

DISTRIBUCIÓN Y CONSERVACIÓN DE DOS ESPECIES DE ORQUÍDEAS EN EL DEPARTAMENTO DEL META, COLOMBIA

Fecha de recepción: 29 de abril de 2016 • Fecha de Evaluación: 18 de junio de 2016 • Fecha de aceptación: 4 de julio de 2016 • Disponible en línea: 25 de julio de 2016

DISTRIBUTION AND CONSERVATION OF TWO SPECIES OF ORCHIDS IN META DEPARTMENT, COLOMBIA

Oscar Iban Hernández Castañeda¹, Miguel Macgayver Bonilla Morales², Julián F. Cárdenas¹

RESUMEN

En Colombia existen alrededor de 4.270 especies de orquídeas distribuidas en ambientes que van desde los páramos hasta desiertos. En este país, *Prosthechea vespa* y *Encyclia cordigera* presentan usos en colecciones personales, para decorar jardines y exposiciones nacionales o internacionales, aunque, por sus relaciones ecosistémicas estas especies son importantes en ambientes naturales. Por tal motivo, la presente investigación tuvo como objetivo establecer la distribución y aspectos relacionados con la conservación de *P. vespa* y *E. cordigera* en el departamento del Meta. De esta manera, se revisó material de herbario, literatura científica y salidas de campo para la conformación de la base de datos y análisis de la información espacial con DIVA-GIS®, incluyendo mapas de distribución y áreas protegidas. Simultáneamente, se colectaron frutos nativos para su propagación *in vitro*. La distribución de las especies se registra en las bioregiones del piedemonte en un rango de 400 a 1000 msnm en los municipios de Villavicencio, Restrepo y Cumaral asociadas a bosques húmedos y secos. La germinación *in vitro* de *E. cordigera* fue entre 20-24 semanas y la de *P. vespa* fue a las 10 semanas, pero el proceso de organogénesis se presentó sólo en *E. cordigera* catalogando este método como estrategia de conservación de germoplasma *ex situ*. De esta manera sólo se pudo generar protocolos para la multiplicación *in vitro* de *E. cordigera*. Además, ambas especies poseen una distribución limitada y pocos datos de ocurrencia, por lo que el piedemonte metense puede ser considerado como zona de conservación.

Palabras claves: *Encyclia cordigera*, conservación *ex situ*, conservación *in situ*, *Prosthechea vespa*, SIG.

1 Grupo ISAF, Universidad de los Llanos, 2Grupo de Investigación en Orquídeas, Ecología y Sistemática Vegetal, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.

2 Autor corresponsal: mmbonillam@unal.edu.co

ABSTRACT

In Colombia there around 4270 species of orchids distributed in environments ranging from the moors to deserts. In this country *Prosthechea vespa* and *Encyclia cordigera* has uses in personal collections, to decorate gardens and in national or international exhibitions, thanks to their ecological relationships these species are important in natural environments. Therefore, this study aimed to establish the distribution and conservation aspects of *E. cordigera* and *P. vespa* in the department of Meta. Thus, herbarium material, literature and field for forming the database and analysis of spatial information with DIVA-GIS®, which included distribution maps and protected areas was conducted. Simultaneously, native fruits for *in vitro* propagation were collected. The distribution of species was recorded in the piedemont bioregions in a range of 400 to 1000 m in the municipalities of Villavicencio, Restrepo and Cumaral associated with wet and dry forests. The *in vitro* germination of *E. cordigera* (20-24 weeks) and *P. vespa* (10 weeks) and the process of organogenesis occurs only in *E. cordigera* strategy as *ex situ* conservation of germplasm. Thus he could only generate protocols for *in vitro* multiplication of *E. cordigera*. In addition, both species have limited distribution and few occurrence data, so the piedmont metense can be considered conservation area.

Key words: conservation *ex situ*, conservation *in situ*, *Encyclia cordigera*, *Prosthechea vespa*, SIG.

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas han sido objeto de innumerables estudios, los que más se destacan son los taxonómicos y biológicos, que permiten identificar las especies e indicar la diversidad de una zona por las relaciones que desarrollan con otros organismos a lo largo de su ciclo de vida (Cox, 2013). La mayoría de las orquídeas tienen hábito epífita, por lo que tienen adaptaciones morfofisiológicas que dependen de las características del árbol hospedero (forófito) y de las condiciones ambientales donde estos se distribuyen (Valencia, 2014). La relación simbiótica entre las orquídeas con algunos hongos micorrízicos para su germinación y desarrollo (Granados-Sánchez et al. 2003), y con especies de insectos polinizadores y defensores como las hormigas, permiten que las especies coexistan simbióticamente en la naturaleza, de tal manera, la desaparición de una implica la existencia de la otra.

En Colombia, las orquídeas prosperan desde los páramos hasta altitudes sobre el nivel del mar y desde zonas secas hasta bosques muy lluviosos, distribuidas en diferentes nichos ecológicos (Díaz et al. 2004; Martínez et al. 2015). Esta multiplicidad de ecosistemas favorece el desarrollo de una gran diversidad de especies de orquídeas. No obstante, las actividades antropogénicas han generado pérdida de la diversidad biológica (Andrade, 2011). Colombia alberga aproximadamente 4.270 especies de orquídeas, de estas, cerca de la tercera parte son endémicas (Betancur et al. 2015), y con tan solo 375 especies nativas se han estudiado para conocer su estatus de conservación (Calderón-Sáenz, 2006).

El primer método para la germinación asimbiótica de orquídeas *in vitro* fue realizado por Knudson (1921), quien demostró que era posible

la germinación de orquídeas sobre un medio simple que contuviera minerales y azúcares. De esta manera, contribuyó con la formulación de medios para la propagación *in vitro* de orquídeas sin necesidad de hongos micorrízicos (Salazar, 2012). Adicionalmente, la conservación *in vitro*, permite obtener bajo condiciones controladas material libre de enfermedades en espacios reducidos en un menor tiempo (Calva y Pérez, 2005; Bonilla y Hernández, 2012).

Los recursos genéticos tienen un importante valor para el país, y sus inventarios son una herramienta fundamental para el análisis del estado actual y potencial de ellos en la toma de decisiones sobre medidas de conservación y renovación (Valencia *et al.* 2010; Bonilla, Mancipe y Aguirre, 2015). Por tal motivo, las colecciones mantenidas en los bancos de germoplasma son el resultado de estrategias de conservación *ex situ*, cuyo complemento ideal es la conservación *in situ* (Calderón-Sáenz, 2006). Este enfoque complementario es necesario, ya que las colecciones *ex situ* nunca podrán contener todos los acervos de genes, y el germoplasma mantenido *in situ* continúa adaptándose a los cambios ambientales. La diversidad que se mantiene *in situ* es, a menudo, mucho menos accesible que la de las colecciones y su conservación a largo plazo es menos segura (Engels y Visser, 2007).

Dentro de las especies que poco se conocen las dinámicas de distribución y conservación en el Meta, se encuentra *Prosthechea vespa* (Vell.) W.E. Higgins y *Encyclia cordigera* (Kunth) Dressler, que a su vez son utilizadas en colecciones ornamentales, y en algunas ocasiones son extraídas de su hábitat natural por tráfico ilegal de plantas. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue conocer aspectos de la distribución relacionados con áreas protegidas y procesos de propagación *in vitro* de *P. vespa* y *E. cordigera*, para el establecimiento de planes y estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en Colombia, en los municipios de Villavicencio, Restrepo, Cumaral y Acacias, Puerto López, San Juanito y el Calvario que pertenecen al departamento del Meta. Dentro de las principales bioregiones del Meta: Altillanura, Piedemonte, Piedemonte bajo andino y alto andino y, Andes.

Herbarios, literatura y salidas de campo

Se consultó los herbarios nacionales como LLANOS de la Universidad de los Llanos, COL y COAH y se accedió a la revisión bibliográfica reportada para *P. vespa* y *E. cordigera* en Colombia de López (2011), Ortiz y Uribe (2014), Bernal *et al.* (2015) y Betancur *et al.* (2015). Adicionalmente, para sumar el mayor número de registros se realizaron salidas de campo en bosques primarios y caminos de carretera durante el periodo 2013-2015. Esto con la finalidad de establecer una base de datos para el análisis de resultados geográficos.

Distribución

Para la ocurrencia de especies se utilizó la metodología utilizada por Hijmans *et al.* (2001) en el programa DIVA-GIS® versión 7.5 con la finalidad de establecer la distribución mediante puntos en el mapa del departamento del Meta. Además, se sobrepuso la capa del mapa de áreas protegidas con zonas de conservación *in situ* del área de estudio.

Propagación *in vitro*

Para la germinación *in vitro* se colectaron manualmente cápsulas maduras de plantas *in situ* que fueron almacenadas en bolsas Ziplot hasta llevarlas al laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad de los Llanos, donde se inició el protocolo de desinfección para la siembra *in vitro*. Las

capsulas fueron lavadas con detergente comercial al 1%, con posterior lavado en agua a chorro. Una vez limpias las capsulas, estas fueron desinfectadas mediante la inmersión con NaOCl al 1% durante 10 minutos y sumergidas en agua destilada estéril con 3 lavados para remover los residuos del producto. Posteriormente, fueron transportadas a la cámara de flujo laminar y sumergidas en alcohol al 70% durante 1 minuto, seguido de 3 lavados en agua destilada estéril. Luego a las capsulas se les realizaron cortes transversales para la extracción de las semillas, las cuales fueron finalmente sembradas en los frascos que contenían los medios de cultivo: i) MS y ii) MS suplementado con 100mL/L de agua de coco (AC), a ambos medios se les adicionó 0,5% de Carbón activado, 30 gr/L de azúcar y 2,0gr/L de Phytigel. Realizada la siembra, los frascos fueron almacenados en un cuarto de incubación bajo condiciones de 16/8 horas luz y noche, intensidad lumínica de 3000 Lux, 27°C de temperatura y 60% de humedad relativa. Finalmente se determinó la germinación asimbiótica de la semilla, y se calificó de acuerdo con las fases de desarrollo para las semillas de orquídeas propuesta por Johnson y Kane, (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En algunas localidades visitadas no se logró encontrar las especies en estado de floración, y en aquellos donde presentaron floración, como el Caney alto, Buena vista, Montecarlo y Bavaria, se observó que la cantidad de plantas localizadas en el mismo árbol fue de 2 hasta 10 plantas en *P. vespa* y de 2 a 3 plantas en *E. cordigera* (Fig. 1, 2).

Distribución

La distribución de las especies *E. cordigera* y *P. vespa* se encuentra concentrada en la zona de Piedemonte de la cordillera Oriental, flanco oriental, en los municipios de Villavicencio, Restrepo y Cumaral con elevaciones que van desde los 200 hasta 1.000 msnm (Figura 3). De acuerdo con Pabón-Caicedo *et al.* (2001), el piedemonte Llanero presenta un clima tropical lluvioso y estas condiciones, principalmente de humedad relativa alta, favorecen el desarrollo de diferentes especies epifitas (Guerra y Huamani, 1995; Granados-Sánchez *et al.* 2003), entre estas, permite fácil desarrollo de *P. vespa* y *E. cordigera*. En la Figura 3, ninguna de estas



Figura 1. *Encyclia cordigera*. a) Planta con inflorescencia; b) vainas; c) flor y d) fruto. Fotos: Oscar Hernández, Miguel Bonilla-M y Johan Mosquera.

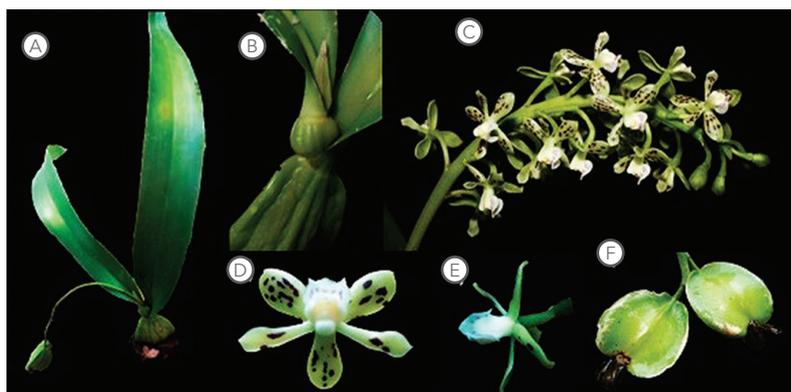


Figura 2. *Prosthechea vespa* a) planta; b) es-pata; c) Inflorescencia; d), e) flor y f) fruto. Fotos: a), b), d), e) y f) Oscar Hernández y Miguel Bonilla-M; c), Álvaro Velásquez.

especies se encuentra dentro de las áreas protegidas o de conservación, sin embargo, algunas de sus poblaciones están muy cercanas para establecer áreas de repoblación en zonas cercanas.

En el trabajo de Quiroga *et al.* (2010), *P. vespa* presenta un rango altitudinal entre los 190-3.000 msnm y preferiblemente se encuentra en formaciones vegetales de bosque de piedemonte, bosque montano húmedo y bosque de inundación. Por su parte, Berry *et al.* (2003) reportan que esta especie se distribuye en zonas de bosque húmedo a bosques lluviosos que van desde los 0 a 1.200 msnm. Por otro lado, *E. cordigera* prefiere zonas de bosques secos y caducifolios que van desde los 50 a 400 msnm, y se distribuye desde el norte de Venezuela, Colombia, Trinidad y Tobago y Centro América (Berry, Yatskievych, y Holst, 2003) y es comúnmente encontrada en potreros arbolados y despejados asociados a diferentes especies de árboles (Fotosíntesis, 2012). Estos resultados coinciden parcialmente en ambas especies para los datos registrados en el Meta, porque en municipios como El Calvario y San Juanito (elevación >1700 msnm), no se observó ninguna de las dos especies. También se han reportado individuos de *E. cordigera* y *P. vespa* en los municipios de Lejanías (Hasta

1000 msnm) y Mapiripán (<300 msnm) respectivamente (Rodríguez, 2010).

Propagación *in vitro*

La germinación *in vitro* se presentó en el medio de cultivo MS + AC suplementado con agua de coco, mientras que para el medio MS sin ninguna adición se observó una fenolización y nulo desarrollo de los embriones. La fenolización es un problema común que se presenta en el cultivo *in vitro* conocido como oxidación u oscurecimiento de tejidos, ocurre cuando el tejido se encuentra senescente, se expone a lesiones, sustancias abrasivas o factores como intensidad de luz u composición del medio de cultivo que generan un estrés oxidativo y nitrosativo en las células que puede llevarlas a la muerte (Azofeifa, 2009). Por lo que la concentración elevada de uno de los compuestos empleados como el agua de coco pudieron haber incidido en el desarrollo del embrión para ambas especies.

En *E. cordigera* la germinación *in vitro* se presenta a partir de las 20 a 24 semanas después de incubadas y a las 10 semanas para *P. vespa*. No obstante, el proceso de organogénesis se observó sólo en *E. cordigera*, lo cual postula este método

como estrategia de conservación de germoplasma *ex situ* para esta especie. Conforme con las fases de desarrollo de las semillas de orquídeas de Johnson y Kane (2007), se logró obtener plántulas hasta la fase 5 (presencia de 2 o más hojas) en *E. cordigera*, mientras que para *P. vespa*, se desarrollaron hasta la fase 1 (expansión del embrión, ruptura de la testa) (Fig. 4, 5).

Estos resultados no concuerdan con lo obtenido por Salazar y Orlando (2012), quienes evaluaron tres diferentes medios sobre la germinación *in vitro* en *P. vespa* [MS básico, MS+ agua de coco (AC) y MS+ jugo de piña (JP)], en condiciones de 16 horas de fotoperiodo, 25 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, $21 \pm 2^\circ\text{C}$ y 60% de

humedad relativa, logrando obtener una germinación y desarrollo de las semillas hasta la fase 3 con el medio MS básico, hasta la fase 4 con el medio MS+ AC y con el medio MS+JP logran obtener semillas desarrolladas hasta la fase 5 en *P. vespa*.

Los resultados obtenidos en *P. vespa* y su nulo desarrollo de las semillas en los medios MS, posiblemente, podrían estar asociados al efecto de la concentración empleada de carbón activo en el medio de cultivo o la combinación de factores como el genotipo, la composición del medio de cultivo e incubación, entre otros (Cañal *et al.* 2001). El carbón activo es empleado en el cultivo de tejidos como agente antioxidante, sin embargo,

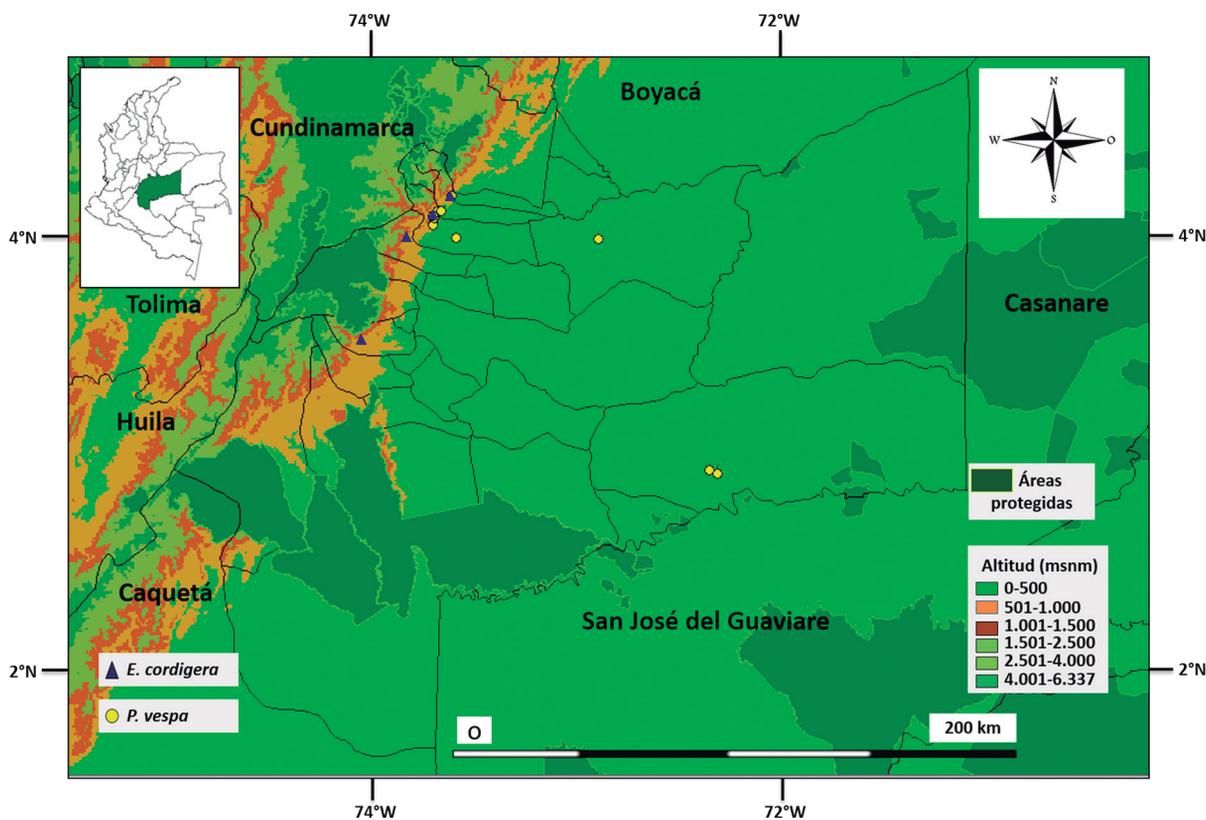


Figura 3. Mapa de distribución y áreas protegidas de *E. cordigera* y *P. vespa* en el departamento del Meta.

puede actuar como inhibidor de crecimiento afectando la absorción de nutrientes por la plántula (Pedroza-Manrique, 2007; Borgues y Sosa, 2008). En especies del género *Dioscorea*, como *D. alata*, los valores del número de nudos durante el transcurso del tiempo demuestran una tendencia a la disminución a medida que aumenta la incorporación de carbón activado en el medio de cultivo (Borgues y Sosa). En orquídeas, Pedroza-Manrique (2007), reporta que una adición de 0,5% de carbón activo, a los medios de cultivos empleados interfiere negativamente sobre la germinación *in vitro* de las semillas de *Masdevallia auropurpurea*.

Estudios realizados por Rodríguez *et al.* (2007), demuestran que la germinación *in vitro* en especies de orquídeas (*Bletia patula*, *Encyclia gravida*, *Encyclia oxypetala*, *Encyclia phoenicea*, *Epidendrum nocturnum*, *Epidendrum secundum*, *Epidendrum wrightii*, *Eulophia alta*, *Oncidium luridum*, *Phaius tancarvilleae*, *Phydinga polygonatum*, *Polystachya concreta*, *Polystachya foliosa*, *Prosthechea fragans* y *Schomburgkia lyonsii*) sembradas en medios de cultivo MS, Knudson, Vacing y Went y Morel suplementados con AC 10%, sacarosa 2% y 0,0-0,15% de carbón activo, es favorecida por la adición de este producto, dado a que incrementa la aireación del medio de cultivo. Sumado al efecto antioxidante, obtiene para las especies evaluadas una germinación del 53% y 47% del total de las especies germinadas en los medios MS y Knudson, mientras que para los medios Morel y Vacing y Went logran obtener un 40% y 27% respectivamente; observando la especie *E. oxypetala* como la más precoz en germinar en un periodo de 6 semanas (Rodríguez *et al.* 2007).

Pedroza-Manrique 2009, reporta que el carbón activado estimula los procesos de desarrollo morfogénico de raíces y protocormos que potencian el efecto del AIA (Ácido Indolacético), obteniendo de la interacción del carbón activado en

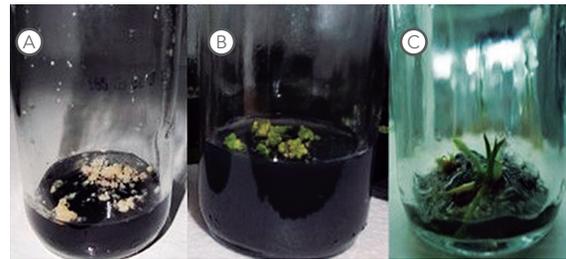


Figura 4. Fases de desarrollo en *E. cordigera* a) fase 0; b) fase 1 y c) fase 5. Fotos Oscar Hernández y Miguel Bonilla-M.

concentraciones de 0,5 y 1,0% con 0,5 mg.L⁻¹ de AIA, resultados positivos en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* bajo condiciones *in vitro*, mientras que la interacción del BAP (Bencil Amino Purina) en concentraciones de 0,5 y 1,0 mg.L⁻¹ se determina resultados no tan favorables, en cuanto al grado de desarrollo de los protocormos y con mayor estructuras foliares.

CONCLUSIONES

Las poblaciones nativas de *E. cordigera* y *P. vespa* del Meta, presentan una distribución limitada y pocos datos de ocurrencias, por lo que se hace

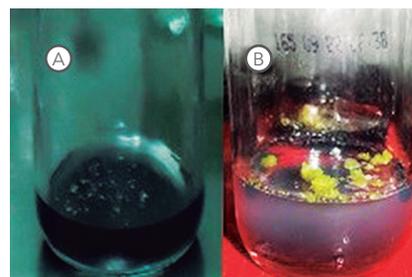


Figura 5. Fases de desarrollo en *P. vespa* a) fase 0 y b) fase 1. Fotos Oscar Hernández y Miguel Bonilla-M.

necesario realizar esfuerzos para conservarlas *in situ*, mediante estrategias en áreas protegidas nacionales como las Reservas Forestales de Villavicencio; y *ex situ*, mediante planes de conservación *in vitro*. Esta propuesta conjunta permitirá mantener la variabilidad genética de los genotipos locales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a Johan Mosquera Hernández por la participación y la colaboración en las colectas. Además, al personal del laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de los Llanos y al grupo de investigación Horizonte Mediático por el apoyo de espacios y materiales en el desarrollo del proyecto.

REFERENCIAS

- 1 Azofeifa A. 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana*. 20(1): 153-175.
- 2 Bernal R, Grasdstein S y Celis M. 2015. Catálogo de plantas y líquenes de Colombia [online], Colombia, Instituto de Ciencias Naturales de Colombia, Bogotá. Disponible: <http://catalogoplantascolombia.unal.edu.co>
- 3 Berry P, Yatskievych K y Holst B. 2003. Flora of the Venezuelan Guayana. United States: Missouri botanical garden. 765 pp.
- 4 Betancur J, Sarmiento H, Toro-González L y Valencia J. 2015. Plan para el estudio y la conservación de orquídeas en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales y Ministerio de Ambiente. 336 pp.
- 5 Bonilla M y Hernández O. 2012. Propagación *in vitro* de ñame (*Dioscorea* spp.): una perspectiva en la producción masiva de plántulas y conservación de germoplasma. *Agronomía*. 20 (2): 65-72.
- 6 Bonilla M, Mancipe C y Aguirre C. 2015. Conservación *in vitro*: una perspectiva para el manejo de los Recursos Fitogenéticos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 6 (1): 67-81.
- 7 Borges M y Sosa Y. 2008. Efectos de la adición de diferentes concentraciones de carbón activado sobre la multiplicación *in vitro* de ñame. *Biotecnología Vegetal*. 8(2): 87-90.

- 8 Calderón-Sáenz E. 2006. Libro rojo de plantas de Colombia. Vol 6. Orquídeas. Primera parte. Bogota, Colombia: Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto Alexander von Humboldt - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 828pp.
- 9 Camargo C y Delgado C. 2006. Flora Orchidaceae de la Mesa de los Santos (Piedecuesta-Santander). Tesis para optar el título de Biólogo. Bucaramanga- Santander. 306 pp.
- 10 Cañal M, Rodríguez R, Fernández B, Sánchez-Tames R y Majada J. 2001. Fisiología del cultivo *in vitro*. Biotecnología Vegetal. 1: 3-9.
- 11 Calva G y Pérez J. 2005. Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos del futuro. Revista Digital Universitaria. 6 (11): 1-16.
- 12 Cox, L. 2013. Orquídeas: importancia y uso en México. Bioagrocencias. 6(2): 4-7.
- 13 Díaz J, Solano F, Sánchez L y Espinoza F. 2004. Riqueza y distribución de las orquídeas en la Provicincia de Pamplona. Bistua. 2(1): 106-112.
- 14 Engels J y Visser L. 2007. Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma. Manuales para bancos de germoplasma No 6. Biodiversity International, Roma: Italia. 130 pp.
- 15 Espinosa, F. 2012. Caracterización de las especies del género *Prosthechea* (orchidaceas) presentes en Colombia. Trabajo de tesis para optar el título de Biólogo. Bogotá: Pontifica Universidad Javeriana. 45 pp.
- 16 Fotosíntesis. (2012). Proyecto Oleoducto Bicentenario. Guia ilustrada de las plantas epífitas del tramo Araguaneý-Banadía. Bogota: Colombia. 116 pp.
- 17 Granados-Sánchez D, López-Ríos G, Hernández-García M y Sánchez-González, A. 2003. Ecología de las plantas epífitas. Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente. 9(2): 101-111.
- 18 Guerra J y Huamani H. 1995. Caracterización edafoclimática del hábitat de las orquídeas. Tingo Maria-Perú: Universidad Nacional Agraria de la Selva. 40 pp.
- 19 Hijmans R, Schreuder M, De la Cruz, M y Rojas E. 2001. Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: DIVA-GIS. Plant Genetic Resources Newsletter 27: 15-19.
- 20 Johnson T y Kane M. 2007. Asymbiotic germination of ornamental Vanda: *in vitro* germination and development of tree hybrids. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 91: 251-261.
- 21 Jiménez, C. 2011. Orquídeas en el departamento del Meta. Villavicencio: Colombia. 88 pp.
- 22 Martínez S, Bonilla M y López H. 2015. Lista de Orchidaceae de Santander y comentarios sobre sus especies endémicas. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 11 (2): 54-111.
- 23 Knudson, L. 1921. La germinación no simbiótica de las semillas de orquídeas. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. 21:250 - 260.

- 24 López, H. 2011. Orquídeas nativas de Santander. Gobernación de Santander. 319 pp.
- 25 Ortiz P y Uribe C. 2014. Orquídeas, tesoro de Colombia (A-D). Editorial Da Vinci Publicidad y Medios & cía. S. En. C. 1-397 pp.
- 26 Pabón-Caicedo J, Eslava-Ramírez J y Gómez-Torres R. 2001. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y precipitación en Colombia. *Meteorología Colombiana*. 47-59.
- 27 Pedroza-Manrique J. 2009. Efecto de carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 11 (1): 17-32.
- 28 Quiroga D, Martínez M y Larrea D. 2010. Sistemas de polinización de cinco especies de orquídeas creciendo bajo condiciones de invernadero. *Ecología en Bolivia*. 45(2): 131-137.
- 29 Rodríguez D. 2010. Caracterizaciones biológicas en la hacienda Macondo (Mapiripán, Meta). *Orinoquia*. 14(1): 18-27.
- 30 Rodríguez L, González R, Alvarado K y Telles E. 2007. Germinación asimbiótica *in vitro* de semillas de orquídeas silvestres. *Biotecnología vegetal*. 7(3): 139-142.
- 31 Salazar S. 2012. Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo *in vitro* de plantulas de *Cattleya medelii* Dombroin (Orchidaceae). *Acta Agronómica*. 61(1): 69-78.
- 32 Salazar S y Orlando G. 2012. Evaluación del efecto de dos suplementos orgánicos en la germinación *in vitro* de orquídeas nativas de la provincia de Pamplona, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 24(1): 53-59.
- 33 Valencia J. 2014. Las orquídeas de San José (Santander, Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. 307 pp.
- 34 Valencia R, Lobo M y Ligarreto G. 2010. El estado del arte de los recursos genéticos vegetales en Colombia: sistemas de bancos de germoplasma. *Corpoica, ciencia tecnología agropecuaria*. 11(1): 85-94.