



**UNIVERSIDAD
DEL AZUAY**

**UNIVERSIDAD DEL AZUAY
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y GESTIÓN**

**Estudio de la germinación y desarrollo temprano in vitro de una
especie de orquídea del género *Cymbidium* cultivada entre
diferentes tratamientos simbióticos y asimbióticos**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO:
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN**

Autores:

**DIEGO ANDRÉS BELTRÁN AGUILAR
ADRIANA POLETH SOLÓRZANO CHÁVEZ**

Director:

RODRIGO SEBASTIÁN CAROCA CÁCERES

CUENCA, ECUADOR

2022

DEDICATORIA

Me di cuenta, a pesar de todo, que en medio del invierno había dentro de mí un verano invencible. Y eso me hace feliz. Porque no importa lo duro que el mundo empuje en mi contra, dentro de mí hay algo mejor empujando de vuelta. Dedico este trabajo a mi familia, quienes han sido un apoyo fundamental durante toda mi vida, a mis amigos y maestros con los que he compartido grandes momentos.

Albert Camus,

El verano

(1953)

Diego

El amor trasciende la persona física del ser amado, encuentra su significado más profundo en su ser espiritual. Que esté presente o no de alguna manera deja de ser importante. Dedico este trabajo a mi papi, quien me enseñó a mirar el amor desde otra perspectiva y a mi pequeña gran familia mi mami Adriana, mi hermano Juan José y abuelita Marina por ser mi porqué y reconfortarme para poder soportar casi cualquier cómo.

Viktor Frankl,

El hombre en busca de sentido

(1946)

Poleth

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, queremos agradecer a nuestro tutor Rodrigo Caroca Cáceres PhD, por brindarnos su apoyo constante y guiarnos pacientemente durante este proceso para alcanzar nuestra meta.

A Raffaella Ansaloni y Antonio Crespo, PhDs, miembros del tribunal, quienes nos brindaron su tiempo, apoyo y conocimiento durante el desarrollo del trabajo de grado.

Al orquideario de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca y a la BQF. Mónica Narváez por su apoyo y recomendaciones a lo largo del trabajo de grado.

De manera especial, agradecemos a nuestras familias por haber formado los cimientos necesarios para la construcción de nuestra vida personal y profesional, por proporcionarnos perspectiva y sentido para encontrar nuestro objetivo y nuestra fuerza.

A los grandes amigos que encontramos en el camino por apoyarnos en cada paso y por haber hecho de esta etapa una de las mejores en nuestra vida

A cada uno de nuestros formadores, personas inteligentes y amables que se han esforzado por ayudarnos a culminar nuestra etapa universitaria con éxito.

Finalmente, y de manera especial, queremos agradecer al Ing. Diego Montero, a las Blgas. Dalma Orellana y Paz Abril, así como a Santiago Ordoñez por todo su apoyo y recomendaciones brindadas a lo largo de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUCCIÓN:.....	1
CAPÍTULO 1: MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
1.1 Área de estudio.....	8
1.2 Procesamiento de las cápsulas.....	8
1.3 Procesamiento de semillas.....	8
1.3.1 Deshidratación y almacenamiento de semillas.....	8
1.4 Preparación de medios de cultivo para evaluar la germinación de semillas de <i>Cymbidium</i> sp.	9
1.5 Protocolo de siembra de semillas.....	10
1.5.1 Desinfección de semillas.....	10
1.5.2 Siembra de semillas.....	10
1.5.3 Registro de datos.....	11
1.6 Análisis estadístico.....	11
CAPÍTULO 2: RESULTADOS.....	13
2.1 Viabilidad de las semillas de <i>Cymbidium</i> sp.	13
2.2 Germinación simbiótica vs. germinación asimbiótica.....	13
2.3 Morfología de los estadios de germinación.....	16
2.4 Alturas alcanzadas entre distintos tratamientos.....	17
CAPÍTULO 3: DISCUSIONES.....	19
CONCLUSIONES:.....	24
BIBLIOGRAFÍA:.....	26
ANEXOS:.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Semillas de <i>Cymbidium</i> sp. con y sin embrión (izquierda y derecha, respectivamente), observadas al estéreo microscopio (aumento 4X).....	13
Figura 2. Probabilidad de no germinar para un periodo de 8 semanas calculadas con el método de Kaplan Meier para semillas de <i>Cymbidium</i> sp. después de ser sembradas en distintos tratamientos. Negro: Germinación asimbiótica en medio MS; rojo: Germinación asimbiótica en medio OMA; verde: Germinación simbiótica con <i>Sebacina vermifera</i> ; amarillo: Germinación simbiótica con <i>Ceratobasidium</i> sp.....	15
Figura 3. Porcentaje de los estadios morfológicos alcanzados por las semillas en cada tratamiento después de un periodo de 8 semanas: negro) Germinación asimbiótica en medio MS; rojo) Germinación asimbiótica en medio OMA; verde) Germinación simbiótica con <i>Sebacina vermifera</i> ; amarillo) Germinación simbiótica con <i>Ceratobasidium</i> sp.	17
Figura 4. Promedio de las alturas alcanzadas por las plántulas de <i>Cymbidium</i> sp. en los distintos tratamientos: negro) Germinación asimbiótica en medio MS; rojo) Germinación asimbiótica en medio OMA; verde) Germinación simbiótica con <i>Sebacina vermifera</i> ; amarillo) Germinación simbiótica con <i>Ceratobasidium</i> sp.	18
Figura 5. Afiliación taxonómica de hongos micorrícicos conocidos en cada clado principal de Orchidaceae y familias monocotiledóneas estrechamente relacionadas. El signo “más” (+) indica el linaje con algunas especies completamente micoheterótrofas. Ceratobasidiaceae y Cymbidieae están marcados en azul. Modificado de Yukawa et al., (2009).....	20
Figura 6. Afiliación taxonómica de hongos micorrícicos conocidos en cada clado principal de Orchidaceae y familias monocotiledóneas estrechamente relacionadas. El signo “más” (+) indica el linaje con algunas especies completamente micoheterótrofas. Sebacinaceae y Cymbidieae están marcados en rojo. Modificado de Yukawa et al., (2009).....	22
Figura 7. Agrupación filogenética de rasgos biogeográficos en el linaje de <i>Sebacina</i> : (a) región biogeográfica. Los números sobre las ramas indican valores P basados en remuestreo de arranque multiescala con 1000 repeticiones. Extraído de (Tedersoo et al., 2014).....	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de los tratamientos simbióticos y asimbióticos.....	9
Tabla 2. Resultado del análisis de supervivencia estimado con el método Kaplan - Meier.....	14
Tabla 3. Resultado de la comparación múltiple con el método de Bonferroni	16
Tabla 4. Comparación múltiple por pares mediante el método de Dunn.	18

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Semillas de <i>Cymbidium</i> sp. inmaduras y, maduras con presencia de radículas (izquierda y derecha, respectivamente), observadas al estéreo microscopio (aumento 4X).	35
Anexo 2. Semillas deshidratadas de <i>Cymbidium</i> sp. listas para ser almacenadas.....	35
Anexo 3. Hongos micorrícicos <i>Sebacina vermifera</i> y <i>Ceratobasidium</i> sp., (izquierda y derecha, respectivamente), utilizados en los tratamientos simbióticos.	35
Anexo 4. Número de semillas en cada estadio de germinación de cada uno de los diferentes tratamientos....	36
Anexo 5. Descripción morfológica de los diferentes estadios.....	37

RESUMEN

El mutualismo cumple un papel importante en el ensamblaje, persistencia y estabilidad de las orquídeas. La micromorfología de las semillas dificulta el proceso germinativo y de desarrollo, por lo cual, el mutualismo con hongos micorrícicos es fundamental para la familia Orchidaceae. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la germinación y desarrollo temprano in vitro de una especie de orquídea del género *Cymbidium* sp. en simbiosis con los hongos micorrícicos *Ceratobasidium* sp y *Sebacina vermifera*, así como, en germinación asimbiótica en medio MS modificado con agua de coco y en medio OMA. Los resultados evidenciaron que tanto los tratamientos asimbióticos como simbióticos tuvieron efectividad en la germinación de las semillas, sin embargo, en el desarrollo temprano de las plántulas, el tratamiento simbiótico mostró mejores resultados, particularmente con *Ceratobasidium* sp.

Palabras clave

Hongos micorrícicos; Orquídeas; *Cymbidium*; *Ceratobasidium*; *Sebacina vermifera*



Rodrigo Caroca Cáceres Ph.D
Director del trabajo de titulación



Antonio Crespo Ampudia Ph.D
Coordinador de escuela



Diego Andrés Beltrán Aguilar



Adriana Poleth Solórzano Chávez

Autores

ABSTRACT

Mutualism plays an important role in the assembly, persistence and stability of orchids. The micromorphology of the seeds hinders the germination and development process, therefore, mutualism with mycorrhizal fungi is essential for the Orchidaceae family. The objective of this study was to evaluate the in vitro germination and early development of an orchid species of the genus *Cymbidium* sp. in symbiosis with the mycorrhizal fungi *Ceratobasidium* sp and *Sebacina vermifera*, as well as, in asymbiotic germination in MS medium modified with coconut water and in OMA medium. The results showed that both asymbiotic and symbiotic treatments were effective in seed germination, however, in early seedling development, the symbiotic treatment showed better results, particularly with *Ceratobasidium* sp.

Keywords

Mycorrhizal fungi; Orchids; *Cymbidium*; *Ceratobasidium*; *Sebacina vermifera*

Rodrigo Caroca Cáceres Ph.D
Director del trabajo de titulación

Antonio Crespo Ampudia Ph.D
Coordinador de escuela

Diego Andrés Beltrán Aguilar

Adriana Poleth Solórzano Chávez

Autores



Beltrán Aguilar Diego Andrés
Solórzano Chávez Adriana Poeth
Trabajo de titulación
Caroca Cáceres Rodrigo Sebastián, PhD
2022

Estudio de la germinación y desarrollo temprano in vitro de una especie de orquídea del género *Cymbidium* cultivada entre diferentes tratamientos simbióticos y asimbióticos

INTRODUCCIÓN:

Las orquídeas representan uno de los grupos de plantas más vulnerables a la intensificación del cambio climático (Gale et al., 2018). El declive de sus poblaciones ha sido cada vez más evidente, han sufrido una disminución en su abundancia y distribución, muchas de ellas son raras y otras están en peligro de extinción. Esto se ha atribuido a la limitación de los procesos ecológicos fundamentales como la polinización exitosa y el flujo de genes (Gale et al., 2018; Jacquemyn, 2012).

La familia Orchidaceae se distribuye a lo largo de los continentes, en zonas tropicales y subtropicales de América, Asia y África con excepción de la Antártida (Hew & Yong, 2004). Es una de las familias más numerosas del grupo de las angiospermas, y se consideran una de las más diversas alrededor del mundo (Jacquemyn et al., 2012). En Ecuador, la familia de las orquídeas representa el 37.9% del total de las especies endémicas con aproximadamente 4000 especies (León et al., 2011; Endara y Jost, 2011).

El alto nivel de especiación, su elevada capacidad de dispersión, las mutaciones benéficas y la fuerte especificidad de los polinizadores son características que predisponen a las orquídeas de los Andes y otras regiones montañosas adaptarse a cualquier medio de estos hábitats (Dodson, 2003). Sin embargo, a pesar de su gran diversidad la conservación de estas especies ha sido un reto, debido a las exigencias que poseen (Wraith & Pickering, 2019).

Morfológicamente una planta de orquídea está dividida en semillas, hojas, raíces, flores y pseudobulbo. La morfología de las raíces depende del hábitat de la especie; según el tipo de hábitat para su crecimiento las orquídeas se clasifican en terrestres, epifitas y litofíticas (Meisel et al., 2014). Las orquídeas del hábitat terrestre están compuestas por pseudobulbos con un sistema radicular

subterráneo y suelen presentar periodos de latencia (Martija, 2003). Las epífitas se caracterizan por crecer en los troncos, ramas o copa de los árboles, poseen raíces aéreas de gran tamaño, las cuales suelen absorber la humedad del aire. Por otro lado, las de crecimiento litofítico comprenden a las orquídeas que se desarrollan en suelos rocosos y en condiciones climáticas extremas, comúnmente sus raíces se desarrollan bajo el musgo que cubre las rocas que colonizan (Martija, 2003).

Las semillas de las orquídeas pueden colectarse a partir de cápsulas verdes o maduras (Banda et al., 2017). El fruto de las orquídeas está compuesto por dos carpelos, los cuales contienen miles de semillas diminutas, comúnmente conocidas como semillas polvo. Las semillas varían en formas y tamaños, pudiendo ser filiformes, fusiformes y elipsoidales. Suelen presentar dimensiones entre 1-2 mm de largo y 0,5-1 mm de ancho; un fruto puede presentar hasta 4.000.000 semillas por cápsula dependiendo del tamaño y peso, así como del género y especie de la orquídea (Banda et al., 2017). Estructuralmente se caracterizan por no poseer endospermo, en su lugar hay un espacio de aire que rodea el embrión globular dentro de una testa membranosa (Zhang, 2015). Fisiológicamente, el endospermo favorece la germinación de las semillas por ser la fuente principal de nutrientes para el embrión y sus primeras fases de desarrollo.

Dada la micromorfología de las semillas, las orquídeas han desarrollado estrategias de vida muy características. Están asociadas a diversos taxones fúngicos, incluidos diversos hongos endofíticos no micorrícicos y hongos micorrícicos que son necesarios al menos durante una etapa de la vida. Existe una gran diversidad de asociaciones micorrícicas, sin embargo, la capacidad simbiótica fúngica depende de la naturaleza del aislado y de la especie de orquídea con la que coexiste (Yeh et al., 2019).

La mayoría de orquídeas fotosintéticas requieren de fuentes de carbono, nitrógeno y fósforo provistos por los hongos, utilizando un modo nutricional conocido como micoheterotrofia (Bidartondo & Read, 2008; Pujasatria et al., 2020). A lo largo de su ciclo de vida, algunas especies de orquídeas alcanzan un nivel de micoheterotrofia parcial o total, lo que sugiere que la simbiosis con hongos micorrícicos permite que las orquídeas obtengan beneficios a largo plazo (Pujasatria et al., 2020).

La micorriza es la interacción simbiótica que se da entre las raíces de las plantas y los hongos. Comprende tres tipos principales: micorrizas arbusculares, micorrizas de orquídeas y ectomicorrizas. Las ectomicorrizas son asociaciones adheridas a células epidérmicas de las raíces laterales emergentes, las hifas forman un tejido pseudoparenquimatoso conocido como manto

envolvente. La red de hifas o red de Hartig penetra en las células de la raíz epidérmica (Pimprikar & Gutjahr, 2018). Las micorrizas arbusculares son asociaciones entre la mayoría de plantas terrestres y hongos glomeromycota. En la micorriza arbuscular, las hifas de glomeromicetos crecen en las células de la raíz de la planta y luego penetran en las células corticales, formando arbuscúlos en forma de árbol (Pimprikar & Gutjahr, 2018; Martin et al., 2016). En las micorrizas de orquídeas las hifas penetran por las paredes del parénquima de los protocormos y las raíces de las orquídeas para formar los pelotones (Martin et al., 2016).

El mutualismo con los hongos cumple un papel importante en el ensamblaje, la persistencia y la estabilidad de las comunidades de orquídeas (Fortuna et al., 2010). El tamaño de las semillas y su carencia de reservas, predisponen a que la mayoría de las orquídeas presenten una fuerte dependencia por las asociaciones de micorrizas para germinar, debido a los beneficios que ofrecen en las distintas etapas de su crecimiento (Reiter et al., 2018; Zhang, 2015; Zettler et al., 2013).

En la naturaleza, las semillas de las orquídeas solamente serán capaces de germinar en presencia de hongos micorrícicos. La disminución de condiciones favorables en el suelo y la reducción de hongos en el hábitat pueden ser factores importantes que limiten la regeneración de las orquídeas y por tanto, afectar negativamente la conservación in situ de esta familia (Diantina et al., 2020). De ahí, la relevancia de desarrollar protocolos de conservación ex situ para establecer nuevas estrategias de conservación, reintroducción y reproducción de plantas en su hábitat natural.

La germinación simbiótica y asimbiótica de semillas tiene mérito práctico para la horticultura y la recuperación de especies, y se considera una herramienta de conservación eficaz para las orquídeas. En la aplicación de estas técnicas, es fundamental determinar el medio de germinación adecuado, ya que los requisitos nutricionales para la germinación y crecimiento de las semillas, varían en función de la especie, las características de la historia de vida y los hábitats. Se ha estudiado que las diferencias geográficas y los rasgos de vida son factores críticos que afectan la germinación. Por ejemplo, se ha evidenciado que las orquídeas epífitas se caracterizan por mantener una amplia compatibilidad con micorrizas generales y requerimientos simples, al contrario de las especies de hábitat terrestre que presentan una dependencia a cepas fúngicas particulares (Alghamdi, 2019; Diantina et al., 2020).

En investigaciones con fines de conservación, las pruebas de viabilidad determinan el éxito de los esfuerzos de conservación ex situ. Una prueba de viabilidad es definida como una técnica que determina si las semillas individuales son viables y utilizables después de su recolección y

almacenamiento, permite estimar la proporción de semillas vivas en una población. Para mantener la viabilidad de las semillas es importante recolectar semillas maduras, ya que su viabilidad es más alta durante su madurez fisiológica, la cual va disminuyendo gradualmente (Copeland & McDonald, 2001; Pradhan et al., 2022).

En el transcurso de la coexistencia con hongos micorrícicos, las semillas germinan y desarrollan unas estructuras de plántulas llamadas protocormos. El protocormo está diseñado para establecer una asociación simbiótica con un hongo compatible, permite la formación de un meristemo apical de brotes para el crecimiento de nuevas plántulas (Yeung, 2017).

En la germinación, las semillas atraviesan por distintas etapas morfológicas de crecimiento. Los estadios de germinación y desarrollo de protocormos son herramientas útiles que describen de manera clara los cambios en las semillas durante su germinación y formación. Se han descrito cinco estadios diferenciados de la siguiente manera: estadio 0, sin germinación; 1, producción de rizoides (germinación); 2, ruptura del tegumento por el embrión agrandado; 3, aparición del promeristema o brote; 4, aparición de la primera hoja desde el brote; y 5, elongación de la hoja (Marx et al., 2020; Yeung, 2017; Zettler & Hofer, 1998; Zhang et al., 2020), los cuales se detallan en el anexo 5.

Biológicamente, el lugar de entrada de las hifas puede influir en el establecimiento de la asociación micorrícica. Las hifas suelen infectar en embriones inhibidos o protocormos en desarrollo por su extremo basal a través del suspensor o células cercanas a este. Si la infección es exitosa, las hifas fúngicas se enrollan y forman pelotones en las células corticales. Posteriormente, los pelotones se deterioran y colapsan para liberar nutrientes en las células de las orquídeas. La capacidad de las orquídeas en la formación y degradación de los pelotones desempeña un papel fundamental en el intercambio y absorción de nutrientes para lograr una formación exitosa de plántulas (Pujasatria et al., 2020; Yeh et al., 2019; Yeung, 2017; Zhang et al., 2020).

Harrison (1977) sugirió que el grado de dependencia de las orquídeas hacia los hongos varía, puesto que esta interacción se produce por la incapacidad de las orquídeas para metabolizar las reservas de nutrientes y no por un suministro insuficiente de estos. Se ha evidenciado que la transferencia de nutrientes bidireccional ocurre en las orquídeas adultas, mas no en las primeras etapas de desarrollo (Yeh et al., 2019). Durante la simbiosis, los hongos micorrícicos reciben carbono como recompensa, mientras que las semillas obtienen agua, nutrientes, minerales, azúcar, tiamina y ácido fólico de los micobiontes fúngicos para promover sus germinación y desarrollo (Hoang et al., 2016). El

intercambio de nutrientes minerales se da luego de que las orquídeas desarrollen hojas verdes para la fotosíntesis (Fochi et al., 2017; Pujasatria et al., 2020).

La simbiosis entre la orquídea y el hongo micorrícico, proporciona a las plantas asociadas una mejor adquisición de nutrientes, resistencia a patógenos, tolerancia a metales pesados, ayuda en el aumento de la retención de humedad e influye en la estructura del suelo y en la multifuncionalidad del ecosistema (Tarkka et al., 2018). Adicionalmente, el proceso de germinación de sus semillas también ha sido esencial para mantener su diversidad genética y la producción de híbridos (Durán et al., 2019; Nontachaiyapoom et al., 2010; Hoang et al., 2016).

El estudio de la germinación simbiótica de las orquídeas ha tomado auge, debido a los beneficios que ofrece en ámbitos de conservación y comerciales, especialmente para especies cuyas poblaciones silvestres están constantemente amenazadas. Este es el caso del género *Cymbidium*, cuyo hábitat ha sido dañado y su área de distribución se ha reducido drásticamente por la explotación excesiva de los humanos (Yang et al., 2021). Para la preservación de *Cymbidium* sp., la germinación de semillas con hongos micorrícicos se convierte en un método de bajo costo y por su enfoque, en una alternativa beneficiosa para su adaptación al medio.

El nombre *Cymbidium* se deriva de la palabra griega *kymbes*, que significa "en forma de barco", lo cual hace referencia al labio de la flor (Rogers, 1967; Soon, 2016). El género *Cymbidium* se distribuye en el Este de Asia desde la India hasta China y Japón. Comprende aproximadamente 64 especies, varias de ellas comercialmente populares por sus principios medicinales y ornamentales. La planta se caracteriza por sus flores compuestas que exhiben una gama de colores muy amplia, por ello se utilizan como flores cortadas y plantas en macetas en la floricultura de todo el mundo. Se ha evidenciado que el género *Cymbidium* tiene un alto contenido fitoquímico. Ha sido utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades antiinflamatoria, anticonceptiva y antioxidante (Axiotis et al., 2022; Noor & Taratima, 2021; Pant, 2013).

Las orquídeas de este género comprenden epífitas, terrestres y litófitas y son poco comunes los micótrofos sin hojas. Tienen rizomas cortos y pseudobulbos abarcados de distintas hojas, ya sean duplicadas, convolutas, coriáceas blandas o carnosas y articuladas (Stern, 2014; Soon, 2016). *Cymbidium* sp. pertenece a la clase Liliopsida, sus semillas tienen forma fusiforme cilíndrica con puntas en los extremos (Arditti & Ghani, 2000), presentan una coloración transparente con embriones color café cuando están inmaduros y verdes cuando están maduros (Anexo 1). Son

extremadamente pequeñas, raramente superan los 2 mm de largo, carecen de endospermo (Tawaro et al., 2008) y están recubiertas por una testa formada por células muertas (Menchaca García, 2011).

Se conoce que, en la asociación entre la orquídea y la micorriza, los hongos que intervienen en esta relación pertenecen al género *Rhizoctonia* (Mosquera et al., 2010). *Rhizoctonia* es un grupo heterogéneo de hongos filamentosos que no producen esporas sexuales y tienden a compartir caracteres morfológicos generales como la formación de micelio y esclerocios de coloración parda. Muchos de estos organismos son patógenos de importancia agrícola, forestal y acuática, a la vez también existen hongos que pueden establecer relaciones simbióticas importantes con especies de musgos y orquídeas (González, 2008). El género-forma *Rhizoctonia* durante su fase asexual presenta un micelio incoloro estéril, que oscurece a medida que va madurando (Mosquera et al., 2010). En cuanto a su fase sexual, los teleomorfos más estudiados por su importancia fitopatológica son: *Ceratobasidium*, *Tulasnella*, *Sebacina* y *Thanatephorus*, los cuales se diferencian por presentar estructuras reproductivas conformadas por basidiocarpos (Mosquera et al., 2010; González, 2008).

Los Sebacinales son un orden de hongos pertenecientes a la clase Agaricomycetes, los cuales incluyen especies de saprófitos, endófitos de raíz y especies que tienen asociaciones micorrícicas (Weiss et al., 2004). Se conoce que esta familia de hongos forma ectomicorrizas con diversas especies de orquídeas, así mismo incluye asociaciones tripartitas con orquídeas mixotróficas y clorofílicas (Suárez & Kottke, 2016; Weiss et al., 2004).

Ceratobasidiales ha sido ubicado en el orden Cantharellales, un linaje basal perteneciente a Agaricomycotina, que incluye saprófitos o biotrofos mutualistas y que posee un amplio rango de nichos ecológicos (Dearnaley et al., 2012; Suárez & Kottke, 2016). *Ceratobasidium* y *Thanatephorus*, junto con sus anamorfos de *Rhizoctonia*, forman un grupo de hongos estrechamente relacionados en la familia Ceratobasidiaceae (González et al., 2016). La familia Ceratobasidiaceae se caracteriza por poseer un micelio binucleado, tienen una fructificación delgada y articulada que consiste principalmente en hifas que forman redes superficiales en un ángulo amplio. Posee esterigmas subcilíndricos ocasionalmente bifurcados, tienen basidiosporas lisas y repetitivas (Talbot, 1965; Sneh et al., 1996).

Se ha identificado a *Ceratobasidium*, *Tulasnella* y *Sebacina* como los principales grupos que forman micorrizas con las orquídeas autótrofas epifitas y terrestres (Hoang et al., 2016; Kottke et al. 2010, 2013; Otero et al. 2002; Otero et al. 2007; Suárez et al. 2006, 2008, 2016). Particularmente, en especies de *Cymbidium* se ha encontrado que los principales hongos micorrízicos asociados a estas

pertenecen comúnmente a los grupos Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae, Sebacinales, Russulaceae, Thelephoraceae, y Clavulinaceae (Hossain et al., 2013; Ogura et al., 2012; Sathiyadash et al., 2020; Wu et al., 2010).

En estudios previos se han aislados hongos micorrícicos de raíces de orquídeas nativas *Trichoceros anteniferum* y *Epidendrum* sp., recolectadas en distintos niveles altitudinales en los Andes del Sur del Ecuador. Los hongos aislados, *Ceratobasidium* sp. y *Sebacina vermifera*, han demostrado su capacidad para germinar semillas de orquídeas nativas de los Andes. Con estos antecedentes, esta investigación tuvo como objetivo determinar si estos hongos son capaces de promover la germinación y desarrollo temprano in vitro de una orquídea del género *Cymbidium*, nativa del continente asiático. Los resultados aportan información relevante para comprender la especificidad de las relaciones hongo micorrícico-orquídea.