



PROPAGACIÓN IN VITRO VÍA ORGANOGENESIS INDIRECTA DE *Laelia speciosa* L. (ORCHIDACEAE) ESPECIE EN PELIGRO DE EXTINCIÓN

Barrera Vargas Diana G; * Chávez Ávila Víctor M; ** Sandoval Zapotitla Esthela.

Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. C.P. 04510, México, D.F. México.

Fax: 5622-90-46. E-mail: dianavb_9@hotmail.com*

Palabras clave : *Laelia speciosa*, organogénesis, histología.

Introducción. El cultivo de tejidos vegetales se ha convertido una estrategia importante en la propagación de especies amenazadas, permitiendo obtener altas tasas de multiplicación a partir de un explante inicial, debido a la totipotencia inherente en las células vegetales (1). Estudios histológicos han apoyado al cultivo *in vitro* en el conocimiento de los procesos involucrados en la morfogénesis, desde la caracterización anatómica del explante inicial así como de los órganos o embriones somáticos de nueva formación, logrando determinar la vía de regeneración y los patrones de desarrollo. *L. speciosa* (Orchidaceae), es endémica de México y debido a su sobreexplotación se encuentra en peligro de extinción.

Por ello el objetivo del trabajo es realizar la regeneración de *L. speciosa* a partir del cultivo *in vitro* y determinar histológicamente las estructuras desarrolladas.

Metodología. La germinación de manera asimbiótica se inicio de semillas de *L. speciosa* cultivadas en medio basal MS (2), y suplementado con 500 mg/l de carbón activado, 500 mg/l de extracto de plátano, 1 g/l de peptona, 2 mg/l de BAP y 1 mg/l. de ANA. Se tomaron muestras de callo en diferentes tiempos, se fijaron en Navashin, se deshidrataron a través de una serie de alcoholes a partir de Alcohol Terbutílico (ATB) y alcohol etílico, se infiltraron e incluyen en parafina histológica (58-60°C), se realizaron cortes de 20 µm de grosor en un micrótopo de rotación, se tiñeron con safranina-verde rápido y se montaron con resina sintética como preparaciones permanentes. Las preparaciones fueron depositadas en la colección de preparaciones histológicas del laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico, I.B.-UNAM.

Resultados y discusión. La germinación se presentó cinco semanas después de la siembra. Junto con el desarrollo de las plántulas se dio la formación de callo verde y friable (fig 1A). Este evento ha estado relacionado significativamente con el empleo de fitohormonas como las auxinas (ANA) y citocininas (BAP) en otras orquídeas (3). Los callos desarrollaron brotes adventicios y posteriormente plantas completas en un período de 4 meses. Mediante el análisis histológico se observó la organización del callo con células grandes asimétricas vacuoladas, las células que lo conforman muestran una proliferación continua y acelerada, con alta proporción de contenidos celulares, refringentes y depositados en vesículas. En etapas intermedia del cultivo se identificaron un gran número de centros meristemáticos en la periferia del callo. Es a partir de estos centros, y en etapas

finales es donde inicia la formación de meristemas apicales de brotes los cuales presentan un típico arreglo de túnica-cuerpo, también es visible la definición de la región meristemática. Al término de esta etapa se desarrollan los primordios foliares y el tejido vascular para conformar los brotes adventicios. Estos brotes mostraron la formación de raíz completa a los 4 meses y a las 6 meses fueron llevadas a condiciones de invernadero con 90% de sobrevivencia.

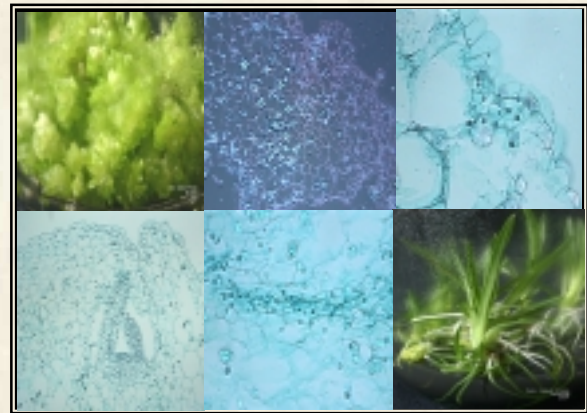


Fig. 1. Regeneración vía organogénesis indirecta de *Laelia speciosa*. a) cultivo *in vitro* de callo, b) morfología de callo, c) centro meristemático, d) meristemo apical de brote y primordios foliares, e) procambium y f) Plantas completas de *L. speciosa*

Conclusiones. Se logró la regeneración *in vitro* de *L. speciosa* a partir de cultivos de callo por medio de la organogénesis indirecta. El análisis histológicos constató los patrones de desarrollo y determinación hacia una vía de organogénesis indirecta.

Agradecimiento. Al laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Jardín Botánico del IBUNAM, por el apoyo brindado en el desarrollo del presente proyecto.

Bibliografía.

1. - Dodds, J. H. and Roberts, L. W. (1982). *Experiments in plant tissue culture*. New York (USA): Cambridge University Press.
- 2.- Murashige, T and F, Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, 15:472- 497.
- 3.- Roy, J. and Banerjee N. (2003). Induction of callus and plant regeneration from shoot-tip explants of *Dendrobium fimbriatum* Lindl. var. *oculatum* Hk. f. *Scientia Horticulturae*. 97 (2003) 333-340.