Efecto de diferentes antioxidantes en el control de la fenolización en el cultivo in vitro de orquideas.

Sara Luz Nahuat Dzib, José Luis Giorgana Figueroa y Nancy Santana Buzzy Instituto Tecnológico de Mérida, Ave. Tecnológico s/n, Mérida, Yuc., Méx. Fax: 01 (99) 44 8181 snahuat@hotmail.com

Palabras clave: in vitro; orquídeas; fenolización.

Introducción. Las orquídeas son un grupo de plantas de alto interés comercial como flor de corte v como macetas debido a su vistosidad, esto ha provocado su explotación y el saqueo indiscriminado de su hábitat natural. Aún cuando una cápsula de orquídea puede contener miles de diminutas semillas, su embrión consiste de una masa de células desdiferenciadas, no contiene endospermo y son difíciles de germinar(1). En su hábitat natural, la germinación ocurre únicamente cuando establece una micorriza con hongos específicos. Por lo tanto las orquídeas se han convertido en especies en peligro de extinción (2). El cultivo in vitro de tejidos vegetales ofrece alternativas para rescatar y propagar especies de plantas, contemplando la conversión del explante en plantas completas. Cuando se extrae un explante de la planta madre, la primera respuesta del tejido es la exudación de compuestos fenólicos en el sitio de corte, provocando un severo oscurecimiento del tejido y del medio circundante, lo que limita la respuesta del explante, provocando inclusive la muerte del mismo. Así, para mantener la capacidad de regeneración de los explantes, es importante la aplicación de agentes antioxidantes o absorbentes, que eviten la acción de los exudados fenólicos.

Metodología. Los explantes utilizados fueron de hojas y semillas provenientes de las orquídeas *Myrmecophila tibicinis, Laelia rubescens y Cattleyopsis lindenii*, se lavaron y desinfectaron con una solución de cloro comercial (Cloralex) al 50%, por 20 minutos, se enjuagaron y posteriormente se disectaron para obtener los explantes. Los antioxidantes empleados fueron: Acido Ascórbico, Acido Cítrico entre 50 y 150 mg/l, y Cisteína-HCl entre 20 y 50 mg/l. El medio base fue el de Murashige y Skoog (3), a la mitad de su concentración. Se utilizaron 10 frascos por tratamiento con 5 explantes o 5 mg de semilla por frasco. Se incubaron por 30 días, a 28 °C y fotoperíodo de 16 horas-luz. Se evaluó el % de explantes oxidados para cada especie.

Resultados y Discusión. Se observó que los explantes de hoja sometidos a los tratamientos con 100 mg/l de Ac. Ascórbico + 150 mg/l de Ac. Cítrico o con 50 mg/l de Cisteína-HCl, el índice de oxidación fenólica fue reducido a menos del 10% para las especies M. tibicinis y C. lindenii, no así para la *L. rubescens*, cuyo resultado osciló entre el 10 y el 20% de explantes fenolizados. Las semillas como explante, presentaron menos del 10% de oxidación en las especies M. tibicinis y C. Lindenii, mientras que L. rubescens al igual que en explantes de hoja, los mejores resultados obtenidos presentaron índices de fenolización de entre 10 y 20 %. De manera general, la semilla resultó el explante menos afectado por la fenolización, la cual se manifiesta bastante severa en las orquídeas. De acuerdo con Compton y Preece (4), trabajando con Rhynconstylis, observaron que los explantes provenientes de tejidos de plantas adultas, liberan concentraciones superiores de

sustancias fenólicas autoinhibitorias en el medio de cultivo con respecto a explantes de plantas jóvenes. Así mismo, el oscurecimiento letal del tejido, pude relacionarse con el grado de daño sufrido en el momento de su excisión, la sensibilidad del explante y de la especie de la planta, lo cual determina el grado de exudación y la consiguiente sobrevivencia del explante. Los resultados obtenidos en este trabajo, concuerdan con los planteados por estos autores, lo que corrobora la influencia del tipo de explante y el control de la fenolización para el establecimiento de los cultivos *in vitro*.

Conclusiones. La oxidación fenólica fue reducida entre el 80 y el 90% aplicando al medio de cultivo antioxidantes como Ac. Ascorbico + Ac. Ascorbico o Cisteína-HCl, evita el oscurecimiento letal de los explantes los cuales pueden utilizarse para la regeneración de plantas.

Bibliografía.

- 1.Sheehan, T.J. (1996). In: *Introduction to floriculture*. AGT Editor, S.A. USA. pp 119-146.
- 2. Fay, M.F. (1992). Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. *In vitro Cell.Dev. Biol.* 28 pp 1-4.
- 3. Murashige, T. And Skoog, F.(1962). A revised medium for rapid growth on bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plantar*. 15 pp 473-497.
- 4. Compton, M.E. and Preece J.E. (1986). Exudation and explant establishment. Assoc. Plant. Tissue Culture Newsl. 50 pp 9-18.