



CULTIVO Y MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE *VANILLA PLANIFOLIA* ANDREWS.

Claudia Lázaro, Ma. Teresa González-Arno, Sandra Hernández, Miriam Pastelín, Yolanda Martínez y Marina Guevara.

Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba. Laboratorio de Biotecnología y Criobiología Vegetal. Prolongación Ote. 6, No. 1009, CP 94340, Orizaba; Ver. Fax: 272-7240120, E-mail: mtgarnao1@hotmail.com

Palabras clave: Vainilla, propagación *in vitro*, explante.

Introducción. México es el centro de origen de la vainilla y el país con mayor diversidad genética en este cultivo amenazado y en peligro de extinción (1). El establecimiento de un método de conservación biotecnológico puede constituir una alternativa eficiente para mantener el genofondo primario de esta planta, pero se requiere en primera instancia que se establezcan y optimicen técnicas de cultivo de tejidos para disponer de un banco abundante de material vegetal en un entorno aséptico y controlado (2).

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el cultivo y la micropropagación de germoplasma a través de la manipulación *in vitro* de tejidos meristemáticos de *Vanilla planifolia*, para obtener callos embriogénicos y para generar vitroplantas a partir de brotes múltiples.

Metodología.

El material vegetal utilizado para la inducción de callo embriogénico provino de plantas *in vivo* e *in vitro* de *Vanilla planifolia* A. Se emplearon segmentos de raíces que contuvieran el meristemo radical, así como también segmentos de hojas y tallos aislados del material obtenido *in vitro*. Se utilizó un medio Murashige-Skoog modificado, combinando diferentes concentraciones de 2,4-D y/o Kinetina. Las variables evaluadas fueron: Tiempo de respuesta (TR) y eficiencia del proceso (%), acorde al número de explantes que produjeron callo.

Para la obtención de brotes múltiples en la producción masiva de plantas, se utilizaron esquejes fragmentados *in vitro* (EIF) de dos dimensiones: 5 y 10 mm, obtenidos por cortes del protocormo *in vitro* luego del cultivo aséptico durante 4-8 meses. Como control de propagación se realizó el cultivo de microestacas constituidas por fragmentos de esquejes con yemas (segmento nodal), aislados de las mismas vitroplantas desarrolladas en el mismo tiempo de cultivo *in vitro*. Las variables evaluadas al cabo de las 6 semanas fueron: Número de EIF que formaron brotes, número de brotes por EIF y eficiencia del proceso (%).

Resultados y discusión.

La inducción de callo a partir de explantes de raíces provenientes de plantas *in vivo* tuvo una eficiencia del 70% y la respuesta se manifestó a los 40 días de inoculación. El medio óptimo para la inducción de callo fue el MS con una concentración de 0.5 mgL⁻¹ de Kinetina y 3 mgL⁻¹ de 2,4-D. La mejor respuesta con los explantes de material *in vitro* se observó después de 15 días del cultivo de yemas y raíces en el medio MS suplementado con Kinetina a 0.5 mg/L y 2,4-D

a 1 mg/L. Los explantes de hojas y tallos no mostraron una respuesta favorable para la inducción de callo y se observó un alto grado de oxidación en las muestras (90-100%). Los tejidos de vainilla que fueron capaces de desdiferenciarse a células, conformaron estructuras de callo friable.

En la producción de brotes múltiples por la manipulación *in vitro* de los diversos explantes, los resultados obtenidos se presenta en el cuadro 1 e ilustran en la Figura 1.

Cuadro 1. Multiplicación *in vitro* de *V. planifolia*

Parámetros	EIF (5mm)	EIF (10mm)	Microestacas
No. de explantes con formación de brotes múltiples.	35/50	25/50	50/50
No. de brotes por explante.	6-8	6-8	6-8
Eficiencia del proceso (%)	70	50	100



Figura 1. (a) Formación de brotes múltiples (6 semanas) a partir de microestaca; (b) a partir de esquejes *in vitro* fragmentados (EIF) de 5mm.

Conclusiones. En el presente trabajo se determinó el tipo de explante y la relación exógena auxina/citocinina requerida en el medio de cultivo para inducir la formación de callo de vainilla. Además, se identificaron fuentes organogénicas adicionales para la producción masiva de brotes y la obtención de plantas de *V. planifolia*. Se estableció eficientemente un banco de germoplasma en condiciones asépticas para investigaciones futuras con esta especie.

Bibliografía.

- Lubinsky, P. (2003). Conservation of wild vanilla. *First International Congress of the Vanilla Business, Vanilla 2003*, N. Jersey, USA, Nov.11-12/2003.
- Montero, A G. (1996). El cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *Tesis. Ing. Agr. Esp. en Fitotécnia*, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 96 p.