

## **INDICE GENERAL**

	<b>Página</b>
Dedicatoria .....	i
Agradecimientos.....	ii
Indice General .....	iii
Indice de figuras.....	iv
Indice de tablas .....	v
Indice de abreviaciones .....	vi
Resumen .....	vii
 <b>CAPITULO 1</b> .....	 1
 <b>1.1 INTRODUCCION</b> .....	 1
 <b>1.2 OBJETIVO GENERAL</b> .....	 3
 <b>1.3 OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	 3
 <b>CAPITULO 2</b> .....	 6
 <b>¿ES POSIBLE INDUCIR DIFERENTES VIAS MORFOGENICAS DE <i>C. lindenii</i> IN VITRO?</b>	
 <b>2.1 INTRODUCCION</b> .....	 6
 <b>2.2 MATERIALES Y METODO</b> .....	 11
<b>2.2.1 Obtención del material biológico</b> .....	11
<b>2.2.2 Germinacion de semilla in vitro</b> .....	11
<b>2.2.3 Métodos de micropagación</b> .....	14
<b>2.2.4 Medios de cultivo y fitoreguladores</b> .....	14
<b>2.2.5 Condiciones de cultivo</b> .....	17
<b>2.2.6 Evaluación de parámetros</b> .....	18

	Página
<b>2.3 RESULTADOS Y DISCUSION</b>	
2.3.1 Germinación de semillas en condiciones <i>in vitro</i> .....	19
2.3.2 Efecto de los diferentes medios de cultivo y los fitorreguladores en la respuesta morfogénica.....	19
2.3.3 Evaluación del crecimiento .....	23
 <b>CAPITULO 3 .....</b>	
<b>¿LAS PLANTAS DE <i>C. lindenii</i> SON CAPACES DE FOTOSINTETIZAR EN CONDICIONES IN VITRO?</b>	<b>28</b>
 3.1 INTRODUCCION .....	28
FACTORES MEDIOAMBIENTALES QUE PUEDEN MODIFICAR LA TASA FOTOSINTETICA DE LAS PLANTAS CULTIVADAS <i>IN VITRO</i>	
3.1.1 Alto contenido de sacarosa en el medio de cultivo .....	28
3.1.2 Ambiente confinado en los contenedores <i>in vitro</i> .....	30
3.1.3 Baja intensidad luminica .....	31
 3.2 MATERIALES Y METODO .....	34
3.2.1 Obtención de plantas control de <i>C. lindenii</i> .....	34
3.2.2 Evaluación de la tasa fotosintética durante un ciclo de 24 hora de plantas silvestres de <i>C. lindenii</i> crecidas <i>in situ</i> por medio del IRGA.....	34

3.2.3 Evaluacion de la tasa fotosintética por medio del IRGA durante un ciclo de 24 horas, de las plantas micropagadas de <i>C.lindenii</i> obtenidas por semilla germinada in vitro, organogénesis directa, organogénesis indirecta.....	35
<b>3.3 RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>36</b>
3.3.1 Tasa fotosintética de plantas silvestres de <i>C. lindenii</i> .....	36
3.3.2 Tasa fotosintética de plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	37
<b>CAPITULO 4 .....</b>	<b>42</b>
<b>¿LAS BAJAS TASAS FOTOSINTETICAS DE LAS PLANTAS MICROPROPAGADAS ESTAN ASOCIADAS AL CONTENIDO DE CLOROFILAS Y/O A LA ACTIVIDAD DE ENZIMAS CARBOXILANTES ?</b>	
<b>4.1 INTRODUCCION.....</b>	<b>42</b>
4.1.1 Metabolismo CAM de plantas silvestres cultivadas en condiciones <i>in situ</i> .....	42
4.1.2 Factores medioambientales en condiciones <i>in vitro</i> que afectan el metabolismo CAM .....	46
<b>4.2 MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>48</b>
4.2.1 Determinación de la actividad de las enzimas carboxilantes (Rubisco y PEPC) en plantas silvestres y plantas micropagadas .....	48
4.2.2 Determinación del contenido de clorofilas de plantas silvestres y micropagadas de <i>C. lindenii</i> durante un ciclo de 24 horas.....	49

Página

4.3 RESULTADOS Y DISCUSION .....	54
4.3.1 Actividad de Rubisco y PEPC en plantas silvestres y micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	54
4.3.2 Actividad de PEPC en plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	56
4.3.3 Actividad de Rubisco en plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	58
4.3.4 Contenido de clorofillas en plantas silvestres y plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	59
<b>CAPITULO 5 .....</b>	<b>63</b>
<b>¿LA DISMINUCION DE LA TASA FOTOSINTETICA ESTA ASOCIADA AL CONTROL TRANSPIRACIONAL DE LAS PLANTAS MICROPROPAGADAS?</b>	
5.1 INTRODUCCION .....	63
5.2 MATERIALES Y METODO .....	65
5.2.1 Determinación de la apertura estomática, la longitud y la densidad estomática de plantas sivestres y plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	65
5.2.2 Evaluación de las curvas de declinación transpiracional de plantas silvestres y plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	65

Página

5.3 RESULTADOS Y DISCUSION .....	66
5.3.1 Características de estomas de plantas silvestres y plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	66
5.3.2 Curvas de declinación transpiracional de plantas silvestres y plantas micropagadas de <i>C. lindenii</i> .....	66
<b>CAPITULO 6 .....</b>	<b>70</b>
6.1 DISCUSION GENERAL.....	70
6.2 BIBLIOGRAFIA.....	75

## RESUMEN

El cultivo de tejidos vegetales ha tenido grandes logros en la propagación y comercialización en la horticultura, agricultura y forestales. Sin embargo el uso de ésta tecnología aun esta muy restringida debido a los altos costos de producción. Los costos de multiplicación, enraizamiento y aclimatación de las plantas micropagadas representan aproximadamente el 60% de los costos totales de producción en la micropagación convencional. Uno de los principales problemas en el proceso de aclimatación es la baja sobrevivencia de las plantas micropagadas cuando son transferidas a las condiciones *ex vitro*. Por lo que es de gran interés el realizar estudios que permitan entender a que nivel es el daño fisiológico producido en las plantas micropagadas para poder hacer mas eficientes los procesos biotecnológicos. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue conocer el efecto de las diferentes vías morfogénicas en la fisiología de las plantas micropagadas de *Cattleyopsis lindenii* (Orchidaceae). Se inducieron tres vías morfogénicas *in vitro* (plantas derivadas de semilla germinada *in vitro*, plantas regeneradas por organogénesis indirecta y plantas regeneradas por organogénesis directa) para evaluar si existen diferencias a nivel de: las tasas fotosintéticas, de la actividad de las enzimas carboxilantes (Rubisco y PEPC), del contenido de clorofila y de la capacidad del control de pérdida de agua por transpiración. Se evaluaron plantas silvestres de *C. lindenii* crecidas en condiciones *in situ* y se observó que el metabolismo del carbono que presenta esta especie es de tipo CAM, ya que la máxima tasa de fijación de CO<sub>2</sub> fue durante la noche (período de obscuridad). En las tres vías morfogénicas estudiadas *in vitro* las tasas de fijación de CO<sub>2</sub> son negativas y/o permanecen en el punto de compensación, por lo que estas plantas no muestran fotosíntesis en las condiciones en las cuales son cultivadas. La actividad de las enzimas carboxilantes Rubisco y PEPC se encuentran disminuidas drásticamente en los tres sistemas *in vitro*. Las plantas regeneradas por organogénesis

directa e indirecta no fueron capaces de mantener el metabolismo CAM en condiciones *in vitro*, por lo que se sugiere que estas plantas muestran un metabolismo de tipo C<sub>3</sub> facultativas. Sin embargo, las plantas derivadas de semilla germinada *in vitro* se observó que sí conservaron el metabolismo CAM.

La relación de clorofila a/b disminuyó un 20% en las plantas derivadas de semilla germinada *in vitro* al compararlas con los valores de las plantas silvestres. Las plantas regeneradas por organogénesis directa e indirecta la relación de clorofila a/b disminuyó hasta un 40%. La densidad estomática se duplicó en todos los sistemas estudiados *in vitro* y la longitud de los estomas no se modificó.

Las curvas de pérdida de agua por transpiración muestran que las plantas provenientes de semilla germinada *in vitro* presentan una mayor capacidad del control transpiracional si se comparan con las plantas regeneradas por organogénesis directa e indirecta.

Los datos obtenidos muestran que las diferentes vías morfogénicas sí afecta la fisiologías de las plantas micropropagadas.