

C O N T E N I D O

	PAG.
INDICE DE FIGURAS	g
INDICE DE GRAFICAS	i
INDICE DE CUADROS	k
INDICE DE TABLAS	l
RESUMEN	m
SUMMARY	o
TABLA DE ABREVIATURAS	q
 I. INTRODUCCION	 1
1.1. Objetivos4
1.2. Hipótesis5
 II. REVISION DE LITERATURA
2.1. Las orquídeas. Generalidades6
2.2. Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie <i>Myrmecophila tibicinis</i> (Batem.) Rolfe ó <i>Schomburgkia tibicinis</i> Lindl . .	10
2.3. Proceso de germinación de semillas de orquídea .	.14
2.4. Generalidades del cultivo de tejidos <i>in vitro</i> .	.16
2.5. Cultivo de tejidos o micropropagación <i>in vitro</i> de orquídeas18
2.5.1. Etapas del método de cultivo de tejidos en orquídeas20
2.5.1.1. Establecimiento del cultivo en condiciones asépticas20
2.5.1.2. Multiplicación de propágulos . .	.21

2.5.1.3. Enraizamiento y preparación del propágulo para su trasplante al suelo	22
2.5.2. Requerimientos de cada etapa:	
2.5.2.1. El explante	23
2.6.2.2. El medio de cultivo	28
2.6.2.3. Medio ambiente del cultivo . . .	35
 III. MATERIALES Y METODOS	
3.1. Germinación	37
3.2. Cultivo y regeneración de callos	38
3.3. Inducción de brotes adventicios (Micropropagación)	40
3.3.1. Efecto morfogénico de la concentración de ANA en combinación con AC al 19% en raíces, hojas y yemas apicales	41
3.3.2. Efecto morfogénico de la concentración de ANA y BAP en raíces, hojas y yemas apicales	44
3.3.3. Efecto morfogénico de la concentración de AC y 2,4-D en raíces, hojas y yemas apicales	46
3.3.4. Efecto morfogénico de la combinación ANA-BAP, del AC y del agar en la yema apical fragmentada	49
3.4. Enraizamiento	50
 IV. RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1. Germinación	51
4.2. Cultivo y regeneración de callos	53
4.3. Inducción de brotes adventicios (Micropropagación)	58
4.3.1. Efecto morfogénico de la concentración de ANA en combinación con agua de coco al 19% v/v en raíces, hojas y yemas apicales	58

4.3.2. Efecto morfogénico de la concentración de ANA y BAP en raíces, hojas y yemas apicales	73
4.3.3. Efecto morfogénico de la concentración de agua de coco y del 2,4-D, en raíces, hojas y yemas apicales	87
4.3.4. Efecto morfogénico de la combinación ANA-BAP, del agua de coco (AC) y del agar en la yema apical fragmentada	101
4.4. Enraizamiento	107
V. CONCLUSIONES	109
VI. BIBLIOGRAFIA	111
ANEXOS	119

RESUMEN

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal del C.I.G.A.-I.T.A. Nº 2, Conkal, Yucatán, México. Como objetivo se estudió una metodología adecuada para la germinación y micropropagación de la especie *Myrmecophila tibicinis* (Batem.) Rolfe (Orchidaceae), como una alternativa para su preservación y propagación clonal a nivel comercial.

El objetivo se abordó a través de experiencias en germinación, cultivo y regeneración de callos, micropropagación y enraizamiento.

Las semillas de *Myrmecophila tibicinis* (Batem.) Rolfe, fueron germinadas en medio basal sólido de Vacin y Went (VW) modificado. En la etapa de protocormo se transfirieron sobre VW modificado, VW modificado suplementado con 19% v/v de agua de coco (AC) y 0.005 mgL^{-1} de ácido naftalenacético (ANA), y en un medio de Murashige y Skoog (MS) conteniendo 0.1 mgL^{-1} de ANA y 1.0 mgL^{-1} de Bencil aminopurina (BAP), obteniendo plántulas completas sobre VW, mientras que en los otros medios se lograron 50% de callos y plántulas completas, y 100% de callos, respectivamente. Respecto al cultivo y regeneración de callos previamente obtenidos, fueron a su vez transferidos a medios VW, VW con AC (19%) y MS basal, desarrollando estructuras protocórmicas y plántulas completas. Se observó una mejor respuesta en MS (90%), respecto a VW (25%) y VW con AC (50%).

En lo que respecta a micropropagación, de las plántulas obtenidas en el medio VW con AC y ANA, se tomaron por separado raíces, hojas y yemas apicales, con el fin de utilizarlas como fuente de explante. La respuesta de las raíces en esta etapa fue la formación de callos en el ápice ($P<0.05$ y <0.01) y la subsecuente diferenciación a masas de raíces sobre el tratamiento VW con AC y ANA (4 y 8 mgL^{-1}).

Una respuesta similar fue observada en un tratamiento con AC al 50% y 1.0 mgL^{-1} de 2,4-D. Las hojas sembradas en medio VW modificado y enriquecido con 8 mgL^{-1} de BAP, desarrollaron calloidades en la base ($P<0.05$), formando cuerpos protocórmicos y posteriormente brotes. La obtención de brotes vía organogénesis directa fue mínima. Por otra parte, se observó una respuesta similar en hojas sembradas en el medio con 19% de AC y 4 mgL^{-1} de ANA, aunque el callo formado en la base de las hojas se diferenció a raíces. La regeneración de hojas y raíces a partir de la yema apical se presentó en la mayoría de los tratamientos probados, lo cual demuestra la capacidad regenerativa de esta parte de la planta, pese a ser fragmentada. Es por ello que de cada fragmento se puede obtener más de un brote, pudiendo ser útil como fuente de explante para la propagación masiva de plantas.

La micropropagación de orquídeas mediante la formación de brotes con raíces a partir de la yema apical fragmentada, es posible en medio basal VW modificado, sólido y líquido ($P<0.05$ y <0.01). La respuesta también resulta interesante en medio basal VW modificado líquido y sólido con 8 mgL^{-1} de ANA y 8 mgL^{-1} de BAP, con la desventaja de que se inhibe la producción de raíces.

La adición del AC tiende a producir callos ($P<0.05$ y <0.01).

El desarrollo de raíces en los brotes obtenidos a partir de la yema apical, puede ser inducido con la adición de 75 gL^{-1} de pulpa de plátano semimaduro en el medio basal VW modificado.