

# CONTENIDO

	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. Objetivos . . . . .	4
1.2. Hipótesis . . . . .	5
II. REVISION DE LITERATURA . . . . .	
2.1. Las orquídeas. Generalidades . . . . .	6
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 orquídeas . . . . .	18
2.5.1. Etapas del método de cultivo de tejidos en orquídeas . . . . .	20
2.5.1.1. Establecimiento del cultivo en condiciones asépticas . . . . .	20
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
<b>III. MATERIALES Y METODOS . . . . .</b>	
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
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION . . . . .</b>	
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. N° 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  $0.005 \text{ mgL}^{-1}$  de ácido naftalenacético (ANA), y en un medio de Murashige y Skoog (MS) conteniendo  $0.1 \text{ mgL}^{-1}$  de ANA y  $1.0 \text{ mgL}^{-1}$  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  $8 \text{ mgL}^{-1}$ ).

Una respuesta similar fue observada en un tratamiento con AC al 50% y  $1.0 \text{ mgL}^{-1}$  de 2,4-D. Las hojas sembradas en medio VW modificado y enriquecido con  $8 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP, desarrollaron callosidades 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  $4 \text{ mgL}^{-1}$  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  $8 \text{ mgL}^{-1}$  de ANA y  $8 \text{ mgL}^{-1}$  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  $75 \text{ gL}^{-1}$  de pulpa de plátano semimaduro en el medio basal VW modificado.