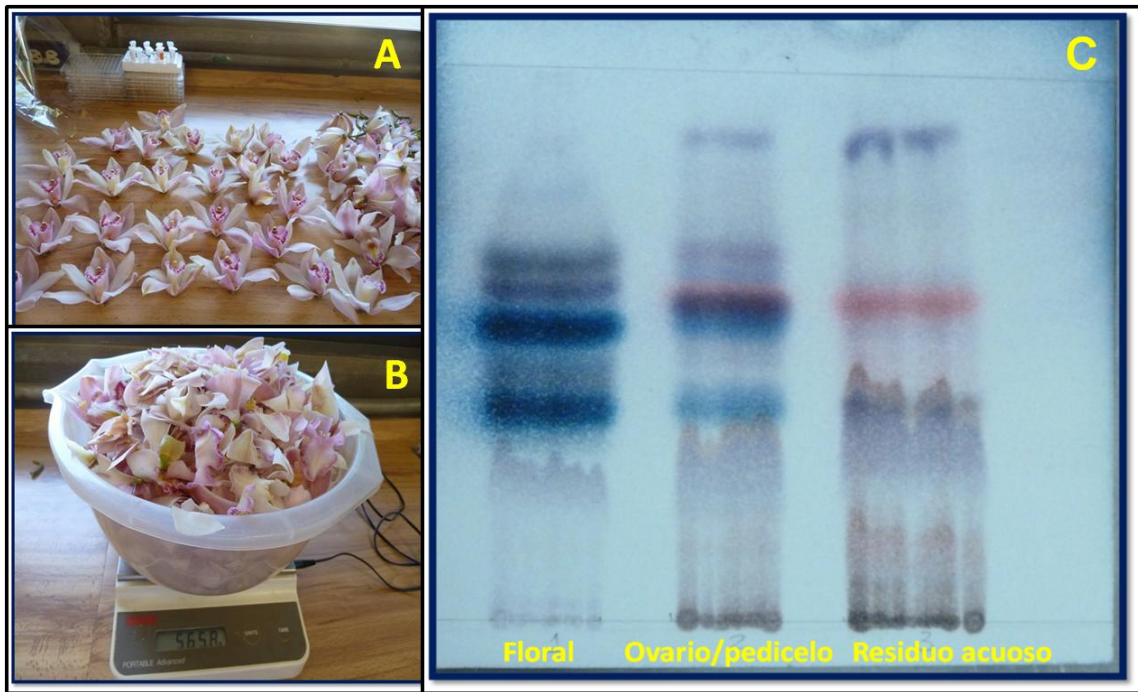


bisaboleno con un Rf de 0.53 y coloración azul y la presencia de otros terpenos con un Rf de 0.58 y coloración violeta. Mientras que en el residuo acuoso los componentes que destacan son: geraniol con un Rf de 0.2 y coloración café, y la presencia de sesquiterpenoides con un Rf de 0.6 y coloración violeta. Los datos por CCF son semejantes con los resultados de Omata *et al.*, (1990) al analizar los componentes de flores en dos especies de *Cymbidium* (*C. faberi* y *C. virescens*) por GC/MS donde obtuvieron el  $\alpha$ -terpineol 0.14%, linalool 0.21%, zingibereno 0.65%, 1,8-cineol 0.30% y el  $\beta$ -bisaboleno 0.31%.

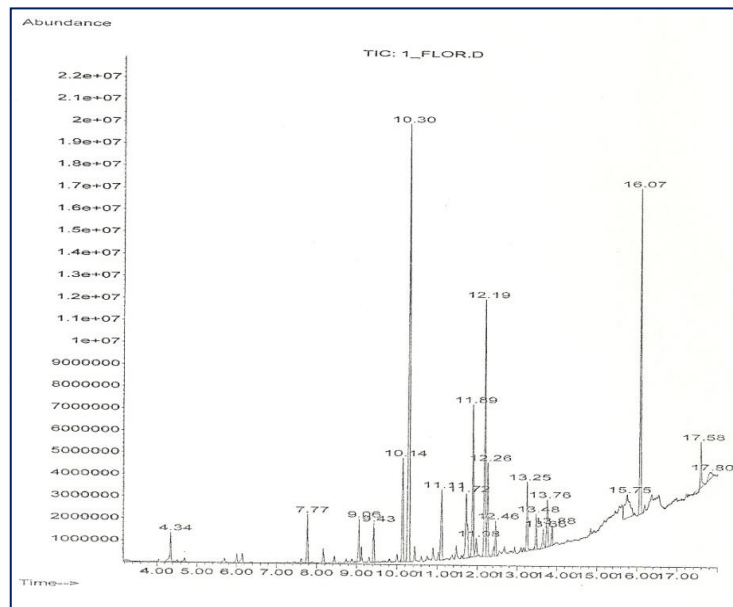
### **3.2. Identificación y cuantificación de las sustancias en la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso por (GC/MS)**

La técnica GS/MS permitió detectar 21 componentes en la estructura floral de *Cymbidium* sp. de los cuales 19 fueron identificados mediante la comparación de los espectros de masas y tiempos de retención (Fig. 2). En el Cuadro 1, se enlistan los componentes identificados a partir del cromatograma de los extractos, de los cuales los componentes más abundantes fueron: el linalool (22.92%) con un tiempo de retención (Rt) 10.30, 4-metil fenol (15.07%) con Rt de 16.07, p-ment-1-en-8-ol (12.32%) con Rt de 12.19 y el alcanfor (5.48%) con un Rt de 10.14. En flores de la orquídea *Dendrophylax lindenii* (Lindley) Bentham mediante análisis por GC/MS se encontró un bajo porcentaje de linalool (5%) (Sadler *et al.*, 2011). Al analizar los componentes volátiles de las flores por GC/MS en dos especies de *Cymbidium* (*C. faberi* y *C. virescens*) en Japón, se identificó únicamente en *C. faberi* el linalool en una concentración muy baja (0.21%) Omata *et al.*, (1990). El linalool es compuesto aromático muy solicitado en la industria de fragancias, este monoterpeno con un grupo alcohol, presenta diversas actividades biológicas entre las que se encuentran la antimicrobiana, antiinflamatoria,

antineoplásica y propiedad anti-oxidante; adicionalmente, varios estudios confirman efectos positivos de este compuesto en el sistema nervioso central, además juega un papel importante en la naturaleza durante la polinización de especies de plantas para asegurar la reproducción y la supervivencia (Kamatou y Viljoen 2008). En el caso del extracto del ovario pedicelado y el residuo acuoso, los componentes más abundantes fueron el 4-metil fenol (31.24 y 18.71% respectivamente) (Cuadros 2 y 3) con valores Rt de 16.07 y 16.08, respectivamente (Figuras 3 y 4). Los compuestos fenólicos se han utilizado como antioxidantes naturales y han cobrado importancia para los humanos debido a sus beneficios medicinales. Asimismo son de gran interés por sus usos como aditivo en la conservación de alimentos al reportarse actividad antimicrobiana en éstos (Sousa *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2008). Otros compuestos identificados como el bisabolol en una concentración 2.07%, y el benzaldehído 1.49% en órgano floral y residuo acuoso respectivamente. Los porcentajes de estos compuestos son superiores a los reportados en flores de *C. faberi* y *C. virescens* por Omata *et al.* (1990), con porcentajes de 0.6% y 0.2% para bisabolol y benzaldehído respectivamente. Un estudio fitoquímico realizado en *C. aloifolium* con extractos de hojas encontraron altos contenidos de compuestos como flavonoides, azúcares reductores, glucósidos cianogénicos, terpenos y taninos; sin embargo, no caracterizaron a cada uno de los componentes (Maridassa *et al.*, 2008). Williams en (1978) al realizar estudios fitoquímicos en hojas de 142 especies en 72 géneros de la familia *Orchidaceae* entre ellos *Cymbidium*, demostró que las concentraciones de componentes volátiles en una misma especie varía de manera considerable de una región geográfica a otra; los compuestos más comunes fueron flavonas C-glucósidos (53%) y flavonoides (37%), sin embargo los compuestos no eran uniformes y su distribución mostró una fuerte correlación con la ubicación geográfica de la planta.



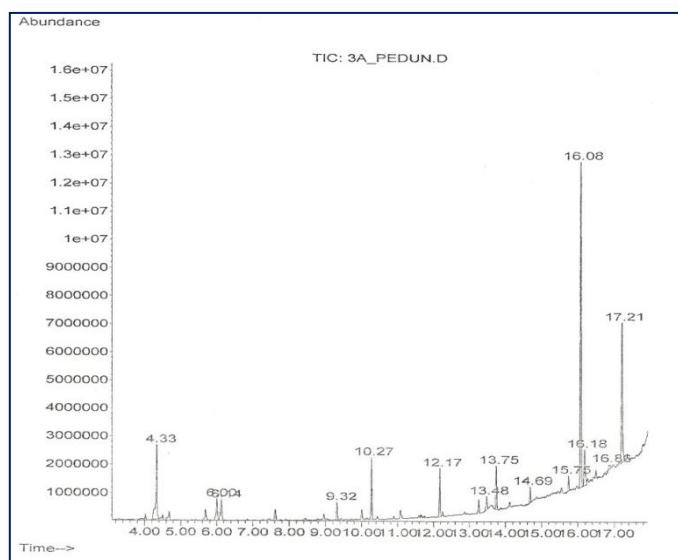
**Figura 1.** A) Flores de *Cymbidium* sp., B) corte de las flores en trozos pequeños y C) Cromatografía en Capa Fina (CCF), en órgano floral, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium* sp.



**Figura 2.** Cromatograma de gas de extracto de flores de *Cymbidium* sp.

**Cuadro 1. Componentes volátiles encontrados en flores de *Cymbidium* sp.**

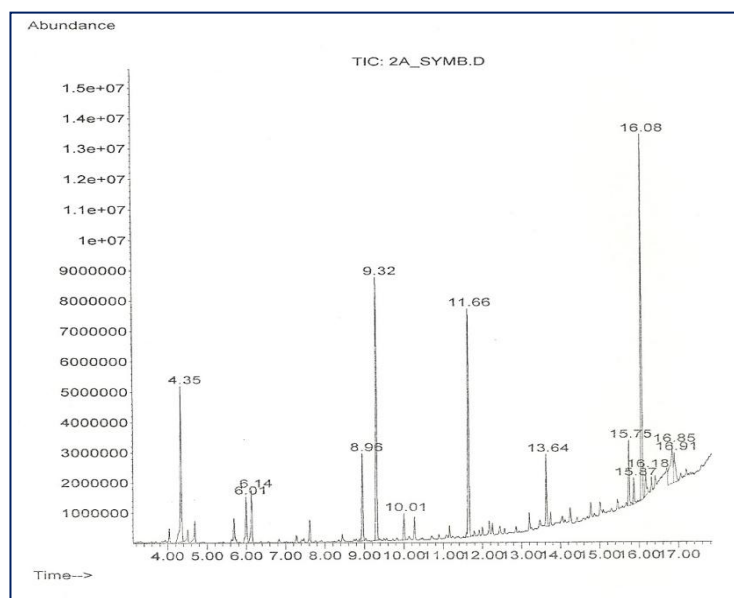
No. de pico	Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Área %
1	4.34	2-hexanone	1.55
2	7.77	1-Hexanol	2.11
3	9.07	Linalool (fr.1)	2.19
4	9.43	Cis-Linalool oxido	1.73
5	10.14	Alcanfor	5.48
6	10.30	Linalool	22.92
7	10.44	1-Octanol	0.69
8	10.75	Biciclo [2.2.1]heptan-3-ona, 6,6-demetil-2-metileno	0.44
9	10.9	(1R)-(+)-Norinona	0.79
10	11.1	L-4-terpineol	3.78
11	11.47	(1R)-(-)Mirtenal	0.83
12	11.72	L-pinocarveol	4.77
13	11.89	No identificado	7.35
14	11.98	Criptona	1.33
15	12.19	p-ment-1-en-8-ol	12.32
16	12.26	L-borneol	4.64
17	12.41	Cis-Verbenona	0.48
18	12.46	No identificado	1.59
19	12.68	D-Carvona	0.79
20	13.25	Mirtenol	3.67
21	13.48	2,4-Decadienal, (E,E)-	1.72
22	13.66	Cis-Carveol	1.20
23	13.75	2,6-Octadien-1-ol,3,7-dimetil-	2.64
24	16.07	4-metil fenol-	15.07
25	17.58	Alfa-Bisabolool	2.07



**Figura 3. Cromatograma de gas en el extracto del ovario pedicelado de *Cymbidium* sp.**

**Cuadro 2. Componentes volátiles encontrados en el ovario pedicelado de *Cymbidium* sp.**

Número de pico	Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Área %
1	4.33	2-Hexanona	10.24
2	4.68	3-Pentanol, 3-metil-	1.41
3	5.69	3-Hexanol	1.48
4	6.01	Hexanol,1-metoxi-	2.78
5	6.14	Ciclopentanol, 1-metil-	3.04
6	7.62	Ciclopentanol, 3-metil-	1.20
7	9.32	2-Ciclohexen-1-ol	1.72
8	10.28	Linalool	5.46
9	12.17	p-menth-1-en-8-ol	4.62
10	13.26	Cis-Geraniol	1.38
11	13.48	No identificado	2.43
12	13.75	Trans-Geraniol	4.18
13	14.69	No identificable	1.64
14	15.01	1-Nonadeceno	1.69
15	15.55	Cembrano	1.32
16	15.75	No identificado	1.72
17	16.07	4-metil fenol-	31.24
18	16.18	No identificable	4.50
19	17.21	Biciclo[4.4.0]dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno-	17.74



**Figura 4. Cromatograma de gas del residuo acuoso de *Cymbidium* sp.**

**Cuadro 3. Compuestos volátiles encontrados en el residuo acuoso de *Cymbidium* sp.**

Número de pico	Tiempo de retención	Nombre del compuesto	Área %
1	4.35	2-Hexanona	9.40
2	2.69	3-pentanol,3-metil-	1.50
3	5.69	3-Hexanol	1.45
4	6.01	2-Pentanol, 4-metil-	2.72
5	6.14	Ciclopentanol, 1-metil-	3.25
6	6.61	Ciclopentanol, 3-metil-	1.27
7	8.86	2-Ciclohexen-1-ona	5.12
8	9.33	2-Ciclohexen-1-ol	14.60
9	10.01	Benzaldehído	1.49
10	10.28	Linalool	1.25
11	11.66	2-Clorociclohexanol	12.65
12	12.17	$\alpha$ -Terpineol	0.95
13	13.64	Ácido hexanoico	4.19
14	13.75	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-	0.70
15	16.08	4-metil fenol	18.71
16	16.18	No identificado	2.80
17	16.42	1-Hexacoseno	1.83
18	16.71	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatrieno-5,14-diol	6.81
19	16.85	(R)-(-)-14-Metil-8-hexadecin-1-ol	6.81
20	16.91	Octacosanol	3.39

#### IV. Conclusiones

En los órganos florales de la orquídea *Cymbidium* sp., se identificó un mayor número de terpenos como el linalool (22.29%), así como el 4-metil fenol- y p-ment-1-en-8-ol, en comparación con el ovario pedicelado y residuo acuoso donde los componentes con mayor concentración fueron el 4-metil fenol- (31.24 y 18.71%, respectivamente), el cual evidencia sus propiedades biológicas y su potencial en cosméticos y perfumería.

Los métodos de análisis por CCF y GC/MS permitieron identificar los compuestos en órganos florales, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium* sp., que en trabajos previos no se habían realizado.

El GC/MS permitió analizar con gran precisión la composición de los diferentes compuestos químicos en los extractos florales, ovario pedicelado y residuo acuoso. Mientras que la CCF técnica muy sensible y económica permitió la caracterización preliminar de los aceites esenciales presentes en el extracto de las florales.

## V. Literatura citada

Adams M., Alther W. Kessler M. Kluge M. and M. Hamburger. 2011. Malaria in the renaissance: Remedies from European herbals from the 16th and 17th century. *Journal of Ethnopharmacology* 133: 278-288.

Albert N., W., Arathoon A. V. Collette E., K. Schwinn E., E. Jameson P., D. Lewis H., Zhang. H. and K. Davies M. 2010. Activation of anthocyanin synthesis in *Cymbidium* orchids: variability between known regulators. *Plant Cell Organ Cult* 100: 355-360.

Cai M. Zhou Y. Gesang S. Bianba C. and L. Ding S. 2006. Chemical fingerprint analysis of rhizomes of *Gymnadenia conopsea* by HPLC-DAD-MS<sup>n</sup>. *Journal of Chromatography B*. 844: 301-307.

Dunkel M. Schmidt U. Struck S. Berger L. Gruening B. Hossbach J. S. Jaeger I., Effmert U. Piechulla B. Eriksson R. Knudsen J. and R. Preissner. 2009. SuperScent – a database of flavours and scents. *Nucleic Acids Research* 37: 291-294.

- Gershenzon J. and Dudareva N. 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology* 3: 408-414.
- Hossain M., M. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances - An overview. *Fitoterapia*. 82: 102-140.
- Hossain M., M., S. Madhu and P. Promila. 2009. Cost effective protocol for *in vitro* mass propagation of *Cymbidium aloifolium* (L.). Sw.- a medicinally important orchid. *Eng. Life Sci.* 9(6); 444-453.
- Jürgens A. and A. Viljoen M. 2010. Chemical diversity and biological functions of plant volatiles. *South African Journal of Botany* 76: 607-611.
- Kamatou G. P. and A. Viljoen M. 2008. Linaool – A review of a biologically active compound of commercial importance. *Natural Product Communications* 3: 1183-1192.
- Maridass M., M. Hussain I., and G. Rajuac. 2008. Phytochemical survey of orchids in the Tirunelveli Hills of South India. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 705-712.
- Oliveira I. Sousa A. I. Ferreira C., Bento A. Estevinho L. and J. Pereira A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Junglans regia* L.) Green husks. *Food and Chemical Toxicology* 46: 2326-2331.
- Omata A., Nakumara S. Yomogida K. Morial K. and I. Ichihawa. 1990. Volatile Components of TO-YO-RAN flowers (*Cymbidium faberi* and *Cymbidium virescens*). *Agric. Biol. Chem.*, 54(4): 1029-1990.
- Sadler J., J., J. Smithl M., S. Zettlerl L., H. Alborn T., and L. Richardson W. 2011. Fragrance composition of *Dendrophylax lindenii* (Orchidaceae) using a novel technique applied *in situ*. *European Journal of Environmental Sciences*, 1(2): 137-141.



- Schiestl F., P. 2010. The evolution of floral scent and insect chemical communication. *Ecology Letters* 13: 643-656.
- Soler C. Hossaert-McKey M. Buatois B. J. Bessière M. Schatz B. and M. Proffit. 2011. Geographic variation of floral scent in a highly specialized pollination mutualism. *Phytochemistry* 72: 74-81.
- Sousa A., C. Ferreira I. F. R., Calhella R., P. Andrade B., Valentão P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and J. Pereira A. 2006. Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives “alcaparra”. *Bioorg. Med. Chem.* 14: 8533-8538.
- Wagner H. and S. Bladt. 1996. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas.* 2nd. Edition. Springer Verlag. Berlin. 384 p.
- Watanabe K., Tanake R. Sakurai H. Iguchi K. Yamada Y. Chau-Shin H. Sakuma C. Kikuchi H. Shibayama H. and T. Kawai. 2007. Structure of cymbidine A, a monomeric peptidoglycan-related compound with hypotensive and diuretic activities, isolated from a higher plant, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *Chemical Pharmaceutic Bulletin.* 55: 780-783.
- Williams C., A. 1978. The leaf flavonoids of the leaf the Orchidaceae. *Phytochemistry* 18: 803- 813.
- Yoshikawa S., Asaka Y. and T. Hashimoto. 2012. Phenanthrene derivatives from *Cymbidium* Great Flower Marie Laurencin and their biological activities. *J. Nat Prod.* 75(4): 605-9.
- Zhu X., Zhang H., and R. Lo 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7272-7278.



## **CAPÍTULO IV. VARIABLES AGRONÓMICAS EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *Cymbidium* sp. (ORCHIDACEAE)**

### **AGRONOMIC VARIABLES IN THE GROWTH KINETICS OF *Cymbidium* sp. (ORCHIDACEAE)**

#### **Resumen**

En la búsqueda de identificar los requerimientos nutrimentales de *Cymbidium* sp. se estableció la presente investigación donde se cuantificó el desarrollo y floración de la orquídea en función de las relaciones de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (100/00, 80/20, 60/40 y 00/100) en la solución nutritiva, en combinación con fertilización foliar (FF), y la frecuencia de aplicación de la solución nutritiva, una (M) o dos veces (MV) a la semana. La relación de las fuentes de amonio y nitrato influyó en las lecturas SPAD (79.76 en enero), el mayor número de brotes vegetativos (5.04), y número de pseudobulbos (4.95) se presentó con la relación 60/40. Se encontró una estrecha relación entre las concentraciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  y las condiciones climáticas en el desarrollo de *Cymbidium* sp. Los escapos florales más largos y con vigor se presentaron en las plantas regadas con la solución nutritiva relación 80/20. Las relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  influyeron en la concentración de nitrógeno y manganeso en la planta.

**Palabras clave:** fertilización foliar, pseudobulbos, desarrollo vegetativo, escapos florales.

## **Abstract**

In order to identify the nutrient requirements of *Cymbidium* sp., this study quantified the development and flowering of the orchid as a function of the  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratios (100/00, 80/20, 60/40 and 00/100) in the nutrient solution, in combination with foliar feeding (FF) and the application frequency of the nutrient solution, which was once or twice a week. The ratio of ammonium and nitrate sources influenced SPAD readings (79.76 in January); the highest number of vegetative buds (5.04) and number of pseudobulbs (4.95) occurred with the ratio 60/40. A close relationship was found between  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  concentrations and climatic conditions in the development of *Cymbidium* sp. The longest and most robust floral scapes were presented in the plants watered with nutrient solution ratio 80/20. The  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratios influenced the concentration of nitrogen and manganese in the plant.

**Keywords:** foliar feeding, pseudobulbs, vegetative development, floral scapes.

## I. Introducción

La orquídea *Cymbidium* está entre los más importantes cultivos de flores, ya que se comercializa como flor de corte, además de otras características particulares como tamaño, forma, color, y la longevidad de sus flores (Barman *et al.*, 2008). Un aspecto fundamental para el crecimiento y desarrollo de orquídeas es la fertilización ya que bajo un adecuado manejo producen flores notablemente grandes y son resistentes a plagas y enfermedades (Novais y Rodrigues, 2004; Rodrigues *et al.*, 2010). Aunque la asimilación de nitrógeno en las plantas ha sido ampliamente estudiada, hay muy poca información sobre la absorción, transporte y el almacenamiento de nitrógeno en orquídeas. Hew *et al.* (1993) mencionan que la absorción de minerales por las orquídeas es lenta en relación a otras plantas superiores. Wang (2008), al evaluar el efecto de nitrato y amonio en *Phalenopsis* y su relación con variables como longitud de hoja, longitud de tallo y floración temprana, encontró que estas variables incrementaron con la aplicación de nitrato independientemente de su concentración, no así con la aplicación de amonio. Rui-Chi y Jun-Xian (1994) sugieren la aplicación de concentraciones bajas de nitrato y amonio durante la etapa vegetativa de *Cymbidium sinense*, mientras que en la etapa reproductiva (diferenciación de yemas florales) es favorable la aplicación de  $\text{NO}_3^-$ -N en concentraciones de 1 y 10  $\text{mmol L}^{-1}$ . Los tratamientos que recibieron únicamente  $\text{NH}_4^+$ -N no presentaron brotes florales; se considera que el lento crecimiento de *C. sinense* puede deberse a su menor tasa de fotosíntesis y baja actividad de la nitrato reductasa. La combinación de una alta concentración de N durante el crecimiento vegetativo y la omisión de ésta durante la emergencia de brotes generativos da como resultado un mayor rendimiento (Lunt y Kofranedk, 1961; Arnold Bik y van den Berg, 1983). En *Cymbidium* se tiene reportes que al aumentar la conductividad eléctrica de la solución nutritiva (0.6, 1.0 y 1.4  $\text{dS m}^{-1}$ ) se

incrementan el número de brotes vegetativos, sin embargo a una baja conductividad eléctrica ( $0.6 \text{ dS m}^{-1}$ ) el número de brotes florales aumenta, aunque los tallos resultaron ser cortos y con vida de florero menos prolongada (Kreij y van den Berg, 1990).

Diversas investigaciones se han enfocado en analizar formulaciones y concentraciones de fertilizantes minerales que influyen en el crecimiento vegetativo y floración de diversos híbridos comerciales (Sheehan, 1961; Chang *et al.*, 2010). El análisis de crecimiento de la orquídea durante la etapa vegetativa en los diferentes órganos (raíces, pseudobulbos y hojas), puede explicar el número de brotes florales y la calidad de la flor. Después del carbono, el nitrógeno (N) es el elemento requerido en grandes cantidades por las plantas; aproximadamente 1-5% de la materia seca total de la planta se compone de N. El N es un constituyente integral de las proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, co-enzimas, fitohormonas y metabolitos secundarios. Las principales fuentes de N absorbidas por las raíces de las plantas superiores son el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). EL nitrato se presenta generalmente en concentraciones más altas (1-5 mM) que el amonio (20-200  $\mu\text{M}$ ) en la solución de suelos agrícolas. El nitrato es también más móvil en el suelo que el amonio y por lo tanto es más disponible para las plantas (Miller y Cramer, 2004). La absorción de nitrato y amonio en las raíces de la plantas está mediada por proteínas de transporte situadas en la membrana plasmáticas de las células epidérmicas y corticales de la raíz. Los sistemas de transporte fisiológicos median la absorción de nitrato y amonio con diferentes afinidades. Los sistemas de transporte de alta afinidad (HATS) operan a baja concentración ( $< 0.5 \text{ mM}$ ) de nitrato o amonio externo. En concentraciones más altas, ( $> 0.5 \text{ mM}$ ), la absorción se da principalmente a través de los sistemas de transporte de baja afinidad (LATS), lo que permite grandes flujos de sustrato a una alta disponibilidad del mismo (Hawkesfors *et al.*, 2012). Basado en lo antes

expuesto, el objetivo de la investigación fue medir el efecto de las formas iónicas de N (nitrato y amonio) en la cinética de crecimiento y producción de flor de *Cymbidium* sp.

## II. Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en un invernadero de tipo cenital con cubierta plástica con estructuras de acero galvanizado, ventilación lateral con malla anti-afidos, con cuatro ventiladores y malla con 50 % de sombra, con temperaturas promedio máxima de 30 °C y mínima de 25°C, el experimento se realizó en la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, en Uruapan, Michoacán, México. Las plantas utilizadas oscilaban de entre 3 y 4 años, se trasplantaron a macetas con capacidad de 20 kg, el sustrato fue tezontle rojo que se cribó a tamaño de partículas de 10 mm, el sustrato se desinfectó con hipoclorito de sodio al 10% durante 12 h, para posteriormente someterlo a triple lavado con agua corriente. A las macetas se les adicionó tezontle a un cuarto de su capacidad, se colocó la planta de *Cymbidium* sp. a raíz desnuda, previamente lavadas para retirar los residuos de la tierra de monte, y se procedió a llenar las macetas con tezontle, quedando bien fijadas las plantas.

El experimento se instaló en junio del 2012 y culminó en mayo del 2013, las plantas de *Cymbidium* sp se colocaron en cuatro líneas con 15 plantas cada una con una distancia de 25 cm, entre una y otra. El riego se hizo a todas las plantas con agua una vez al día (100 mL/día). Se establecieron en forma simultánea dos experimentos; el primero un factorial (4 X 2) que consistió en la evaluación de cuatro relaciones de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (100/00, 80/20, 60/40 y 00/100 en base a porcentaje) con dos frecuencias de aplicación de la solución (una vez y dos veces por semana), sobre el desarrollo de *Cymbidium* sp. Cuadro 1. El segundo experimento donde

se midió el efecto de la fertilización foliar del Peka<sup>®</sup> (fertilizante foliar completo con 150 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, y 160 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O), en combinación con las cuatro relaciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (100/00, 80/20, 60/40 y 00/100) de la solución nutritiva sobre el desarrollo de la orquídea (Cuadro 2). En los dos experimentos cada tratamiento se instaló con cinco repeticiones.

**Cuadro 1.** Tratamientos establecidos con diferentes relaciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la solución nutritiva y número de riegos para medir su efecto en el desarrollo de *Cymbidium* sp.

Tratamiento	Descripción de tratamiento
1	Relación 100:00 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada una vez a la semana
2	Relación 100:00 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada dos veces a la semana
3	Relación 80:20 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada una vez a la semana
4	Relación 80:20 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada dos veces a la semana
5	Relación 60:40 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada una vez a la semana
6	Relación 60:40 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada dos veces a la semana
7	Relación 00:100 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada una vez a la semana
8	Relación 00:100 (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) aplicada dos veces a la semana



**Cuadro 2.** Tratamientos establecidos con diferentes relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva y fertilización foliar para medir su efecto en el desarrollo de *Cymbidium* sp.

Tratamiento	Descripción de tratamiento
1	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 100:00
2	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 100:00 + FF*
3	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 80:20
4	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 80:20 + FF
5	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 60:40
6	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 60:40 + FF
7	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 00:100
8	Solución relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) 00:100 +FF

\*FF= fertilización foliar

Las soluciones nutritivas se elaboraron con base en la solución nutritiva de Steiner (1961) al 50 % de la concentración total, (expresada en  $\text{mol}_e \text{ m}^3$ : 12  $\text{NO}_3^-$ , 1  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , 7  $\text{SO}_4^{2-}$ , 7  $\text{K}^+$ , 9  $\text{Ca}^{2+}$  y 4  $\text{Mg}^{2+}$  y micronutrientes), mismas que se modificaron, de acuerdo a los tratamientos, al utilizar la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en base a porcentaje (Cuadro 3). La solución nutritiva se complementó con micronutrientes (1  $\text{mL L}^{-1}$  de solución nutritiva preparada) en las proporciones: 1.6  $\text{g L}^{-1}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 1.81  $\text{g L}^{-1}$   $\text{MnSO}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ , 0.22  $\text{g L}^{-1}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0.18  $\text{g L}^{-1}$   $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  y 0.02  $\text{g L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Para el Fe se preparó una solución madre de quelato de Fe comercial al 13.5 % de Fe-EDTA en un litro de agua, aplicando 1 mL por cada 2  $\text{L}^{-1}$  de solución a preparar. En el caso de la fertilización foliar se utilizó 1.5 mL por cada  $\text{L}^{-1}$  de agua. Las soluciones nutritivas se prepararon en tanques de 100 L de capacidad por relación ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ) con base a lo establecido en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Sales minerales utilizadas en la preparación de las soluciones nutritivas

<b>100/00 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (CE= 1.0 dS m<sup>-1</sup>)</b>		<b>80/20 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (CE= 1.27 dS m<sup>-1</sup>)</b>	
<b>Fuente</b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>	<b>Fuente</b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.531	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.034
KNO <sub>3</sub>	0.152	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.095
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.131	MgSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.172
MgSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.246	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.204
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.068	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.079
		Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.384

<b>60/40 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (CE= 1.0 dS m<sup>-1</sup>)</b>		<b>00/100 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (CE= 0.558 dS m<sup>-1</sup>)</b>	
<b>Fuente</b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>	<b>Fuente</b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.425	MgSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.154
MgSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.246	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.068
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.272	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.033
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.158	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.125
		CaCl <sub>2</sub>	0.124

El pH de las soluciones nutritivas fue en el intervalo de 5.5-6.0, la aplicación de las soluciones nutritivas se hizo en forma manual agregando 250 mL por planta. La aplicación foliar se hizo asperjando en todo el follaje ya que por las características de las hojas casi en forma inmediata se presentaba escurrimiento.

## 2.1 Variables evaluadas

### 2.2. Cinética de crecimiento:

#### 2.2.1. Número de brotes, número de hojas de los brotes, número de pseudobulbos, número de hojas en pseudobulbos

El conteo se realizó cada 30 días, durante 12 meses en invernadero.

### **2.2.2. Índice de verdor**

Las lecturas SPAD (Minolta 502) se determinaron cada mes durante un año. La determinación se realizó en las hojas más recientemente maduras, sin que tuvieran ningún daño mecánico o presencia de enfermedad.

## **2.3 A los doce meses**

### **2.3.1. Determinación de $\text{NO}_3^-$ y $\text{NH}_4^+$ en el extracto tisular *Cymbidium* sp.**

Con el uso de los equipos portátiles Horiba y Hanna se realizaron determinaciones de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  en el extracto celular de tejido foliar, las determinaciones se realizaron en el último mes de evaluación (mayo del 2013), para ello se cortaron las hojas recientemente maduras, se lavaron con agua desionizada, y la parte basal se cortó en trozos pequeños y se depositaron en una jeringa de 3 mL en donde por presión se extrajo el extracto celular correspondiente a cada tratamiento. Se realizaron diluciones previas a las determinaciones de concentración; en el caso del nitrato una relación 1:10 y en el caso del amonio 1:100 utilizando agua desionizada. Se hicieron las lecturas en los ionómetros y en los cálculos se consideraron las diluciones.

### **2.3.2. Análisis químico de tejido vegetal**

En esta determinación se muestrearon dos hojas por planta, se lavaron con agua destilada, se cortaron en tres segmentos (basal, medio y apical) y se pusieron a secar en horno de aire forzado 72 h a 72 °C. Una vez seca las muestras la parte basal de la hoja, se molió introduciendo en una licuadora domestica, para posteriormente analizarla en el laboratorio el estatus nutrimental hojas de *Cymbidium* sp. El contenido de nitrógeno total se determinó empleando el método Semimicro-Kjeldahl (Bremner, 1965) utilizando ácido sulfúrico-

salicílico para su digestión. La determinación P, K, Ca, Mg Fe, Zn, Mn y B se realizó mediante digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácidos perclórico y nítrico (Alcántar y Sandoval, 1999). La lectura de los extractos obtenidos después de la digestión y filtrado se determinó en el equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma ICP-AES VARIAN<sup>TM</sup> modelo Liberty II.

## **2.4 Al corte de la flor.**

**2.4.1. Longitud de escapo floral:** se midió con una cinta métrica al momento del corte.

**2.4.2. Número de nudos por escapo:** al momento del corte se contaron.

### **2.4.3. Diámetro de escapo:**

Al corte del escapo se dividió en tres partes la vara (apical, media y basal) y se hizo la lectura de diámetro utilizando un vernier digital marca Truper con graduación de 0.01 mm a 152.4 mm.

**2.4.4. Número de flores:** se contabilizaron al momento del corte.

## **2.5. Postcosecha**

### **2.5.1. Vida de florero**

Se cuantificaron los días de florero desde el corte del escapo floral hasta el inicio de la senescencia de la última flor. Durante la evaluación de esta variable se utilizó el conservador

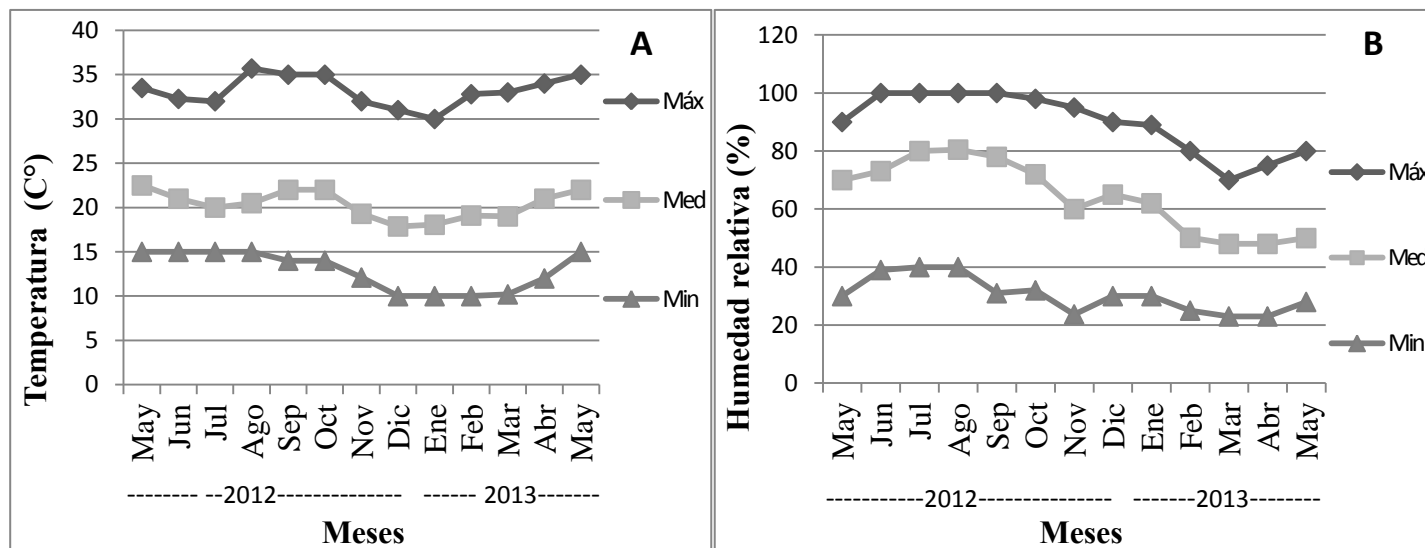
comercial Floralife<sup>®</sup>, diluyendo 3.5 g en 1 L de agua de la llave; esta solución distribuyó en frascos con capacidad de 350 mL el cual contenían los tallos.

## **2.6 Análisis estadístico**

Los análisis de varianza y las pruebas de comparación de medias se realizaron según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los datos obtenidos se analizaron utilizando el programa estadístico SAS (SAS 9.2, 2010).

### III. Resultados y discusión

Durante los doce meses que se evaluaron las plantas en el invernadero, se observaron diferencias en el desarrollo de éstas, algunos meses por efecto de tratamiento y otros por efecto de ambiente en especial cambio de la temperatura y humedad relativa como se indica en la (Figura 1A y B).



**Figura 1.** A) Temperatura (C°) y B) Humedad relativa (%) máxima, media y mínima, en invernadero durante los meses de junio a mayo (2012-2013).

Como se observa en la (Figura 1A) a de junio a noviembre se presentaron temperaturas diurnas altas que por lo regular no son las más recomendadas para el cultivo de orquídeas. Durante la etapa de producción de escapes florales (a partir de noviembre) la temperatura bajo por tres meses para posterior incrementarse y al mismo tiempo disminuyó la humedad relativa motivo por el cual a partir de febrero se integra un sistema de nebulización lo que incrementa la humedad como se observa en la (Figura 1B).

Como se observa en los (Cuadros 4 y 5) el análisis de varianza en los dos experimentos indica diferencias estadísticas significativas por efecto de la fuente de variación en brotes,

número de hojas de brotes, hojas en pseudobulbos y lecturas SPAD, durante el desarrollo del documento se discutirá esta información.

**Cuadro 4.** Análisis de varianza del efecto de las relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  y frecuencia de aplicación de soluciones nutritivas sobre el desarrollo de *Cymbidium* sp. en condiciones de invernadero.

FV	G. L.	BRO	HBR	PSEU	HPSE	SPAD
<b>Fecha</b>	11	**	**	ns	*	**
<b>Relación <math>\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+</math></b>	3	**	ns	ns	*	ns
<b>FR</b>	1	ns	ns	ns	ns	ns
<b>REL:FR</b>	3	**	ns	ns	**	ns
<b>Fecha:REL</b>	33	ns	ns	ns	ns	ns
<b>CV</b>		35.95	13.91	38.99	58.82	9.25

F.V.= Fuente de variación; G.L.= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; BR= Brotes; HBR= hojas en brotes; PSEU= pseudobulbos; HPSEU= hojas en pseudobulbos; SPAD= Lecturas SPAD; FR= frecuencia de riego; REL= relación nitrato amonio; ns = No significativo; \* = Significativo al 5 %; \*\* = Altamente significativo al 5 %.

**Cuadro 5.** Análisis de varianza del efecto de las relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  y fertilización foliar sobre el desarrollo de *Cymbidium* sp. en condiciones de invernadero.

FV	G. L.	BRO	HBR	PSEU	HPSE	SPAD
<b>Fecha</b>	11	**	**	ns	*	**
<b>Relación <math>\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+</math></b>	3	*	ns	*	**	ns
<b>FF</b>	1	ns	ns	ns	ns	ns
<b>REL:FF</b>	3	**	ns	ns	*	ns
<b>Fecha:FF</b>	33	ns	ns	ns	ns	ns
<b>CV</b>		32.86	13.25	38.10	64.29	9.66

FV= Fuente de variación; G.L.= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación BR= Brotes; HBR= hojas en brotes; PSEU= pseudobulbos; HPSEU= hojas en pseudobulbos; SPAD= Lecturas SPAD; FR= frecuencia de riego; REL= relación nitrato amonio; ns = No significativo; \* = Significativo al 5 %; \*\* = Altamente significativo al 5 %.

En el análisis estadístico se encontraron en algunas variables diferencias estadísticas significativas por solución nutritiva de riego o por días de aplicación de la solución, en la manera en que se presente los resultados se indicará si hubo o no esas diferencias estadísticas.

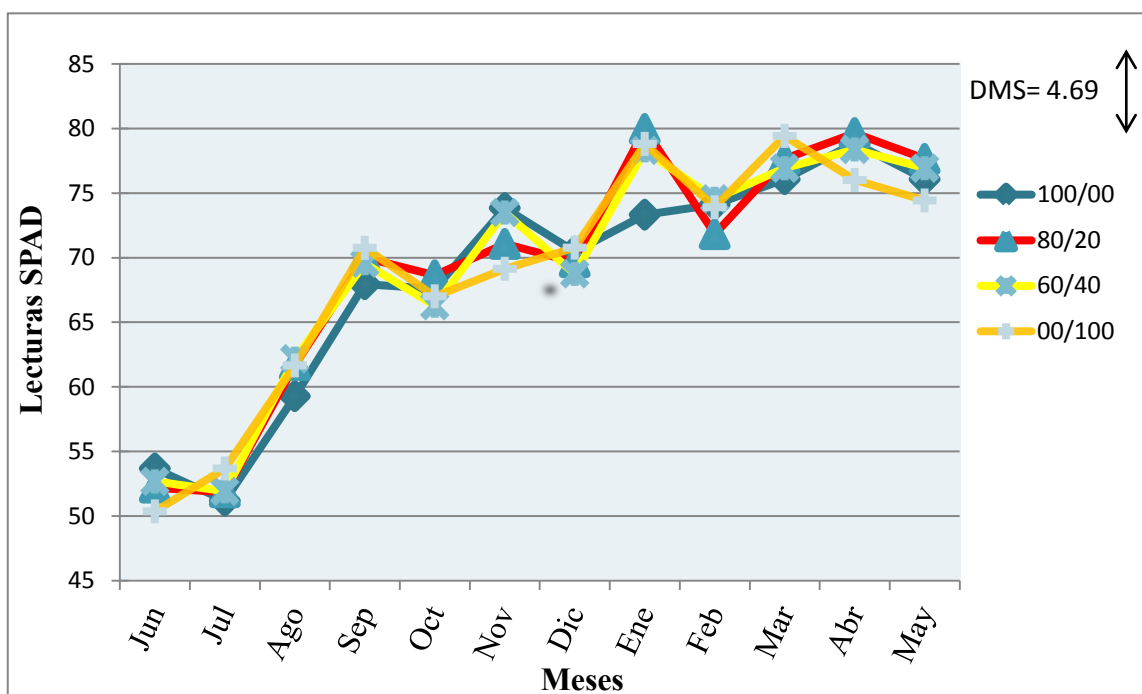
### 3.1. Lecturas SPAD

El índice de verdor, que se mide a través del SPAD mostró diferencias estadísticas altamente significativas por fecha. En la Figura 2 se observa un incremento de aproximadamente 30 unidades del mes de junio cuando inicio el experimento al mes de mayo en que termina, lo que indica que independientemente de la relación nitrato amonio en la solución nutritiva, la aplicación de estas favoreció el índice de verdor. No se encontró diferencias estadísticas por relación nitrato amonio. Las plantas desarrolladas con la solución nutritiva  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  100/00 incrementaron en forma constante el índice de verdor como se observa en la Figura 1, a diferencia de las que se regaron con solución 60/40 y 00/100 donde se presentaron fluctuación en las lecturas SPAD. Sugapriya *et al.* (2012) al medir lecturas SPAD en 12 variedades de *Dembrobiium* encontró valores máximos de lecturas en la var., Sonia-17 de 80.53, mientras que para la var. Burana fancy fue de 58.90, esta variación entre las variedades en las lecturas SPAD puede atribuirse a características genéticas.

Las lecturas SPAD están estrechamente relacionadas con el contenido de N en la misma, por lo que resulta razonable asumir que la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva para plantas de *Cymbidium* afecta la coloración verde de las hojas y en consecuencia las lecturas del estimador de clorofila SPAD. Sandoval *et al.* (2002) realizaron un estudio en diferentes variedades de tomate y utilizaron dos proporciones de  $\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva (0 y 25%)



y señalan que las lecturas SPAD son más altas en plantas abastecidas con 25% de  $\text{NH}_4^+$  que en aquellas regadas sin  $\text{NH}_4^+$ . Chen *et al.* (2004) estudiaron las relaciones nitrato amonio  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (0:100, 50:50, 100:00), en 12 cultivares de col china en condiciones de hidroponía y encontró que las lecturas SPAD aumentan con el incremento de la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  y que la mayoría de los cultivares presentaron mejor crecimiento con la solución nutritiva relación 50:50.



**Figura 2.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva en las lecturas SPAD de las hojas de *Cymbidium* sp. durante 12 meses de evaluación. DMS= diferencia mínima significativa.

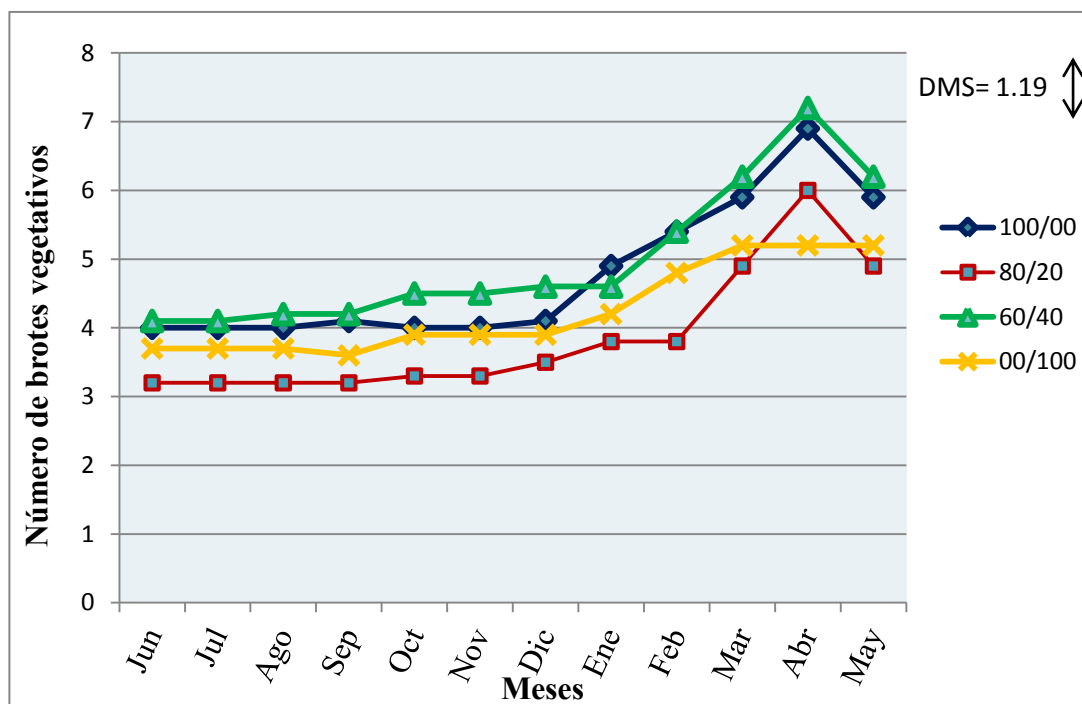
Por efecto de número de riegos con solución nutritiva y aplicaciones de fertilizante foliar, no se observaron diferencias estadísticas significativas para esta variable (Cuadro 1).

### 3.2. Número de brotes vegetativos

En el número de brotes se encuentran diferencias altamente significativas (Cuadro 1) por fecha y por efecto  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  y es a partir de diciembre donde se incrementa notablemente el número de éstos hasta en un 61%. Esta variable está altamente influenciada con las fuentes nitrogenadas ya que debe haber un buen crecimiento vegetativo para obtener un gran número de brotes generativos. Por efecto de solución nutritiva el mayor número de brotes vegetativos se presentó en las plantas con 60/40 (5.04), 100/00 (4.76), 00/100 (4.33) y 80/20 (3.87). De marzo a abril hay un aumento notorio en los brotes en todos los tratamientos (Figura 3), sin embargo si los brotes vegetativos son demasiado exuberantes es posible que se reduzca la formación de yemas generativas. Existen evidencias que indican que alta concentración de N durante el crecimiento vegetativo y la omisión de la fertilización durante la emergencia de brotes generativos se obtiene la mayor producción de escapos en *Cymbidium* (Arnold Bik y van den Berg, 1993). Se tienen reportes que los brotes vegetativos de *Cymbidium* emergen en otoño, invierno, primavera y principios de verano pero dependerá del tipo de híbrido en estudio (Kreij y van den Berg, 1990).

Durante el crecimiento de los brotes vegetativos, los brotes generativos surgen de las axilas de las hojas, en verano estos brotes se convertirán en las varas que se cosecharán durante el próximo invierno (diciembre-febrero) (Kreij y van den Berg, 1990). En este estudio la tendencia en el número de brotes en el tiempo fue diferente, ya que los brotes vegetativos y generativos iniciaron en noviembre, esta respuesta puede estar relacionada con el establecimientos del experimento a principios de junio (verano), en donde se interrumpió

prácticamente el inicio de los brotes vegetativo, además el cambio de un sustrato a otro (tierra de monte a tezontle) probablemente provocó estrés en las plantas, por lo que es conveniente evaluar por más tiempo esta orquídea (Kreij y van den Berg, 1990).

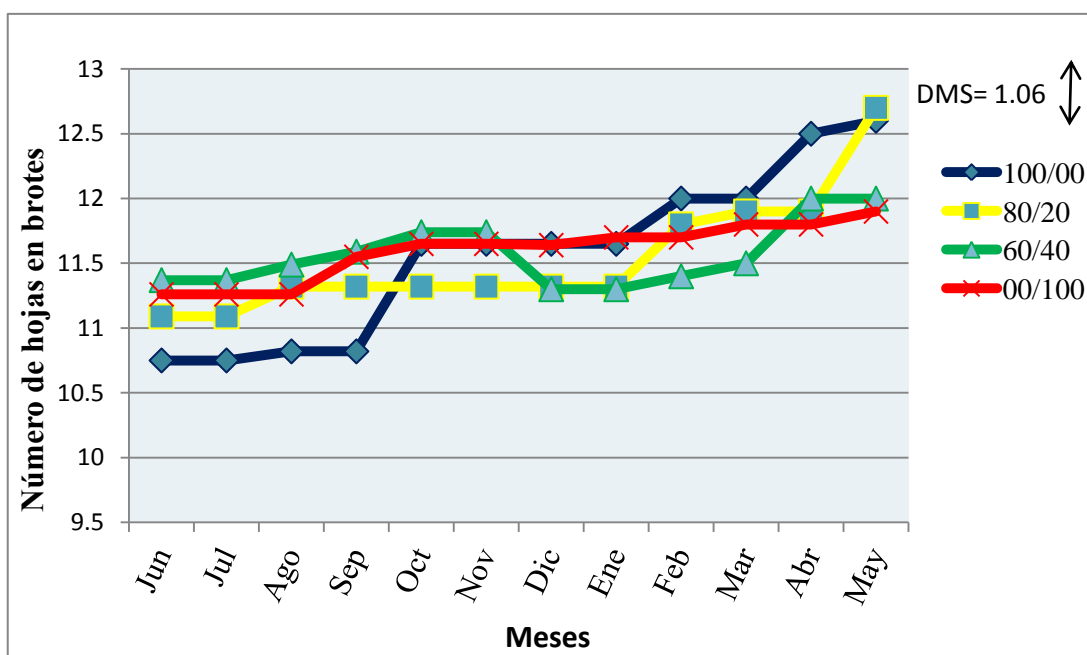


**Figura 3.** Efecto de la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva en el número de brotes vegetativos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea *Cymbidium* sp. DMS= diferencia mínima significativa.

El  $\text{NH}_4^+$  absorbido por las raíces se asimila o se almacena en las vacuolas de la raíz o se transporta a las partes aéreas (brotes). Generalmente se ha propuesto que el amonio no se utiliza para el transporte a larga distancia dentro de la planta, sin embargo, la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en el xilema puede estar en intervalos milimolares, por lo que es de suponerse que el amonio es transportado de la raíz a los brotes (Finnemann y Schjoerring, 1999; Rawat *et al.*, 1999; Yuan *et al.*, 2007). Por riego y fertilización foliar no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 4 y 5).

### 3.3. Número de hojas en brotes

En esta variable hubo diferencias altamente significativas por efecto de fechas. Durante los primeros cuatro meses no hay mucha diferencia en el número de hojas, es hasta el mes de enero con la relación 100/00 y la 00/100 donde el número de hojas por brote promedio fue de 11.63 y 11.7 respectivamente, mientras que las relaciones 80/20 y 60/40 son de 11.3 cada una (Figura 4). El incremento en el rendimiento de flor en *Cymbidium* podría atribuirse al mayor número de brotes por planta, ya que a partir de las axilas surgen los brotes generativo y las hojas en los brotes favorecen la actividad fotosintética que da como resultado máxima producción y acumulación de fotosintatos.



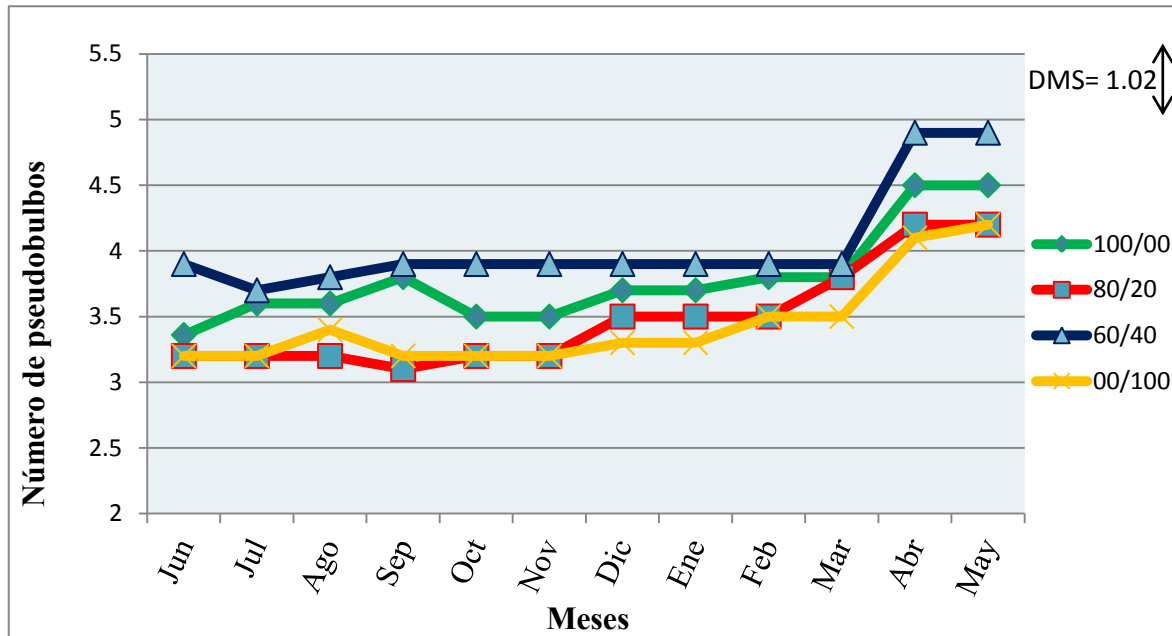
**Figura 4.** Relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva en el número de hojas en brotes vegetativos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea *Cymbidium* sp. DMS= diferencia mínima significativa.

El amonio puede ser tóxico para las plantas cuando es la principal fuente de N, lo que provoca retraso en crecimiento y desarrollo. Sin embargo experimentos demuestran que la presencia de  $\text{NH}_4^+$  en la solución de nutrientes combinada con nitrato estimula la absorción de  $\text{NO}_3^-$ . Por lo tanto, es conveniente incluir el amonio en la solución nutritiva en etapas tempranas en crecimiento vegetativo y excluirlo desde inicio de floración y hasta el final del ciclo. Varios autores sugieren que el porcentaje de los iones de  $\text{NH}_4^+$  en la solución de nutrientes no debe exceder el 50% de la concentración total de N (Jones, 2005). En esta variable no se encontraron diferencias estadísticas significativas por número de aplicaciones de la solución nutritiva ni por aplicaciones foliares ni por la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ .

### **3.4. Número de pseudobulbos**

En el número de pseudobulbos no presentó diferencias estadísticas significativas, se observó un incremento notable a partir del mes de marzo (Figura 5). Con la relación 60/40 los valores máximos en el número de pseudobulbos fueron de enero a mayo con valores promedio de (4.95) bulbos por maceta, para la relación 100/00 el valor fue de (4.5) y tanto para la relación 80/20 y 00/100 el número de los órganos fueron en febrero y mayo con valores (4.2 y 4.1). La combinación de las dos fuentes de nitrógeno o por separado son utilizadas sin ningún problema por las plantas de *Cymbidium*. Naik *et al.* (2013) al evaluar diferentes fórmulas de fertilización y conductividades eléctricas de éstas en *Cymbidium* 'Sleeping Nymph' encontraron que el mayor número de pseudobulbos por grupo aumentó con una conductividad  $1.5 \text{ mS cm}^{-1}$  y con la fórmula 20-20-20 NPK. Por su parte Sugapriya *et al.* (2012), encontraron diferencias en el número de pseudobulbos por planta, utilizando distintas variedades comerciales de *Dendrobium* los máximos valores fueron para Sonia-17 (9.73), Srisophol

(6.10) y Emma White (4.93), por lo que existen diferencias en cuanto a características entre variedades comerciales.

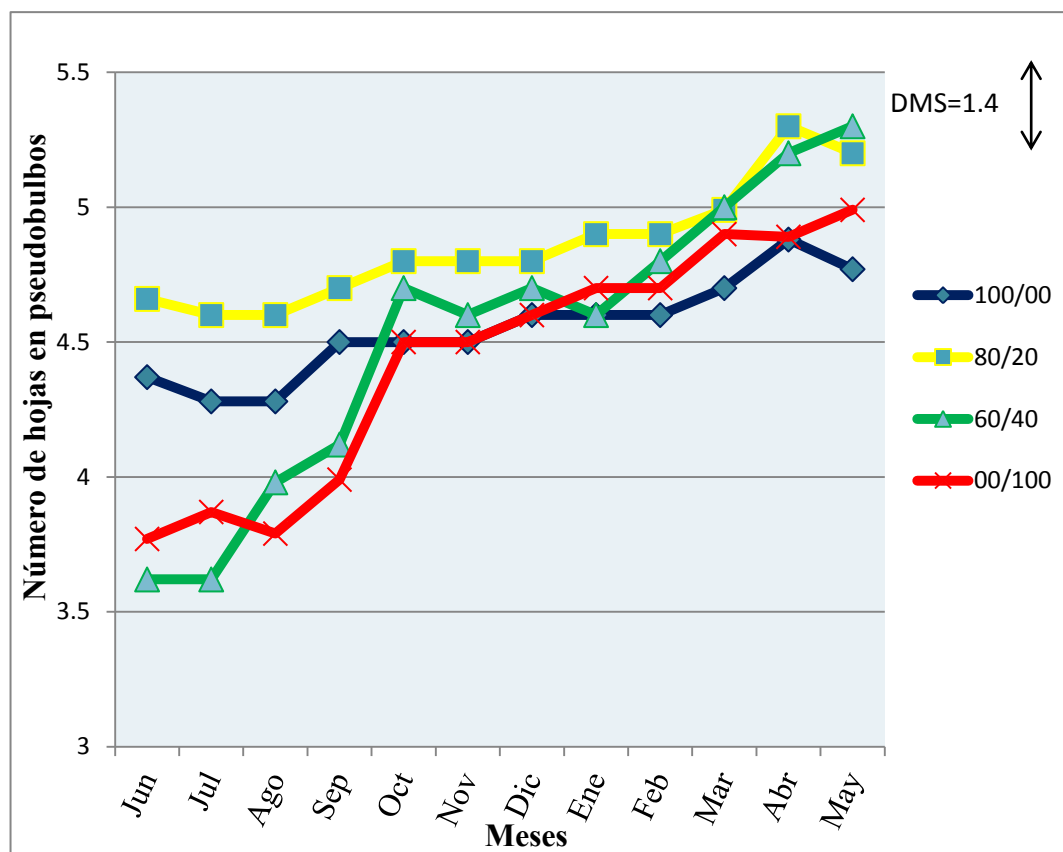


**Figura 5.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva en el número de pseudobulbos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea *Cymbidium* sp. DMS= diferencia mínima significativa.

La respuesta a la absorción de nutrientes en orquídeas es diferente en *Oncidium Goldiana* la absorción de nitrato fue más alta durante la formación de pseudobulbos. La removilización de nutrientes minerales almacenados en pseudobulbos “viejos”, en la formación de nuevos pseudobulbos es un indicador de la demanda de la planta en función de la formación de sus estructuras, por lo que la acumulación de nutrientes minerales durante la etapa de desarrollo de estos órganos constituye una importante fuente de reserva para futuros brotes e inflorescencias (Hew y Ng, 1996). No se encontraron diferencias estadísticas significativas por efecto de número de riegos y aplicaciones foliares ni por soluciones nutritivas evaluadas.

### 3.5. Número de hojas en pseudobulbos

El número de hojas en pseudobulbos presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos por fechas y relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^-$  así como experimento de frecuencia de riego como de fertilización foliar. En la Figura 6 las plantas de *Cymbidium* regadas con la solución 80/20 presentaron en promedio el mayor número de hoja en pseudobulbos (5.5) y es en el mes de abril en los cuatro tratamientos aumenta esta variable. A partir de febrero se mantiene constante el número de hojas. El desarrollo de las hojas está relacionado con la producción de fotosintatos y absorción nutritmental, la absorción de minerales en esta orquídea se mantiene lenta en relación a otras plantas (Hew *et al.*, 1993).



**Figura 6.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva en el número de hojas en pseudobulbos, durante 12 meses de evaluación en la orquídea *Cymbidium* sp. DMS= diferencia mínima significativa.

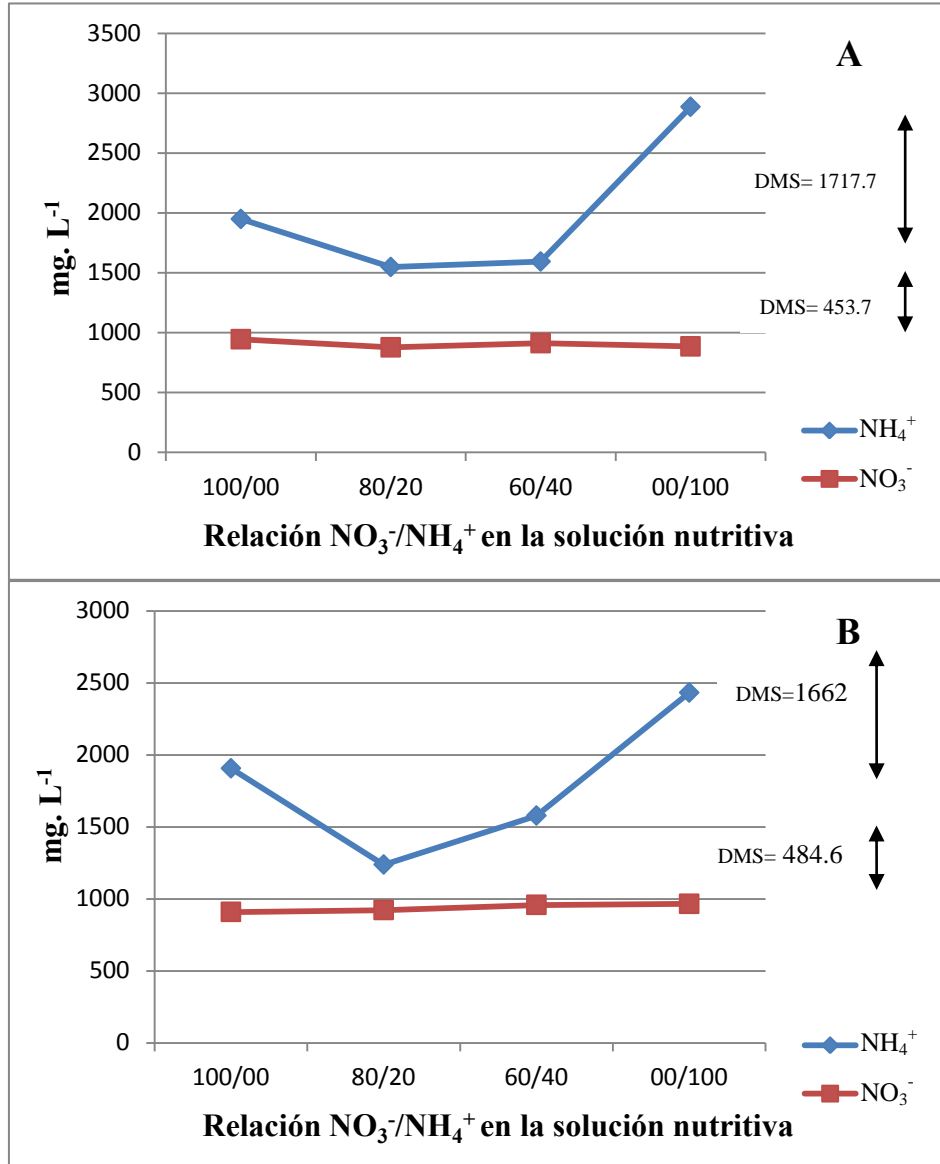
Sugapriya *et al*, (2012) evaluaron el crecimiento y rendimiento de nueve variedades de *Dendrobium* y observaron diferencias, donde el mayor número de hojas en pseudobulbos se encontró en ‘Medame ureaiwan’ con (18.33) por grupo de variedades, estos valores son tres veces más que las encontradas en *Cymbidium* sp aunque cabe mencionar que son especies diferentes. Las hojas son las principales fuentes de la asimilación del carbono, por lo que los pseudobulbos representan así una importante fuente suplementaria de carbohidratos que se utilizan para satisfacer la creciente demanda de carbono durante la inflorescencia y el nuevo desarrollo de los brotes. Esta observación es importante y explica la necesidad de al menos dos brotes vegetativos para el óptimo desarrollo de las varas florales (Ng y Hew, 2000).



### 3.6. Concentración de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en el extracto tisular de hojas

En la determinación de ambos iones no se encontraron diferencias estadísticas significativas, entre los tratamientos, por relaciones nitrato amonio en la solución, frecuencia de riego y fertilización foliar (Figura 7A y B). Los valores más altos de amonio se encuentran en las plantas donde se aplicaron soluciones nutritivas 100/00 y 00/100, cuando en la relaciones se combina el nitrato y amonio, la concentración de amonio disminuye notablemente (80/20, 60/40) y es cuando se suministra exclusivamente amonio aumenta la concentración de éste en la savia (Figura 7A).

La mayor parte de las sales de amonio, ya sea procedente de la reducción del nitrato o de la absorción directa de la solución del suelo, se incorpora generalmente en compuestos orgánicos en raíces, si bien el  $\text{NH}_4^+$  también puede ser translocado a los brotes en plantas que recibieron nitrato como única fuente de N (Schjoerring *et al.*, 2002).

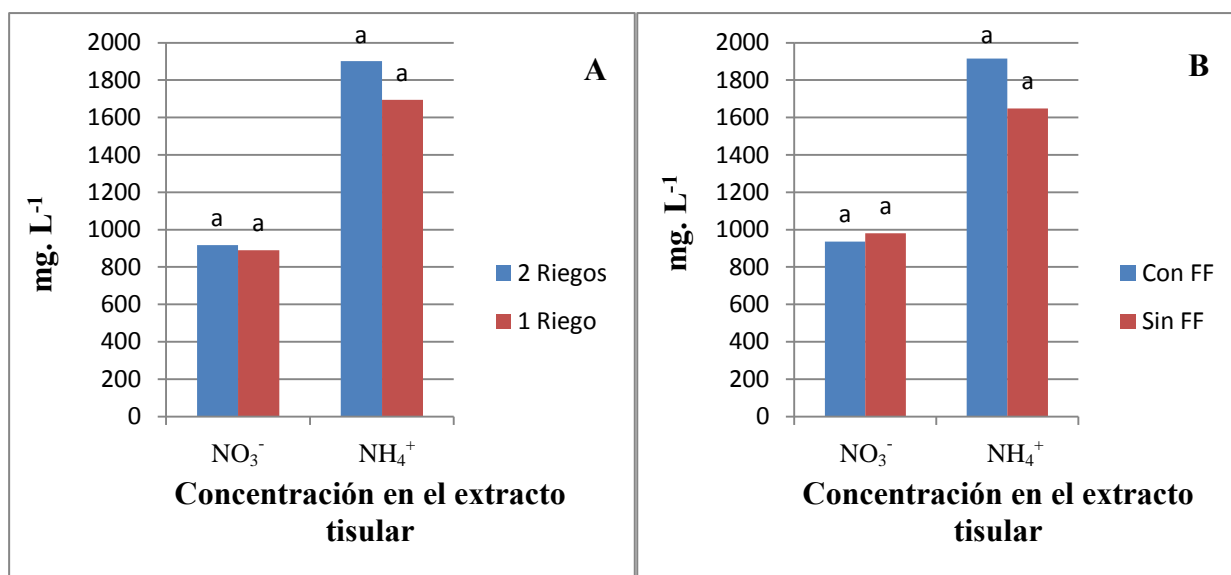


**Figura 7.** Concentración de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en extracto tisular de hojas en *Cymbidium* sp. por efecto de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva A) Con uno y dos riegos a la semana, B) Con y sin fertilización foliar. DMS= diferencia mínima significativa.

La asimilación de  $\text{NH}_4^+$  por las raíces tienen un gran necesidad de esqueletos de carbono para la síntesis de aminoácidos, estos esqueletos de carbono son proporcionados por el ciclo del

ácido tricarbóxico (TCA) y los compuestos intermediarios removidos tienen que ser repuestos por el aumento de la actividad PEP carboxilasa. En comparación con el suministro de nitrato, la fijación neta de carbono en raíces con el  $\text{NH}_4^+$  es varias veces más alta (Viktor y Cramer, 2005). Se ha propuesto de que la tasa de absorción de minerales en raíces de orquídeas es relativamente baja en comparación con otros cultivos, relacionado principalmente por las características anatómicas y morfológicas de la raíz. Estudios realizados en medios de cultivos *in vitro* líquidos con *Dendrobium* 'Multico White' han reportado una absorción preferencial de iones  $\text{NH}_4^+$  sobre  $\text{NO}_3^-$  en función del tiempo, la absorción preferencial de este catión se puede atribuir a pH inicial favorable en el medio de cultivo. En la orquídea *Aranda* Noorah Alsagoff las tasas de absorción de amonio son mayores que las de nitrato en callos de cultivo de tejidos a un pH de 5.0-5.5. En la absorción de amonio se observaron una disminución de pH en el medio de cultivo, lo cual se le atribuye a un flujo de salida de protones, del mismo modo el incremento del pH en la absorción de nitrato es el resultado la salida de iones hidroxilos. En *Bromheadia filaysoniana* la absorción de nitrato y amonio varía linealmente con el tiempo en plantas adultas, mientras que en plántulas jóvenes no hay una absorción de amonio sobre nitrato. Las enzimas claves involucradas en la asimilación de nitrógeno incluyen la nitrato reductasa (NR), glutamina sintetasa (GS) y glutamato deshidrogenasa (GDH). La actividad de la NR está presente en hojas y raíces de orquídeas pero su actividad es considerablemente menor que la cebada. La actividad de GS es mayor en hojas que en la raíces de orquídeas, y es comparable a los niveles encontrados en hojas de cebada. La GDH también se ha detectado en hojas y raíces de orquídeas (Hew *et al.*, 1993; Hew y Yong, 2004).

La frecuencia de aplicación de la solución nutritiva no modificó la concentración de nitrato y amonio de tal forma que es suficiente una sola aplicación de solución a la semana (Figura 8A) al igual que por fertilización foliar (Figura 8B), a pesar de cuantificar casi el doble de concentración de amonio en función de nitrato. La absorción preferencial de  $\text{NH}_4^+$  se han reportado para otras orquídeas como *Dendrobium*, *Aranda* y *Bromheadia filaysoniana*, aunque se ha propuesto que la tasa de absorción de minerales en raíces de orquídeas es relativamente baja en comparación con otros cultivos (Hew *et al.*, 1993; Hew y Yong, 2004).



**Figura 8.** Concentración de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en el extracto tisular en hojas de *Cymbidium* sp. por efecto de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, A) con dos riegos a la semana y B) Con y sin fertilización foliar. Letras iguales en la barra indican valores estadísticamente no diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Bajo una nutrición con  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , el protón generado por la absorción de amonio se puede utilizar para la reducción de nitrato, por lo tanto es más fácil para las plantas regular el pH

intracelular cuando se suministra ambas formas de N. La asimilación de  $\text{NH}_4^+$  en las raíces produce alrededor de un protón por moléculas de amonio (Raven y Smith, 1986).

### 3.7. Concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp.

En el Cuadro 6 se muestra las concentraciones nutrimental de macronutrientes y micronutrientes obtenidas en hojas de *Cymbidium* 12 meses después de instalado el experimento en función de la relación de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  de la solución nutritiva se encontraron diferencias estadísticas significativas sólo para nitrógeno y manganeso como se muestra en el cuadro, es importante hacer mención que en esta investigación hay una relación directa entre estos dos elementos y las lecturas SPAD que también presentaron diferencias estadísticas significativas. Concentraciones similares se han reportado en diferentes cultivares de *Cymbidium* como: Floripink, Pendragon y Traceredway con concentraciones de (1.13, 1.39 y 1.72 %) (De Pascale *et al.*, 2001).

**Cuadro 6.** Concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp., por efecto de la relación de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva

$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	N	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Fe	B
	g kg <sup>-1</sup>						mg kg <sup>-1</sup>		
<b>100/00</b>	11.76 ab	1.20 a	9.64 a	3.74 a	1.66 a	0.713 a	59.16 b	47.4 a	79.84 a
<b>80/20</b>	13.19 a	1.51 a	11.38 a	4.48 a	1.84 a	0.85 a	88.91 ab	46.7 a	88.52 a
<b>60/40</b>	10.82 b	1.76 a	11.21 a	3.79 a	2.06 a	0.794a	60.37 b	79.9 a	92.39 a
<b>00/100</b>	16.6 ab	1.47 a	9.43 a	4.79 a	2.25 a	0.724a	108.37 a	54.4 a	94.64 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas  $P \leq 0.05$ .

Mientras que Hew y Yong (2004) reportan hasta el doble de concentración de N (2.33 %) en brotes vegetativo de *Cymbidium* sp.

No hubo diferencias estadísticas significativas en la concentración nutrimental por efecto de la fertilización foliar (Cuadro 7), sin embargo las concentraciones encontradas tanto de macro como de micronutrientes son similares a las reportadas en otros trabajos, así para N en el cultivar ‘Traceredway’ se reportan concentraciones de 1.72 % (De Pascale *et al.*, 2001). Mills y Jones (1996) reportan en plantas jóvenes de *Cymbidium* concentración de N de 1.33 % y en hojas maduras de 1.50%. Los valores encontrados para K y Ca son menores a los reportados por este trabajo. Hew y Yong (2004) en Mn y B reportan valores de 54 y 48 mg kg<sup>-1</sup> concentraciones bajas en comparación a los resultados de este trabajo.

**Cuadro 7.** Concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp., por efecto de la fertilización foliar.

FF	N	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Fe	B
			g kg <sup>-1</sup>				mg kg <sup>-1</sup>		
<b>Sin FF</b>	11.76 a	1.54 a	10.69 a	4.28 a	2.01 a	0.77a	87.11a	67 a	92.08a
<b>Con FF</b>	11.95 a	1.43 a	10.14 a	4.12 a	1.90 a	0.76 a	71.3 a	47.32 a	85.61a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas P≤0.05.

En la interacción relación NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y fertilización foliar (Cuadro 8) hubo diferencias significativas (P≤0.05); únicamente para N en la relación 60/40 y 00/100 con 9.58 y 13.56 g kg<sup>-1</sup> respectivamente; para el manganeso se encontraron diferencias NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para las relaciones 100/00 FF y 60/40 sin FF 52.6 y 53.97 mg kg<sup>-1</sup>; Naik *et al.* (2013) reportan altos valores de N, P y K en hojas de *Cymbidium* (2.21, 0.66 y 1.98 % respectivamente). Por su parte Wang (1998), menciona que una conductividad eléctrica elevada en la solución puede dar lugar a una mayor concentración de nutrientes como el N, P y K en las hojas.

**Cuadro 8.** Efecto de la interacción de los factores de estudio: relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva y fertilización foliar en la concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp.

Trat	$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	FF	N	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Fe	B
			g kg <sup>-1</sup>					mg kg <sup>-1</sup>			
1	100/00		11.92 ab	1.11 a	9.26 a	3.90 a	1.46 a	690 a	65.72 ab	39.95 a	79.85 a
3	100/00	FF	11.6 ab	1.29 a	10.01a	3.57 a	1.87 a	734.5 a	52.6 <b>b</b>	54.85 a	79.84 a
4	80/20		13.32 ab	1.51 a	11.84 a	3.98 a	2.06 a	879.4 a	83.62 ab	39.19 a	89.28 a
6	80/20	FF	13.06 ab	1.51 a	10.92 a	4.98 a	1.6 a	822.6 a	94.21 ab	54.35 a	87.76 a
7	60/40		12.06 ab	1.92 a	12.12 a	4.00 a	2.04 a	811.3 a	53.97 <b>b</b>	125.69 a	102.93 a
9	60/40	FF	9.58 <b>b</b>	1.60 a	10.29 a	3.57 a	2.07 a	771.5 a	66.76 ab	34.26 a	81.86 a
10	00/100		9.76 ab	1.63 a	9.54 a	4.58 a	2.47 a	668.1 a	81.89 ab	63.17 a	96.26 a
12	00/100	FF	13.56 a	1.31 a	9.32 a	5.00 a	2.04 a	780.7 a	134.86 a	45.81 a	93.02 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas  $P \leq 0.05$ .

En relación a las frecuencias de aplicación de las soluciones nutritivas, no se encontraron diferencias estadísticas significativas, las concentraciones están dentro de los intervalos reportados por Mills y Jones (1996) y Hew y Yong (2004) (Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp., por efecto de la relación de la frecuencia de aplicación de riegos.

Frecuencia de riego	N	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Fe	B
	<b>g kg<sup>-1</sup></b>						<b>mg kg<sup>-1</sup></b>		
<b>Cada 3 días</b>	12.71a	1.63 a	10.05 a	4.02 a	1.85 a	0.76 a	49.36 a	67 a	83.93 a
<b>Cada 7 días</b>	11.76 a	1.54 a	10.69 a	4.12 a	2.01 a	0.75 a	71.3 a	52.67 a	92.08 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas  $P \leq 0.05$ .

En la interacción relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  frecuencia de aplicación de solución se encontraron diferencias estadísticas en nitrógeno (Cuadro 10) con una concentración de 13.12, 13.32 y 13.12 g kg<sup>-1</sup> con las relaciones 100/00 cada tres días y 80/20 con cada tres y siete días.



**Cuadro 10.** Efecto de la interacción de los factores de estudio: relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva y frecuencia de aplicación de riegos en la concentración nutrimental en hojas de *Cymbidium* sp.

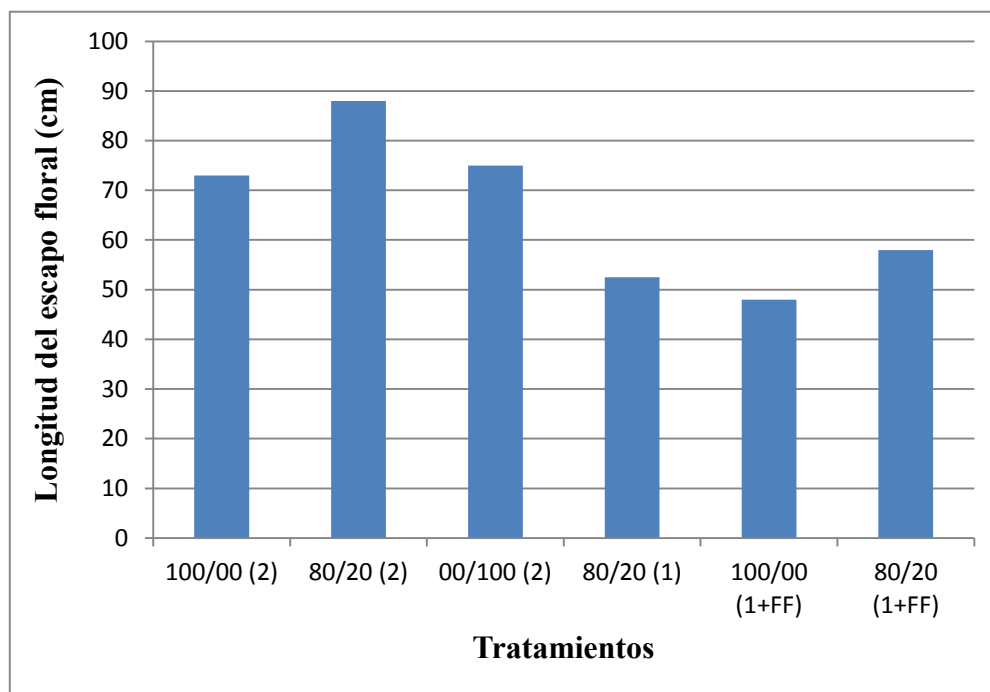
Trat	$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	Frecuencia de Riego	N	P	K	Ca	Mg	S	Mn	Fe	B
					g kg <sup>-1</sup>					mg kg <sup>-1</sup>	
1	100/00	Cada 7 días	11.92 ab	1.11 a	9.26 a	3.90 a	1.46 a	0.69 a	65.72 a	39.95 a	79.85 a
2	100/00	Cada 3 días	13.12 a	1.69 a	12.08 a	4.48 a	1.78 a	0.84 a	36.89 a	48.65 a	92.81 a
4	80/20	Cada 7 días	13.32 a	1.51 a	11.84 a	3.98 a	2.06 a	0.87 a	83.62 a	39.19 a	89.28 a
5	80/20	Cada 3 días	13.12 a	1.56 a	10.47 a	4.143 a	1.98 a	0.82 a	41.85 a	88.53 a	87.39 a
7	60/40	Cada 7 días	12.06 ab	1.92 a	12.12 a	4.00 a	2.04 a	0.81 a	53.97a	125.69 a	102.93 a
8	60/40	Cada 3 días	12.28 ab	1.52 a	7.54 a	2.57 a	1.64 a	0.57 a	39.27 a	30.08 a	67.67 a
10	00/100	Cada 7 días	9.76 b	1.63 a	9.54 a	4.58 a	2.47 a	0.66 a	81.89 a	43.4 a	92.26 a
11	00/100	Cada 3 días	12.34 ab	1.75 a	10.12 a	4.88 a	1.97 a	0.76 a	79.45 a	43.4 a	87.74 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas  $P \leq 0.05$ .

### 3.8. Longitud de escapo floral

Diversos factores son influenciados para el crecimiento y desarrollo de plantas ornamentales entre ellos se encuentra el ambiente y el manejo como es el caso de la fertilización mineral.

La producción de escapos florales no se presentó en todos los tratamientos ni en todas las repeticiones de los tratamientos, existen diferentes motivos para justificar este fenómeno. Por un lado el inicio del experimento fue en el mes de junio, época en donde aparecen los brotes vegetativos que dan lugar a la producción de los escapos florales, al cambiar sustrato y fuentes de nutrición es posible que se modificara el ciclo reproductivo de la planta por estrés. Por otro lado, en la época en la que se esperaba el brote de los escapos florales (noviembre y diciembre) las temperaturas diurnas en el invernadero fueron altas para esa etapa de desarrollo (máx. 30 °C), causando incluso el aborto de la flor en algunos escapos. Los datos que aquí se presentan son de aquellos tratamientos en donde se presentaron las flores. El escapo floral más pequeño se presentó en las plantas donde se aplicó solo nitrato y fertilización foliar. La relación 80/20 con la aplicación cada tercer día registró la mayor longitud de escapo floral (88 cm), superando el tratamiento testigo 100/00 en 20% (73 cm) (Figura 9, 15 y 16). Es importante hacer mención que no en todos los tratamientos y repeticiones se presentaron escapos florales. Con las aplicaciones de la solución nutritiva, la longitud de los escapos florales se incrementó entre 40 y 60% más que cuando se aplica un riego cada siete días y fertilización foliar. Los resultados obtenidos en la presente investigación contrastan con los valores obtenidos por Naik *et al.* (2013) al trabajar en *Cymbidium* 'Seleeping Nymph' con tallos florales de 46.3 cm utilizando la dosis al riego de 12-30-10 NPK en una solución con conductividad eléctrica de 1 mS cm<sup>-1</sup>.

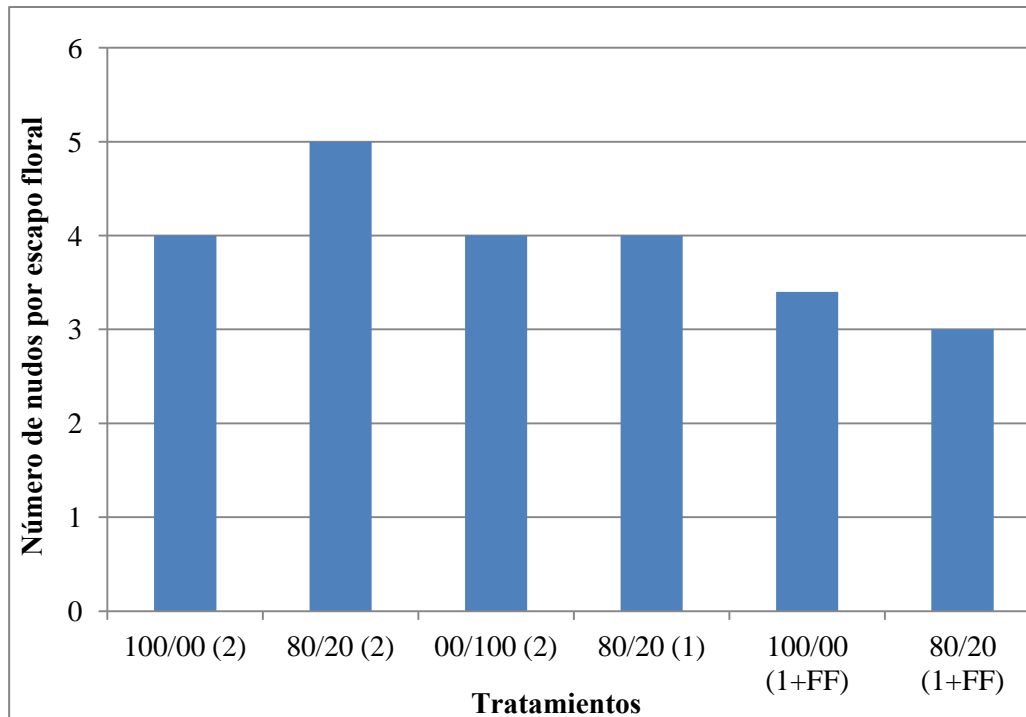


**Figura 9.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre la longitud del escapo floral en la orquídea *Cymbidium* sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.

Mientras que en *Cymbidium* 'Mary Pinchess Del Rey' la mayor longitud de tallo floral fueron de (58.2) al utilizar una solución mucho más diluída ( $\text{C E } 0.6 \text{ dS m}^{-1}$ ) (Kreij y van den Berg 1990). Por su parte Barman *et al.* (2004) al trabajar con *Cymbidium* 'Show Girl Cook's Bridge' obtuvo escapos florales de (45 cm) con la aplicación de 20-5-5 NPK a una concentración al 0.3 % vía foliar y el número de flores por escapo fue de 5.5.

### 3.9. Número de nudos por escapo

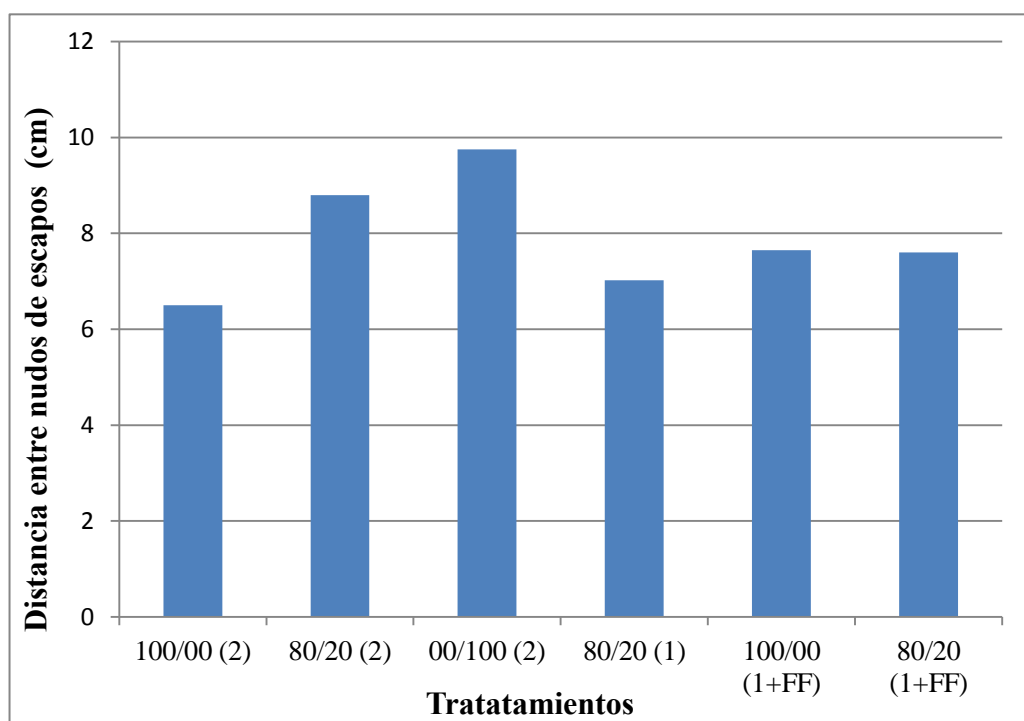
En el parámetro número de nudos por escapo floral (Figura 10 y 15) se observan cinco nudos con la relación 80/20 con dos riegos de la solución nutritiva cada tres días, a diferencia de las plantas con el tratamiento testigo 100/00 que formó solo cuatro. Existen ventajas al tener un mayor número de nudos en la vara floral ya que finalmente se relaciona con una mayor longitud de ésta, sin embargo para *Phalaenopsis* existen inconveniencias en tener largas inflorescencias ya que resultan altos costos en los envíos, por lo que existen investigaciones realizadas con el objetivo de acortar los entrenudos de las inflorescencias (Wang y Hsu, 1994).



**Figura 10.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el número de nudos en escapos florales en la orquídea *Cymbidium* sp producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.

#### 4.0. Distancia de entrenudos en escapo

En esta variable la mayor distancia entre nudos se presentó en los escapos florales con dos riegos cada tres días, el tratamiento 00/100 presentó el valor más alto (9.75 cm), así como la relación 80/20 regados cada tres días con valores de (8.8 cm), 50 y 35 % más respecto a las plantas testigo (Figura 11). Sugapriya *et al.*, (2012) al evaluar parámetros de crecimiento y rendimiento en nueve variedades de *Dendrobium* encontró que la variedad Sonia-17 tuvo la mayor longitud de entrenudos en tallos (5.00 cm).

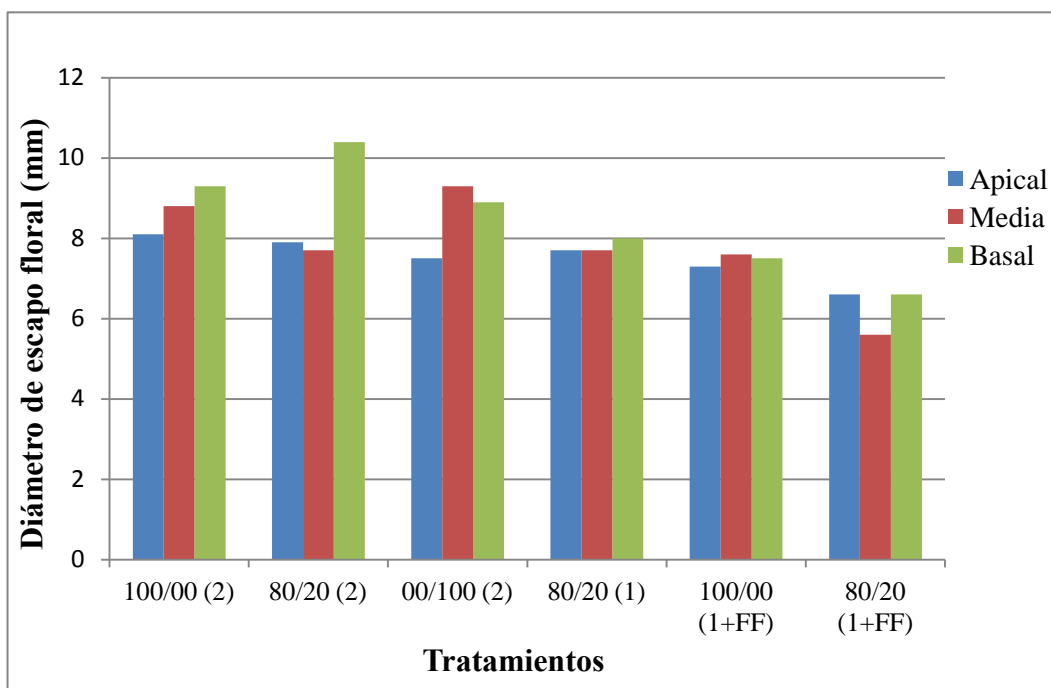


**Figura 11.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre la distancia de entre nudos en escapos florales en la orquídea *Cymbidium* sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.

#### 4.1. Diámetro del escapo floral

El efecto de las relaciones de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  sobre el diámetro (apical, media y basal) de los tallos florales al momento del corte mostraron diferencias (Figura 12). Así, el mayor diámetro de la sección apical se encontró con la relación 00/100 con dos riegos cada tercer día (9.75 mm) respecto al tratamiento testigo. Sin embargo con  $\text{NO}_3^-$  como únicamente fuente de N con dos riegos cada tres días se obtuvo el mayor diámetro en la sección media (8.8 mm), mientras que en la parte basal el mayor diámetro se obtuvo con la relación 80/20 aplicado vía radical con promedio de 10.4 mm con 11.9 % más respecto a las plantas testigo.

El diámetro de tallos florales es un parámetro importante para la calidad de las flores de corte en general. En rosa se ha observado que la nutrición a base de nitrato de calcio tiene efectos benéficos sobre el diámetro de tallo, longitud y mayor vida de florero (Arjenaki *et al.*, 2012). Mientras que Bernstein *et al.* (2005) al trabajar con 50 y 100 ppm de  $\text{NH}_4^+$  en la calidad de *Ranunculus asiaticus*, observaron que el mayor diámetro de brotes, la relación brote/raíz y así como la vida de florero se logró con 50 ppm  $\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, mientras que los efectos perjudiciales en términos de crecimiento, se observó en la producción y calidad de la flor al momento de corte con el suministro de 100 ppm de  $\text{NH}_4^+$ .



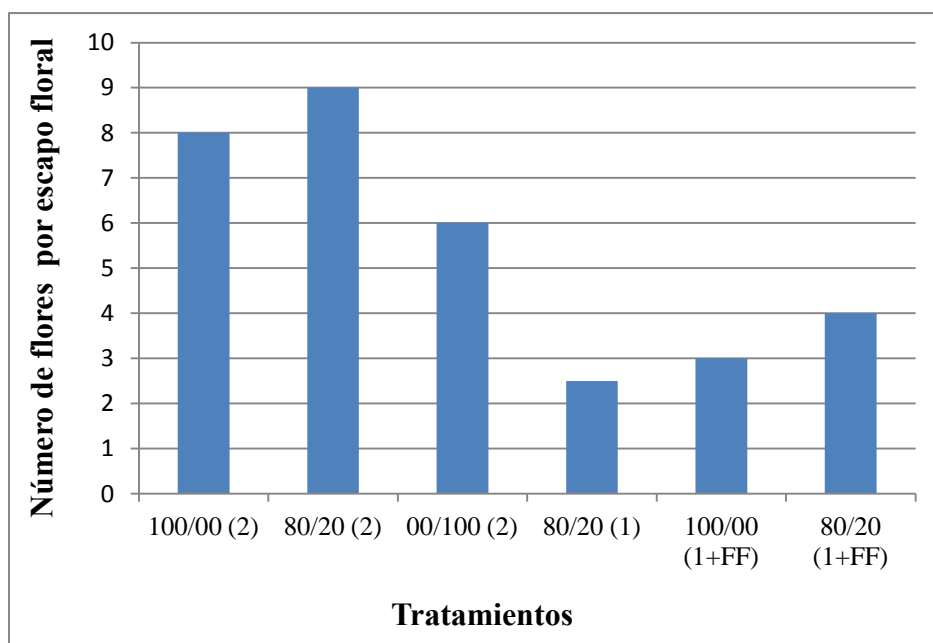
**Figura 12.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el diámetro de escapo floral en la orquídea *Cymbidium* sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.

Por lo tanto, el  $\text{NH}_4^+$  es conveniente incluirlo en la solución nutritiva en crecimiento vegetativo y excluirlo al inicio de floración. Varios autores sugieren que el porcentaje de los iones de  $\text{NH}_4^+$  en la solución de nutrientes no debe exceder el 50% de la concentración total de N (Jones, 2005).

#### 4.2. Número de flores en escapos florales

Durante el desarrollo del escapo floral en el invernadero (3 meses) las temperaturas se incrementaron más de lo recomendado para esta etapa, por lo que en algunos escapos abortaron, como el corte se hizo cuando la mayoría de las flores iniciaban su apertura, se

perdieron algunas de ahí la gran diferencia entre número de flores por escapo. Went (1957) observó que en plantas de *C. giganteum* var. *lowianum* Rchb. f. se obtuvo buena floración a temperaturas de 10 a 20 °C y 14 a 20 °C . La temperatura para la inducción floral en Japón es de 10 a 16 °C (Ichihashi, 1997). En la (Figura 13, 15 y 16) se muestra el efecto de la relación de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  sobre el número de flores en los escapos florales. En mayor número se presentó en la relación 80/20 aplicado cada tercer día vía radical con valores de (9) flores por escapo floral, valores semejantes se obtuvo con la relación 100/00 (8); Naik *et al.* (2013) al trabajar en *Cymbidium* 'Seleeping Nymph' el mayor número de flores por vara floral fueron de (11.25) con el tratamiento 12-30-10 NPK y CE de  $1 \text{ mS cm}^{-1}$ . Por su parte Barman *et al.* (2004) al trabajar con *Cymbidium* 'Show Girl Cook's Bridge' la mejor combinación 20-5-5 NPK a una concentración al 0.3 % vía foliar dio lugar con número de flores por escapo de 5.50.



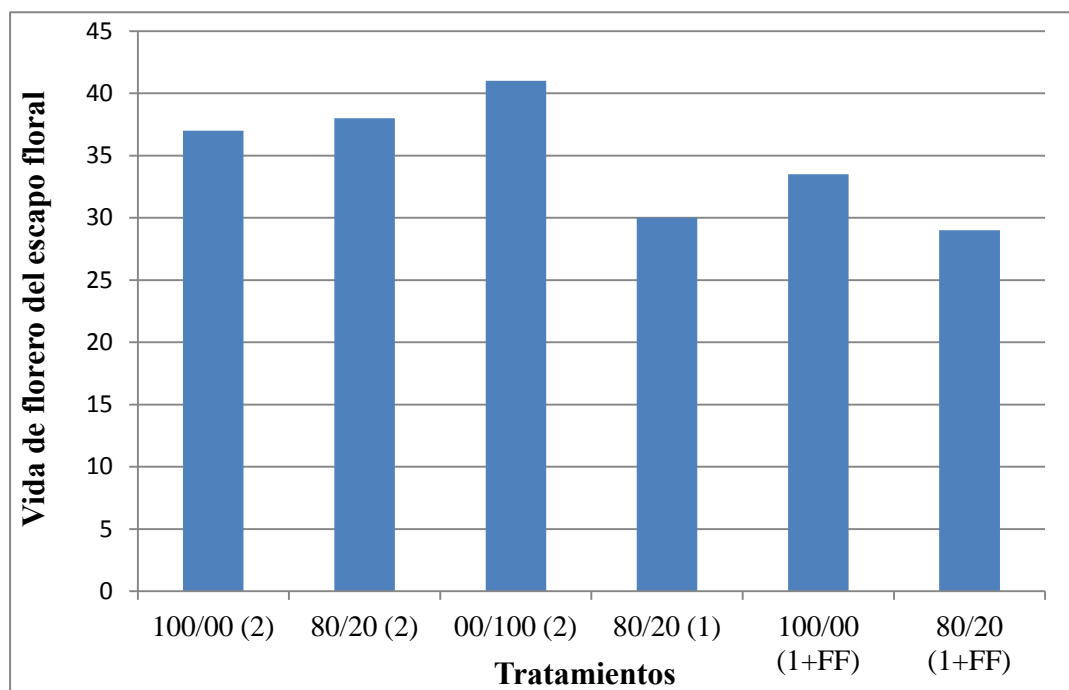
**Figura 13.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre el número de flores por escapo floral en la orquídea *Cymbidium* sp. producida en invernadero. (2)= riegos cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.



Es importante hacer mención que las plantas que fueron nutridas solo con nitratos y con una relación (80/20) aparentemente resistieron y fueron menos las flores que abortaron por la alta temperatura. También los tratamientos que se aplicaron dos veces a la semana favorecieron el amarre de la flor como se observa en la (Figura 13).

### 4.3. Vida de florero del escapo

La mayor vida de florero se presentó en escapos florales con solución nutritiva aplicada cada tercer día independientemente de la relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  como se observa en la (Figura 14 y 17). Para la relación con 00/100 la vida se prolongó hasta 41 días.



**Figura 14.** Efecto de las relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva, frecuencia de aplicación y fertilización foliar sobre vida de florero en la orquídea *Cymbidium* sp producida en invernadero. (2)= riego cada 3 días; (1)= riego cada 7 días; (FF)= fertilización foliar.

En *Ranunculus asiaticus*, el efecto del  $\text{NH}_4^+$  (50 ppm) en la solución nutritiva prolongó la vida de florero (Bernstein *et al.*, 2005). Sin embargo con la evaluación de las relaciones urea:  $\text{NO}_3^-$ : $\text{NH}_4^+$  en la solución nutritiva (0-100-0, 0-50-50, 0-0-100, 50-0-50, 25-25-50, 15-15-70 y 100-0-100) para rosa, se observó que al aumentar la concentración de amonio en la solución nutritiva, se redujo la vida de florero, pero con concentraciones bajas de éste (relaciones 25-25-50 y 100-0-0) se incrementó en 17.6 y 11.1 días respectivamente (Hosseini *et al.*, 2012). La calidad de flores en el mercado está determinada por factores como la temperatura durante el desarrollo del cultivo, nutrición, riego todos estos factores repercuten en la longitud y grosor del tallo, número de flores y vida de florero. Esta exigencia hace que la floricultura mejoren las técnicas de producción (Betancourt-Olvera *et al.*, 2005).



**Figura 15.** Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 80/20 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 88 cm, con cinco nudos y mayor diámetro basal (10.9 mm). B) mayor número de flores (9) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (38 días).



**Figura 16.** Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 100/00 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 73 cm, con cuatro nudos y mayor diámetro apical (9.3 mm). B) mayor número de flores (8) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (37 días).



**Figura 17.** Secuencia fotográfica del escapo floral con la relación 100/00 en la solución nutritiva aplicada cada tercer día. A) longitud de 75 cm, con cuatro nudos y mayor diámetro parte media (9.3 mm). B) mayor número de flores (6) y C, D, E y F) Secuencia de la vida de florero (41 días).

#### IV. Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este experimento se concluyó:

- Existe una estrecha relación entre las concentraciones  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  y el desarrollo de *Cymbidium*
- Las relaciones  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  influyeron en las lecturas SPAD, concentración de nitrógeno y manganeso en la planta.
- El mayor diámetro basal y altura (parámetros de calidad) del escapo floral se obtiene con la aplicación solución nutritiva 80:20 cada tercer día.
- La relación  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  80:20 se considera como la más idónea para la nutrición de *Cymbidium* sp.
- Para la producción comercial de *Cymbidium* sp en invernadero es conveniente aplicar la solución nutritiva cada tercer día.

## V. Bibliografía citada

- Alcántar, G. G. y Sandoval V. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. México. 56 p.
- Arjenaki S. G. Chehrazi M and Iranipor R. 2012. The Effect of Different Concentrations of Fertilizer Hydroflex F and Calcium Nitrate on Characteristics the 'High Magic' of Hybrid Rose Cv. 'High Magic' In Soilless Culture. American Journal of advances scientific research 1(4): 198-201.
- Arnold Bik R. and van den Berg, Th.J.M. 1983. N-gift afstemmen op bloemtak/schetverhouding. Vakbl. Bloemisterij 38(36): 42-43.
- Barman D, Rajni K, Naik SK, Upadhyaya RC. 2008. Production of *Cymbidium* Soulhunt - 6 by manipulating cultural practices under partially modified greenhouse. Indian Journal of Horticulture 65: 69-72.
- Barman P., Rajni. K, Naik. S.K and Upadhyaya, R.C. 2004. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on growth and flowering of *Cymbidium*. Journal of Ornamental Horticulture 7(3-4): 235-238.
- Bernstein, N. Ioffe, M. Bruner, M. Nishri, Y, Luria, G. Dori, I. Matan, E. Philosoph-Hadas, S. Umiel, N and Hagiladi, A. 2005. Effects of supplied nitrogen form and quantity on growth and postharvest quality of *Ranunculus asiaticus* flowers. HortScience 40(6): 1879-1886.
- Betancourt-Olvera M. M. Rodríguez M. N., V. Sandoval M., y A. Gaytán A. E. 2005. Fertilización foliar, una herramienta en el desarrollo del cultivo de *Lilium* cv Stargazer. Revista Chapingo Serie Horticultura 11(2): 371-378.

- Bremner J., M. 1965. Total nitrogen. *In*: C.A. Black (ed.). Methods of soil analysis. Part. 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, U.S.A.
- Chang K. H. Wu, R. Y and Hsieh T. F. 2010. Effects of fertilizer formulations on flowering of *Doritaenopsis* 'I-Hsin Madame' in gradational nutrition management. *Acta Hort* 878:347-353.
- Chen W. Luo J. Jiang H. and Chen Q. 2004. Effects of different  $\text{NO}_3^-$ -N/ $\text{NH}_4^+$ -N ratios on the biomass and nitrate content of different cultivars of Chinese cabbages. *Acta Pedologica Sinica* 41: 420-425.
- De Pascale S. Maturi T. Paradiso R. and Barbieri G. 2001. Comparison of water and nutrients use of three cultivars of *Cymbidium* a soilless culture system. *In*: V International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Current Trends for Sustainable Technologies *Acta Hort*. 559.
- Finnemann J. and J. Schjoerring K. 1999. Translocation of  $\text{NH}_4^+$  in oilseed rape plants in relation to glutamine synthetase isogene expression and activity. *Physiol. Plant* 105: 469-477.
- Hawkesford M. Horst W. Kichey T. Lambers H. Schjoerring J. I. Moller S. and White P. 2012. Functions of Macronutrients. Marschner's. Chapter 6. Mineral Nutrition of Higher Plants. Third Edition, Petra Marschner. Elsevier Ltd. Jamestown Road, London. 643 p.
- Hew C. S and C. Ng. K.Y. 1996. Changes in mineral and carbohydrate content in pseudobulbs of the  $\text{C}_3$  epiphytic orchids hybrid *Oncidium* Goldiana at different growth stage. *Lindleyana* 11: 125-134.



- Hew C. S and W. Young H. 2004. The physiology of tropical orchids in relation to the industry. British Library. World Scientific Publishing Singapore. 329 p.
- Hew C., S. L. Lim Y., and C. Low M. 1993. Nitrogen uptake by tropical orchids. *Environmental and Experimental Botany* 2(33): 273-281.
- Hosseini M. F. Kholdbarin B., Khalighi A. Boojar M. M. Eshghi S. and Kavooosi B. 2012. Effect of urea: ammonium: nitrate ratios in nutrient solution on photosynthesis and quantitative properties of rose cut flower in soilless culture. *J. Sci & Technol. Greenhouse Culture* 4(14): 2013.
- Ichihashi S. 1997. Orchid production and research in Japan. In: Arditti, J., Pridgeon, A.M. (Eds.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands.
- Jones, B. J. J. 2005. *Hydroponics. A Practical Guide for the Soilless Grower*. Second Edition. CRC. PRESS. Florida. USA. 424 p.
- Kreij de C. and M. van den Berg Th. J. 1990. Effect of electrical conductivity of the nutrient solution and fertilization regime on spike production and quality of *Cymbidium*. *Scientia Horticulturae* 44: 293-300.
- Lunt O. R. and A. Kofranek M. 1961. Exploratory nutritional studies on cymbidiums using two textures of fir bark. *American Orchid Society Bulletin* 30: 297-302.
- Miller A. J. and M. Cramer D. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant Soil* 274: 1-36.
- Mills, H. A y B. Jones J. 1996. *Plant Analysis Handbook II. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micromacro publishing. Georgia, USA. 432 p.

- Naik S., K. Darman D. and R. Medhi P. 2013. Evaluation of electrical conductivity of the fertiliser solution on growth and flowering of a *Cymbidium* hybrid. *South African of Plant and Soil* 3(1): 33-39.
- Ng Y. C. K. and C. Hew S. 2000. Orchids pseudulbs false bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival!. *Scientia Horticulturae* 83: 165-172.
- Novais R. F. and D. Rodrigues T. 2004. Nutrição e fertilização de orquídeas. *In: Congresso. Sociedade Botânica do Brasil. Brasileiro de Botânica, Vicosá.*
- Raven J. A. and F. Smith A. 1976. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol* 76: 415-431.
- Rawat S., R., S. Silim N., H. Kronzucker J., M. Siddiqi Y., and A. Glass D. M. 1999. *AtAMT1* gene expression and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*. Evidence for regulation by root glutamine levels *Plant J* 19: 143-152.
- Rodrigues-Donizetti T., R. Ferreira-Novais, V.H. Alvarez-V, J.M. Moreira-Dias, y E.M. de. Albuquerque-Villani. 2010. Orchids growth and nutrition in response to mineral and organic fertilizers. *Revista Brasileira de Ciência do solo* 34: 1609 -1616.
- Rui-Chi P, and Jun-Xian C. 1994. Effects of nitrate-nitrogen and ammonium-nitrogen of growth and development in *Cymbidium sinense*. *Acta Botanica Yunnanica* 16(3): 285-290.
- Sandoval-Villa M. C. Wood W. and E. Guertal A. 2002. Tomato leaf chlorophyll meter reading as affected by variety, nitrogen form, and nighttime nutrient solution strength. *Journal of Plant Nutrition* 25: 2129-2142.
- SAS Institute Inc. 2010. SAS/STAT<sup>®</sup> User's Guide. Version 9.0 SAS Institute Inc., Cary. NC.

- Schjoerring J. K., Husted S., Mäck G. and Mattsson M. 2002. The regulation of ammonium translocation in plants. *J. Exp. Bot* 53: 883-890.
- Steiner A., A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil* 15: 134-154.
- Sugapriya S., J. Mathad C., A. Patil A., R. Hegde V., Lingaraju S. and M. Biradar S. 2012. Evaluation of *Dendrobium* orchids for growth and yield grown under greenhouse. *Karnataka. J. Agric. Sci* 25(1): 104-107.
- Viktor A. and M. Cramer D. 2005. The influence of root assimilated inorganic carbon on nitrogen acquisition/assimilation and carbon partitioning. *New Phytol* 165: 157-169.
- Wang Y. T and T. Hsu H. 1994. Flowering and Growth of Phalaenopsis Orchids following Growth Retardant Applications. *HortScience* 29(4): 285-288.
- Wang Y., T. 2008. High  $\text{NO}_3^-$ -N to  $\text{NH}_4^+$ -N Ratios Promote Growth and Flowering of a Hybrid *Phalaenopsis* Grown in Two root Substrates. *HortScience* 43(2): 350-353.
- Wang Y., T. 1998. Impact of salinity and media on growth and flowering of a hybrid *Phalaenopsis* orchid. *HortScience* 33: 247-250.
- Went F., W. 1957. The experimental control of plant growth. *Chron. Bot* 17: 148-152.
- Yuan L. Loqué D., Kojima S., Rauch, S., Ishiyama K., Inoue E., Takahashi H. and von Wirén N. 2007. The organization of high-affinity ammonium uptake in *Arabidopsis* roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters. *Plant Cell* 19: 2636-2652.

## VI. Conclusiones generales

En la caracterización de la lamina foliar de *Cymbidium* la porción media de la hoja fue más gruesa (29.90  $\mu\text{m}$ ) que la apical y basal (26.91y 25.75  $\mu\text{m}$ ). El mayor grosor de tejido epidérmico y el diámetro de los haces de fibras subepidérmicas (63.045 y 184.55  $\mu\text{m}$ ) fue en la región media. Mientras que el mayor diámetro de haz vascular (1031  $\mu\text{m}$ ) y mayor grosor del mesófilo (3777.91  $\mu\text{m}$ ) se registró en la porción basal. El fertilizante foliar penetró vía cutícula y estomática a partir de los 30 min. A los 120 min, se observó su absorción en los pseudobulbos.

Se identificó un mayor número de terpenos como el linalool (22.29%), así como el 4-metil fenol- y p-ment-1-en-8-ol en las flores de *Cymbidium*. Mientras que en el ovario pedicelado y residuo acuoso los componentes con mayor concentración fueron el 4-metil fenol- (31.24 y 18.71%, respectivamente).

El mayor número de brotes vegetativos (5.04) y número de pseudobulbos (4.95) se presentó con la relación 60/40. Los escapos florales más largos y con vigor se presentaron en las plantas regadas con la solución nutritiva relación 80/20. La mayor vida de florero fue con la aplicación de la solución nutritiva con 00/100 con 41 días.