

## INFORMACIÓN TÉCNICA

# PROPAGACIÓN DE *Zamia skinneri* Warszewicz, UNA PLANTA TROPICAL ORNAMENTAL EN PELIGRO DE EXTINCIÓN<sup>1</sup>

*Pablo Bolaños Villegas*<sup>2</sup>

### RESUMEN

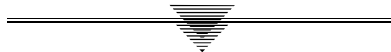
**Propagación de *Zamia skinneri* Warszewicz, una planta tropical ornamental en peligro de extinción.** En este trabajo se analiza la labor realizada por investigadores nacionales en el área de la reproducción en campo y en laboratorio de *Zamia skinneri*, una Cycadophyta de alto valor ornamental en peligro de extinción. Se indican aspectos aún por dilucidar con el fin de orientar la investigación futura hacia el desarrollo de métodos de producción masiva a escala comercial.

**Palabras claves:** *Zamia skinneri*, cycadophyta, especie en peligro, propagación vegetativa, micropropagación.

### ABSTRACT

**Propagation of *Zamia skinneri* Warszewicz, an endangered ornamental plant from the tropics.** This work is a review of publications about the propagation of *Zamia skinneri*, an endangered cycad of great ornamental value. Both field and laboratory methodologies are discussed as a way to pinpoint what areas can still be developed in order to attain feasible commercial methods of mass propagation for this plant.

**Key words:** *Zamia skinneri*, cycad, endangered species, vegetative propagation, micropropagation.



### INTRODUCCIÓN

*Zamia skinneri* Warszewicz es una planta de gran atractivo, considerada como un fósil viviente. Su existencia se considera amenazada a causa de la gran presión que se ha dado sobre ella como producto ornamental de gran valor, lo cual se manifiesta en la extracción de semillas, trozos de tallo y

planta adulta en los bosques de la región atlántica costarricense. Por tal motivo la comercialización internacional de esta planta está restringida por la Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), en donde está inscrita en el Apéndice II que determina que su comercio debe ser controlado a través de permisos (Amador 2000).

<sup>1</sup> Recibido: 31 de enero, 2005. Aceptado: 24 de octubre, 2005.

<sup>2</sup> National Pingtung University of Science and Technology, Department of Tropical Agriculture and International Cooperation 1 Hsue-Fue Rd, Nei-Pu Hsiang, Pingtung, Taiwan. Correo electrónico: m9422014@mail.npust.edu.tw

No obstante, algunos investigadores han descartado que iniciativas de conservación *in situ* como CITES protejan adecuadamente a las plantas de la expansión de las áreas agrícolas y del comercio ilegal internacional, y han sugerido como alternativa aumentar la disponibilidad comercial de las zamiáceas y cicadáceas exóticas por medio de métodos mejorados de polinización manual y germinación de semillas, prácticas como la poda de raíces para estimular el crecimiento vegetativo y técnicas de cultivo *in vitro* más eficaces en cuanto a propagación por medio de cigotos y tejido somático (Litz *et al.* 2004).

Fue precisamente en esa dirección alternativa que durante los años 90 en Costa Rica se enfocaron los esfuerzos de la Dirección General Forestal (DGF) y el Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible en Centroamérica (OLAFO) del Centro Agronómico Tropical para la Investigación y la Enseñanza (CATIE), tendientes a investigar la forma de manejo más apropiada para *Z. skinneri*. Eventualmente a la labor del CATIE se le sumaron instituciones como la Universidad de Costa Rica (UCR), el Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) y la Universidad Nacional (UNA).

El presente trabajo tiene como objetivo principal recopilar la información existente sobre manejo de campo y técnicas de propagación *in vitro* para el cultivo de *Z. skinneri* con miras a facilitar la labor de todas aquellas personas interesadas en investigar esquemas de cultivo de dicha planta que sean ambiental y comercialmente sostenibles.

## Generalidades

*Zamia skinneri* es una planta de la América tropical que crece de forma natural en el sotobosque de los bosques húmedos de la vertiente Atlántica del sur de Nicaragua, Costa Rica y norte de Panamá, desde el nivel del mar hasta los 950 msnm. Es una planta adaptada a recibir del 1 a 2% de la luz incidente sobre el dosel superior. Se le utiliza como planta verde de interiores por lo que se comercializa la planta entera, estacas enraizadas con brotes de

hojas, o las plántulas provenientes de su semilla (Robles *et al.* 1997 a).

Siendo una Zamiaceae (División Cycadophyta), *Z. skinneri* semeja una palma enana, con tallo arborescente sin ramificaciones. Las plantas presentan de seis a nueve hojas compuestas que pueden tener más de un metro de longitud, y entre seis a doce pares de foliolos (Robles *et al.* 1997 a). Las hojas llegan a vivir de cuatro a seis años (Amador 2000). En cuanto a sus estructuras reproductivas, son plantas dioicas que producen estróbilos, no presentan dimorfismo sexual y poseen ciclos reproductivos largos de hasta seis años (Robles *et al.* 1997 b).

Según Maiocco (1998), la producción de foliolos se estabiliza al alcanzar la madurez sexual. Individuos con 16 foliolos (ocho pares) o más en la hoja más desarrollada pueden producir estróbilos, permitiendo clasificar las plantas de *Z. skinneri* en sexualmente maduras y juveniles.

Sólo un 26% de las plantas adultas producen estróbilos (Clark y Clark 1991), no obstante cada estróbilo ovulado (cono femenino) puede producir hasta 200 semillas con un porcentaje de germinación del 100% (Ocampo 2004<sup>3</sup>).

La variabilidad natural de las poblaciones de esta planta es alta como se puede apreciar en el Cuadro 1.

## Manejo de campo

Tanto Maiocco (1998) como Porras (1996), coinciden en observar que las poblaciones de *Zamia skinneri* presentan mayor cantidad de individuos por unidad de área en las laderas suaves (menores al 30%) y en los llanos. Según Jones (1993) el buen drenaje es requisito para el desarrollo de las plantas del género *Zamia*, debido a la vulnerabilidad de su sistema radical a pudriciones y problemas

<sup>3</sup> Ocampo, R. 2004. Propagación de *Z. skinneri* (entrevista). San José, C.R. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE).



**Figura 1.** A: Estróbilo polinífero (cono macho), B: Estróbilo ovulado (cono hembra) de *Zamia skinneri* (Amador 2000).

**Cuadro 1.** Síntesis de variables estudiadas por Maiocco (1998) para cuatro grupos de poblaciones de *Zamia skinneri*, analizadas según la metodología de discriminante canónico.

<b>Variables consideradas</b>	<b>La Lupe, Nicaragua-Area de Conservación Guanacaste, C.R.</b>	<b>Reservas Poco Sol, Barra del Colorado y La Selva (C.R.)</b>	<b>San Rafael de Bordón* y Corina, Talamanca (C.R.) - Panajungla, Panamá</b>	<b>Reserva Indígena Chirripó (C.R.)</b>
Altura del tallo de la planta de mayor desarrollo (cm)	31	68	123	65
Número total de hojas de la planta de mayor desarrollo	6	12	23	15
Número total de folíolos de la hoja más desarrollada de la planta de mayor desarrollo	18	22	26	27
Altitud sobre el nivel del mar (m.s.n.m)	292	488	211	773
Temperatura promedio anual (°C)	24,8	23,5	24,5	19,5
Número promedio de individuos por hectárea	123	80	545	1.022

\*Sitio donde se maneja a *Z. skinneri* en sistema silvicultural diversificado (Ocampo y Marmillod 1997).

con hongos. Hasta el momento no se ha realizado investigación respecto a los requerimientos de fertilización de *Z. skinneri*, no obstante como se aprecia en el Cuadro 2, un pH del suelo de 4,2 no parece ser un factor limitante como tampoco lo son niveles bajos de potasio y fósforo ni niveles abundantes hierro (69 mg/l), que causarían toxicidad en otros cultivos.

Como norma general las cycadophytas poseen compuestos neurotóxicos denominados azoxiglicósidos que las protegen de la depredación, es por ello que a la hora de manipular semillas de *Zamia* sp., se recomienda el uso de guantes plásticos para reducir el contacto entre la sarcotesta y la piel (Jones 1993). A la hora de germinar las semillas de especies como *Zamia integrifolia* y *Zamia pygmaea* se recomienda utilizar bandejas de germinación, y posteriormente cuando la radícula ha emergido, transplantar a bolsas de polietileno con una longitud mayor a los 25 cm para no limitar el crecimiento en longitud de la raíz y evitar los trasplantes frecuentes (Del Risco *et al.* 2001).

### Propagación vegetativa y poda

Debido a la carencia de información sobre aspectos básicos de cultivo, Jiménez y Ocampo (1999), investigadores de la UCR y del CATIE respectivamente, se dieron a la tarea de investigar de 1996 a 1999 métodos de propagación vegetativa,

como el uso de diferentes secciones de tallo, y comparar también el crecimiento de la planta y la producción de hojas compuestas a distintas intensidades lumínicas. Los experimentos fueron llevados a cabo simultáneamente en dos localidades diferentes, Siquirres, Limón, y en la Estación Experimental Fabio Baudrit, de la UCR, en La Garita de Alajuela. En cada localidad se evaluaron nueve tratamientos, con seis plantas por tratamiento y un diseño experimental tipo irrestricto al azar con cinco repeticiones (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Tratamientos usados en el experimento sobre propagación vegetativa de *Zamia skinneri* (Jiménez y Ocampo 1999).

Número de tratamiento	Posición del esqueje	Profundidad de siembra	Sección del tallo
1	Vertical	1/3 longitud (5cm)	Apical
2	Vertical	1/3 longitud (5cm)	Media
3	Vertical	1/2 longitud (7,5 cm)	Apical
4	Vertical	1/2 longitud (7,5 cm)	Media
5	Vertical	Superficial	Apical
6	Vertical	Superficial	Media
7	Horizontal	1/3 de diámetro (1 cm)	Apical
8	Horizontal	1/3 de diámetro (1 cm)	Media
9	Horizontal	5 cm	Sección de tallo con raíz

**Cuadro 2.** Caracterización físico-química de lotes cultivados con *Z. skinneri* en Finca Bougainvillea, Baltimore, Limón (Barber-Gormley 1999).

	pH	acidez	CICE	cmol(+)/l			mg/l				
				Ca	Mg	K	P	Cu	Fe	Mn	Zn
Lote 2	4,8	0,36	14	7,54	5,96	<b>0,14</b>	<b>2</b>	6,4	13	10,7	2,8
Lote 3	4,2	2,97	6,36	<b>2,6</b>	<b>0,72</b>	<b>0,1</b>	<b>1,7</b>	8,7	69	11,1	1,2
N.C*	5,5	0,5	5	4	1	0,2	10	1	10	5	3

Textura, lote 1: franco arcilloso, lote 2: arcilloso. N.C: nivel crítico mínimo de un elemento o factor de fertilidad determinado por el Centro de Investigaciones Agronómicas de la UCR (Bertsch 1998). Acidez: acidez intercambiable (iones hidronio liberados por iones  $Al^{3+}$  del suelo), CICE: capacidad de intercambio catiónico. Los valores resaltados en negrita denotan insuficiencia y los valores con fondo gris toxicidad debida a un factor de fertilidad.

Como resultado de su trabajo, ambos investigadores llegaron a la conclusión que el porcentaje de brotación (plantas con hojas compuestas) es mayor si se trabaja con esquejes apicales (Cuadro 4), no obstante, sólo se puede obtener uno o dos por planta (datos no se muestran), lo cual es una gran limitante a nivel comercial.

Asimismo en Siquirres, el cultivo de esta especie a 40% de sombra influyó en la producción de un buen número de hojas por planta y mayor longitud de hoja (Cuadros 5 y 6).

Un aspecto que mejora la apariencia de las plantas de esta especie, y que se realiza a nivel de campo, es cortar totalmente el follaje de las plantas, ya que se induce una mayor producción de hojas compuestas que a su vez son más compactas y manejables. En

**Cuadro 4.** Promedio de obtención de plantas de *Z. skinneri* con hojas compuestas, por medio de secciones de tallos (Jiménez y Ocampo 1999).

Tratamiento	Plantas con hojas compuestas		
	Mes 1	Mes 20	Mes 33
1	1,2	5,8	5,8
2	0	2,6	3,8
3	1,8	5,4	5,4
4	0	3,8	4,6
5	2,8	5,6	5,6
6	0	3,8	4,6
7	2	5,8	5,6
8	0	3,8	4,6
9	0	4,4	5,4

*Zamia skinneri* la producción de hojas compuestas no es continua, sino que ocurre intermitentemente en

**Cuadro 5.** Promedio de producción de hojas de *Z. skinneri*, bajo diferentes ambientes. Alajuela (Jiménez y Ocampo 1999).

% de sombra	Fecha de evaluación								
	Dic. 96	Feb. 97	May. 97	Ago. 97	Nov. 97	Feb. 98	May. 98	Ag. 98	Nov. 98
40	2,6	2,8	4,2	5,9	7,7	8,9	11,1	12,6	13,5
50	2,1	2,9	3,6	5,5	7,2	8,7	10,6	10,9	12,4
60	2,3	3,0	4,3	6,0	6,3	7,2	9,2	10,4	11,4
70	2,6	3,1	4,9	6,3	8,0	8,6	9,1	10,7	12,0
70 *	3,5	3,3	5,5	6,5	8,3	7,8	10,3	10,6	12,2
80	2,5	3,2	4,2	5,7	7,1	8,6	10,3	10,6	14,6

\*malla reflectora hecha de aluminio.

**Cuadro 6.** Promedio de longitud de hoja (cm) de *Z. skinneri*, bajo diferentes ambientes (Jiménez y Ocampo 1999).

% de sombra	Fecha de evaluación								
	Dic. 96	Feb. 97	May. 97	Ago. 97	Nov. 97	Feb. 98	May. 98	Ag. 98	Nov. 98
40	33,2	33,1	30,2	43,2	59,9	68,2	80,2	97,7	100,2
50	35,4	36,1	32,9	48,4	61,9	78,5	91,7	104,0	109,2
60	34,4	35,0	35,4	46,4	56,1	66,0	77,2	87,2	92,0
70	34,5	35,6	41,5	54,3	70,1	75,0	90,0	94,7	97,5
70 *	36,8	37,4	41,7	51,1	70,4	73,2	91,2	92,7	97,0
80	31,6	33,4	39,7	49,3	65,4	65,2	76,2	81,0	84,5

\*malla reflectora hecha de aluminio.

ciclos de acumulación de reservas, seguidos por la producción de todas las fondas al mismo tiempo (Jiménez y Ocampo 1999) (Figura 2).



**Figura 2.** Aparición y desarrollo de hojas compuestas nuevas en planta de *Z. skinneri*. Foto: Pablo Bolaños.

Para determinar el método óptimo de corta de follaje, a las plantas obtenidas por propagación vegetativa se les sometió a corta de las hojas compuestas cada seis meses, con un período de evaluación de 19 meses. Los datos hacen concluir que el mayor número de hojas compuestas se obtiene después de la primera poda al sexto mes, y después de la tercera poda al mes 19 (Cuadro 7).

Según Jiménez y Ocampo se ha observado que con frecuencia al hacer cortes de tallo en plantas de *Z. skinneri*, la brotación de yemas apicales ocurre en la médula del tallo cortado. Usualmente se estimula una yema y muy ocasionalmente dos o tres yemas. Tomando en cuenta este fenómeno, se realizó cortes en el tallo de plantas recolectadas en Siquirres y Talamanca, seguido de aplicaciones con citoquininas (no se mencionó cual ni la concentración) para forzar la brotación de yemas vegetativas en el borde del tallo.

A pesar de que las secciones de tallo se sumergieron en fosetil-Al (Aliette®), estreptomycin y

**Cuadro 7.** Número promedio de hojas compuestas por parcela (cinco plantas). Producto de la poda de follaje en *Zamia skinneri* (Jiménez y Ocampo 1999).

Tratamiento	Evaluación (mes)					
	1*	6	7**	12	13***	19
1	12,4	24,4	5,8	10,4	1,2	14
2	8,8	17,4	3,4	11,2	0,4	14
3	7	16,4	1,8	12,6	1,8	15,4
4	7,4	15,4	2,2	10,2	2	12,8
5	8,2	19,4	4,2	10,2	1,2	15,8
6	0,6	7,6	0	0,6	0	0,6
7	8,4	13,2	1,2	9,8	0,6	14,2
8	3,8	10,4	1,4	8,2	0	10
9	3	8,2	0,6	2,6	0,2	4

\*= 1 mes después de la primera poda total del follaje

\*\*= 1 mes después de la segunda poda total del follaje

\*\*\*= 1 mes después de la tercera poda total del follaje

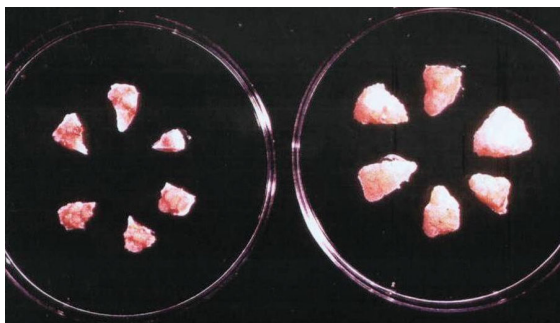
terramicina (Agrymicin®), y de que el sustrato de siembra (mezcla de suelo, piedra pómez y cascariella de arroz en proporción de 1:1:1) se desinfectó con dazomet (Basamid®), la mayoría de las plantas murieron por pudrición bacterial y no se pudo analizar los resultados.

### Cultivo *in vitro*

Debido a las limitaciones en cuanto a disponibilidad de semilla y al lento crecimiento de las plantas de *Z. skinneri* en el campo, algunos investigadores han considerado que el cultivo *in vitro*, al obviar tales barreras, sí tiene el potencial de producir plantas de forma masiva. Dos han sido los enfoques a la hora de implementar métodos de propagación *in vitro* para *Z. skinneri* en Costa Rica: uso de tejido somático y uso de semilla (megagametófito).

El uso de tejido somático, como lo son folíolos maduros de plantas adultos, ha probado ser una alternativa para la obtención de cultivos embriogénicos en *Ceratozamia hildae*, *Ceratozamia mexicana* y *Ceratozamia euryphyllidia* (Litz *et al.* 2004). En el caso de *Z. skinneri* tal metodología fue evaluada

Amador (2000), quien para su investigación recurrió a plantas provenientes de Talamanca, de las cuales tomó segmentos de foliolo y de tallo tratados con alcohol de 70 % V/V y NaOCl al 3%. Todos los explantes de hoja se contaminaron. Posteriormente se evaluó la respuesta de los explantes de tallo en ocho diferentes variantes del medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) para inducción de callo. Cuatro de esos medios combinaron diferentes niveles de BAP y ANA, mientras que los restantes combinaron diferentes niveles de 2,4-D y kinetina. Todos los medios evaluados indujeron la formación de callo entre un 87,5% y un 97,5% de los explantes (Figura 3). Los callos de mejor calidad en cuanto a tamaño y consistencia fueron los obtenidos en los medios que combinaron 2,4-D y kinetina.



**Figura 3.** Producción de callo de segmentos de tallo de *Z. skinneri* provenientes de Talamanca, Costa Rica (Amador 2000).

Finalmente se probó la respuesta de los callos de tallo en seis diferentes medios de cultivo (semi-sólidos), para inducción de organogénesis. Los medios fueron: MS, MS + 0,5 mg/l de ANA, MS + 1,0 mg/l de ANA, MS + 0,5 mg/l de 2,4-D, MS + 1,0 mg/l de 2,4-D, y MS con los macronutrientes a media concentración. Con los medios de cultivo empleados no fue posible obtener ningún tipo de organogénesis.

Por otra parte Venegas y Palma (1997, 1999), tesiaro el primero e investigador del ITCR el segundo, investigaron el potencial de explantes de semilla de *Z. skinneri* para la obtención de embriones

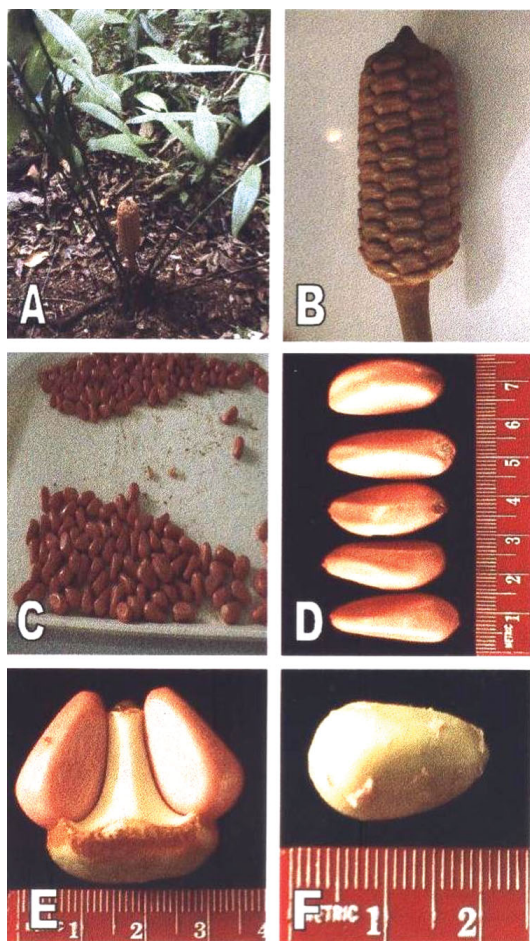
y de otras estructuras (organogénesis). Tal técnica ha resultado exitosa en la regeneración in vitro de especies como *Zamia pumila*, *Zamia fischeri*, *Zamia furfuracea*, *Dioon edule* y *Cyca revoluta* (Chávez *et al.* 1992; Litz *et al.* 2004)

Para sus investigaciones, Venegas y Palma emplearon callos que fueron inducidos a partir de megagametófitos seleccionados de plantas provenientes del área de San Carlos.

Según Venegas (1997) y Palma (1999), las semillas utilizadas en sus experimentos se recolectaron de estróbilos blandos ya maduros (Figura 4), se llevaron al laboratorio y allí se les sumergió en una solución de 1 g/l de benomil y 1 g/l mezcla de estreptomycin y oxatetraciclina (Agrimycin®), posteriormente se les sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 20 minutos y se les trasladó a una cámara de flujo laminar donde se les practicó tres lavados con agua destilada estéril. Seguidamente a las semillas se les removió el integumento, quedando expuesto el megagametófito, que se desinfectó nuevamente en una solución de hipoclorito de sodio al 0,75%. Después de tres lavados con agua destilada estéril, el megagametófito se disectó en dos secciones longitudinales las cuales constituyeron los explantes (mitad longitudinal del embrión).

Como medio primario para la inducción del callo (Figura 5), los megagametófitos se cultivaron en el medio de cultivo desarrollado por Chavez *et al.* (1992) para sus estudios de micropropagación de *Z. pumila*, *Z. fisheri* y *Z. furfuracea* (Cuadro 8). Tal medio se suplementó con 2,4-D (0-2,5 mg/l) y caseína hidrolizada (400 mg/l), mientras que para inducir para la organización de estructuras se empleó medio MS con kinetina (0-5 mg/l).

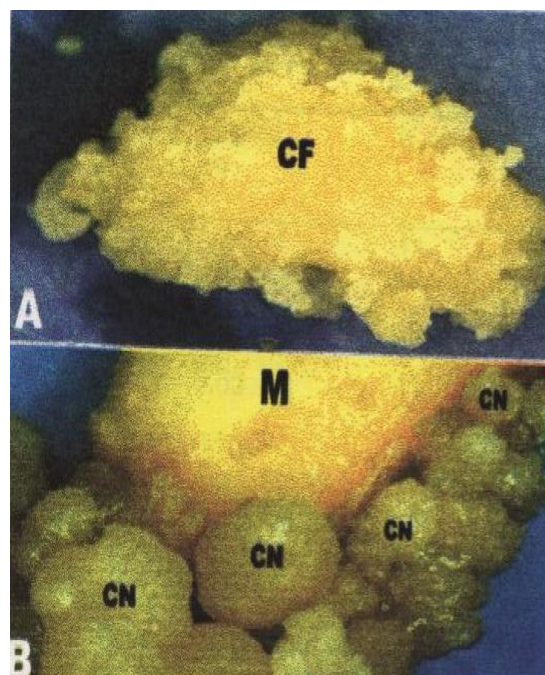
Los megagametófitos sembrados en el medio de cultivo se incubaron en un cuarto de crecimiento en total oscuridad, a una temperatura de 27°C y con una humedad relativa de 80%. Cuando las estructuras organizadas (embriones o brotes) desarrollaron una longitud de 2 cm, se les expuso a un fotoperíodo de 16 horas, y usando fluorescentes fríos de luz blanca se les expuso a una intensidad lumínica inicial de 13



**Figura 4.** Planta femenina de *Z. skinneri* con su estróbilo (A). Detalle del estróbilo (B). Megagametófito redondo de la sarcotesta (C). Detalle del megagametófito (D). Megagametófito adherido a una sección del estróbilo (E). Megagametófito una vez removida la sarcotesta (F) (Palma 1999).

$\mu\text{M m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , que se fue incrementando paulatinamente hasta alcanzar los  $39 \mu\text{M m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (1000-3000 Lux).

Los resultados indican que 0,5 mg/l de 2,4-D es la dosis más efectiva para obtener callos, mientras que la obtención de brotes y embriones somáticos fue mayor cuando se utilizó 3 mg/l de kinetina. Dosis de kinetina mayores a los 3 mg/l promovieron



**Figura 5.** Callo friable obtenido a partir de megagametófito de *Z. skinneri*, en medios suplementados con 0,5 mg/l de 2,4-D, y 1 mg/l de kinetina, 60 días después de la siembra (A). Callo compacto nodular producido a los 40 días después de la siembra en un medio libre de reguladores de crecimiento (B). CF: callo friable, M: megagametófito, CN: callo nodular (Venegas 1997).

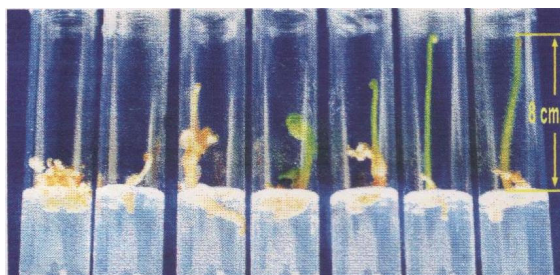
necrosamiento de los callos. Posteriormente los brotes y embriones se subcultivaron en medio MS sin reguladores de crecimiento y a las cinco semanas se obtuvo folíolos y plántulas, algunas con raíz (Figura 6).

Los investigadores mencionan haber llevado plántulas al invernadero, pero no se especificó su número ni su porcentaje de supervivencia con respecto al total de explantes, no obstante se indica que de 321 estructuras organizadas observadas a la semana 12, sólo se llevó 20 plántulas al invernadero. Tales resultados hacen que este método de regeneración de plantas por organogénesis sea inviable a nivel comercial, como también ha ocurrido en investigaciones similares con *Z. integrifolia* y *Z. pygmaea* (Del Risco *et al.* 2001).



**Cuadro 8.** Composición del medio de cultivo empleado por Chavez *et al.* (1992), para la regeneración de embriones somáticos a partir de callos derivados de megametófitos de *Zamia pumila*, *Zamia fisheri* y *Zamia furfuracea*.

Componentes	Concentración (milimoles/l)
<i>Macroelementos</i>	
KNO <sub>3</sub>	0,124
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,02 x 10 <sup>-3</sup>
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,01 x 10 <sup>-3</sup>
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,15 x 10 <sup>-3</sup>
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,25 x 10 <sup>-3</sup>
<i>Microelementos</i>	
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	0,09 x 10 <sup>-3</sup>
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,10 x 10 <sup>-3</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,10 x 10 <sup>-3</sup>
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,10 x 10 <sup>-3</sup>
ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,04 x 10 <sup>-3</sup>
KI	0,05 x 10 <sup>-4</sup>
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,01 x 10 <sup>-4</sup>
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,01 x 10 <sup>-5</sup>
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,01 x 10 <sup>-5</sup>
<i>Compuestos orgánicos</i>	
Mio-inositol	0,55 x 10 <sup>-3</sup>
Ácido nicotínico	0,04 x 10 <sup>-4</sup>
Ácido ascórbico	0,57 x 10 <sup>-3</sup>
Glicina	0,03 x 10 <sup>-3</sup>
Asparagina	0,67 x 10 <sup>-3</sup>
Arginina	0,57 x 10 <sup>-3</sup>
Glutamina	2,73 x 10 <sup>-3</sup>
Piridoxina-HCl	0,24 x 10 <sup>-5</sup>
Tiamina-HCl	0,03 x 10 <sup>-5</sup>



**Figura 6.** Diferentes etapas obtenidas a partir de un callo de megametófito de *Z. skinneri* hasta el desarrollo de brotes (Venegas 1997).

## CONCLUSIONES

*Zamia skinneri* es una planta de gran belleza ornamental, muy cotizada pero difícil de producir comercialmente por lo poco frecuentes que son los eventos que conducen a la producción de semillas, por esto se hace necesario recurrir a la propagación vegetativa por medio de cortes de tallo o micropropagación.

A la hora de emitir una opinión respecto a la propagación por medio de secciones de tallo, Jiménez y Ocampo (1999) coinciden en que la lentitud en la brotación de hojas compuestas después de la siembra (4 a 10 meses), hace que el método no sea viable a nivel comercial. Además siendo *Z. skinneri* una planta del bosque tropical húmedo, se le debe cultivar en zonas bajas (como Siquirres) donde no haya una estación seca definida, y en lo posible, recurrir a malla reflectora que proporcione un 40% de sombra.

Asimismo Jiménez y Ocampo hacen mención a otro aspecto que bien podría investigarse en el futuro como lo sería evaluar el crecimiento y la producción de hojas compuestas como respuesta a la fertilización. También podría llevarse a cabo experimentos que diluciden la influencia de la nutrición mineral o de los estímulos ambientales en la producción de semillas de *Z. skinneri* por planta femenina a lo largo del tiempo, para eventualmente acortar los ciclos de producción y aumentar el número de semillas por estróbilo cosechado<sup>4</sup>. Vale la pena mencionar que parte de las conclusiones del proyecto OLAFO del CATIE es que la silvicultura sostenible de esta planta en Talamanca se ve obstaculizada por la poca disponibilidad de semilla para resiembra<sup>5</sup>.

En retrospectiva, la mayor limitante del muy meritorio método de propagación elaborado por Jiménez y Ocampo (1999) no parece haber sido

<sup>4</sup> Graves, W.R. 2004. Propagación de *Z. skinneri* (correspondencia). Iowa, Estados Unidos, Universidad Estatal de Iowa.

<sup>5</sup> Ocampo, R. 2004. Propagación de *Z. skinneri* (entrevista). San José, C.R. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE).

trabajar con secciones de tallo con poca capacidad para formar plantas, sino el haber trabajado con material escaso y genéticamente poco uniforme, como la hacen también todos los productores de *Z. skinneri* en Costa Rica. Si en algún momento se planteara seriamente la posibilidad de establecer explotaciones sostenibles de tal planta debe existir certeza acerca de la calidad de las plantas y su desempeño, además de contar con un abastecimiento continuo y barato de semilla, condiciones que se dan por sentadas en cualquier otro cultivo comercial.

Es en este punto, que se vuelve notorio el potencial que posee el cultivo *in vitro* como forma de propagar masivamente y de forma uniforme genotipos superiores sin tener que recurrir al mejoramiento convencional. No obstante si se evalúa la labor de los investigadores dedicados a este tema surgen varias interrogantes. En el caso de Amador (2000), se plantea que la micropropagación de material somático de *Z. skinneri* debería contemplar aspectos metodológicos puntuales como la desinfección al vacío del material propagativo y la utilización de medios líquidos. Este enfoque es valioso por cuanto si se le perfeccionara permitiría propagar a *Z. skinneri* a partir de un espécimen único o a partir de especímenes de un mismo sexo, no obstante se trabaja con tejido cuya asepsia inicial es nula.

Afortunadamente existe otra fuente de explante que garantiza una mayor asepsia: la semilla, o específicamente el megagametófito. El megagametófito no solo está aislado del medio por una sarcotesta dura y tóxica sino que además está agrupado en estróbilos erectos a varios centímetros del suelo. El hecho de que Venegas (1997) y Palma (1999) hayan reparado en ello para sus experimentos en micropropagación permite cifrar esperanzas en el desarrollo de un protocolo que permita la producción en masa de plántulas de *Z. skinneri* algún día.

Según ambos investigadores los aspectos que no permitieron en su momento regenerar un número importante de plántulas a partir de megagametófitos fueron: a) desconocimiento de la morfogénesis de los callos en medio libre de crecimiento, b) desconocimiento de la capacidad regenerativa de los callos

de *Z. skinneri* en suspensiones celulares, y c) desconocimiento respecto a mejores condiciones de aclimatación. No obstante llama la atención el que en sus publicaciones apenas se menciona la necesidad de obtener tallos enraizados, condición importantísima para concluir en el vivero lo que se inicia en la cámara de transferencia.

Como asignación pendiente está el realizar nuevos experimentos que brinden la oportunidad de obtener plantas enraizadas que no provengan de material seleccionado de forma casual, sino a partir de poblaciones élite como las de San Rafael de Bordón y Corina, en Talamanca, Costa Rica, como pudo establecerlo con claridad Maiocco en 1998, y como en su momento lo hizo Amador. O bien investigar métodos de crio-conservación de cultivos embriogénicos, estrategia de conservación a largo plazo que se ha evaluado ya en otras zamiáceas (Litz *et al.* 2004).

Como reto pendiente queda también el no permitir que un recurso fitogenético importante desaparezca por no haber actuado a tiempo. La tala indiscriminada del bosque tropical húmedo no solo amenaza a *Z. skinneri* sino a especies que ni siquiera hemos estudiado todavía. La conservación tiene un componente social y al luchar por la preservación de nuestros recursos naturales defendemos la viabilidad económica de nuestras sociedades, por lo que cualquier esfuerzo en ese sentido es una contribución importante a nuestro propio bienestar y al de aquellos que aún no han nacido.

### **Agradecimientos:**

A los investigadores Kenneth Jiménez, Rafael Ocampo y Víctor Jiménez por su apoyo y asistencia brindada.

### **LITERATURA CITADA**

AMADOR, L. 2000. Respuesta de la especie *Zamia skinneri* Warszewicz a la propagación *in vitro*. Tesis Lic. Ing. Agr, Heredia, Costa Rica, UNA. 56 p.

- BARBER-GORMLEY, P. 1999. Ethnobotany and the study of optimal natural ecological conditions of an endangered cycad (*Zamia skinneri*). Costa Rica-Estados Unidos, ACM Tropical Field Research. 77 p.
- BERTSCH, F. 1998. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 157 p.
- CHÁVEZ, V.M.; LITZ, R.E.; NORSTOG, K. 1992. Somatic embryogenesis and organogenesis in *Zamia fischeri*, *Z. furfuracea* and *Z. pumila*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 30: 99-105.
- CLARK, D.A.; CLARK, D.B. 1987. Temporal and environmental patterns of reproduction in *Zamia skinneri*, a tropical rainforest cycad. Journal of Ecology 75: 134-149.
- DEL RISCO, L.; PEÑA, E.; PÉREZ, D. 2001. Estudios para la conservación de Zamias cubanas: 3, técnicas de propagación aplicadas a *Zamia integrifolia* L. y *Zamia pygmaea* Sims. Revista del Jardín Botánico Nacional 22(2): 209-214.
- JIMÉNEZ, K.; OCAMPO, R. 1999. Manejo sostenible de *Zamia skinneri*, planta ornamental del bosque tropical húmedo con potencial para exportación. Informe final del proyecto # 736-96-361. Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno - UCR, Alajuela, Costa Rica. 36 p.
- JONES, D.L. 1993. Cycads of the world. Smithsonian Institution. Estados Unidos de América. 300 p.
- LITZ, R.E.; MOON, P.A.; BENSON, E.M.; STEWART, J.; CHÁVEZ, V.M. 2004. A biotechnology strategy for medium- and long-term conservation of cycads. The Botanical Review 70(1): 39-46.
- MAIOCCO, D. 1998. Distribución de *Zamia skinneri*, un producto no maderable de los bosques de Centro América. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 85 p.
- PALMA, T. 1999. Micropropagación de Zamia: *Zamia skinneri*. Informe de programa de investigación, Cartago, CR, ITCR. 42 p.
- PORRAS, I. 1996. Caracterización ecológica y potencial de aprovechamiento de *Zamia skinneri* (Zamiaceae) y *Reinhardtia gracilis* (Araceae) en San Rafael de Borbón, Talamanca. Informe de práctica de especialidad, Cartago, CR, ITCR. 81 p.
- ROBLES, G.; OCAMPO, R.; MARMILLOD, D. 1997 a. Incorporación de una especie no maderable en un sistema silvicultural diversificado: El caso de *Zamia skinneri*. In: Actas de la III Semana Científica. Turrialba, CR, CATIE. p. 136-138.
- ROBLES, G.; VILLALOBOS, R.; MARMILLOD, D.; PORRAS, I. 1997 b. Elementos ecológicos para la silvicultura de *Zamia skinneri*. In: Morales, E.; Cartín, F. ed. III Congreso Forestal Nacional. San José, CR, MINAE. p. 19-21.
- VENEGAS, E. 1997. Estudio morfogénico de *Zamia skinneri*. Tesis Lic. Ing. Agr, San Carlos, CR, ITCR. 41 p.