

CONSERVACIÓN DE ORQUÍDEAS EN MÉXICO

María de los Ángeles Aída Téllez Velasco
Compiladora y editora

La conservación es el método de utilización de un recurso natural o el ambiente total de un ecosistema particular, para prevenir la explotación, polución, destrucción o abandono y asegurar el futuro uso de ese recurso. Se trata de una actividad que fue adquiriendo protagonismo en relación con la industrialización y el uso continuado de materias no renovables, y tras el convencimiento de que la vida tecnológica sólo puede mantenerse mediante la conservación sostenible de los recursos.

A través de los años la conservación ha adquirido muchas connotaciones: para algunos significa la protección de la naturaleza salvaje, para otros el sostenimiento productivo de materiales provenientes de los recursos de la Tierra. www.mitecnologico.com/Main/EIConceptoDeConservacion

La definición presentada en 1980 por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales (UICN) como: "La utilización humana de la biosfera para que rinda el máximo beneficio sostenible, a la vez que mantiene el potencial necesario para las aspiraciones de futuras generaciones".

La Ley General de Vida Silvestre (Congreso de los Estados Unidos Mexicanos, 2000) define la conservación como "la protección, cuidado, manejo y mantenimiento de los ecosistemas, los hábitats, las especies y las poblaciones de vida, silvestre, dentro o fuera de sus entornos naturales, de manera que se salvaguarden las condiciones naturales para su permanencia a largo plazo".

Considerando que se reconoce a la conservación y al desarrollo económico como "aspectos complementarios ..." (World Bank, 1992), el rezago económico en el que se encuentra una porción mayoritaria de la población nacional obliga a completar dicha definición de conservación con la definición clásica de desarrollo sustentable: "[...para] cubrir las necesidades de las generaciones presentes sin comprometer la satisfacción de las necesidades de las generaciones futuras" (Brundtland, 1987). La pérdida del balance entre necesidades presentes y futuras condena a las poblaciones rurales a una economía cada vez más precaria, coincidente con la pérdida de la biodiversidad y los servicios ambientales originales. Danemann, G.D., E. Ezcurra y E. Velarde. 2008. Conservación ecológica. En: Danemann, G.D. y Ezcurra, E. (Eds.). *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad*. SEMARNAT-INE-PRONATURA. México, D.F. 695-731 pp.

Conservación: esfuerzo consciente para evitar la degradación excesiva de los ecosistemas. Uso presente y futuro, racional, eficaz y eficiente de los recursos naturales y su ambiente. Glosarionet

Toda acción humana que mediante la aplicación de los conocimientos científicos y técnicos, contribuye al óptimo aprovechamiento de los recursos existentes en el hábitat humano; propiciando con ello el desarrollo integral del hombre y de la sociedad. www.mitecnologico.com/Main/EIConceptoDeConservacion



ISBN 978-607-02-3444-6



9 786070 234446

Primera edición: 28 de junio de 2012

D.R.©2012, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Ciudad Universitaria Delegación Coyoacán,
C.P. 04510, México, Distrito Federal

ISBN: 968-607-02-3444-6

“Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio, sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales”.

Impreso y hecho en México

Título de la obra: *Conservación de Orquídeas en México*

Edición y corrección: M. en C. María de los Ángeles Aída Téllez Velasco

Diseño y Formación: D.G. Joel Medina

Fotografías de la portada: M. en C. María de los Ángeles Aída Téllez Velasco
y Eder Jesús Guzmán Hernández (última)

Impresión: Editorial Ideogramma

Editor responsable: Instituto de Biología, UNAM

[www. ibiologia.unam.mx](http://www.ibiologia.unam.mx)

Esta publicación es producto de recursos federales otorgados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación para el Subsistema Nacional de Recursos Genéticos Agrícolas (SINERAFI), coordinado por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de semillas (SNICS). Quien haga uso indebido de los recursos de este programa deberá ser denunciado y sancionado de acuerdo con la Ley aplicable y ante la autoridad competente.



Conservación de germoplasma *in vitro* de “Lirio de todos Santos” *Laelia anceps* Lindl. subsp. *anceps* Lindl. f. semialba (Orchidaceae)

Miguel Castañeda-Zárate¹ y Martín Mata Rosas²

Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Ver.

¹MiguelCastanedaZarate@gmail.com; ²martin.mata@inecol.edu.mx

Resumen

Se estableció un protocolo para retardar el crecimiento de plántulas de *Laelia anceps* Lindl., subsp. *anceps* Lindl., f. semialba, comúnmente llamado lirio de Todos Santos (color blanco), con el fin de poder establecer las bases para su conservación *in vitro* a corto-mediano plazo. Se adicionaron al medio de cultivo MS inductores de estrés osmótico (sacarosa, manitol y sorbitol), además se evaluó el efecto del ácido abscísico (ABA), así como la incubación a bajas temperaturas (5 °C). En todos los casos, a excepción de las bajas temperaturas donde las plántulas no sobrevivieron, se logró disminuir su crecimiento. De los diferentes compuestos empleados, el ABA (5 y 10 mg/l) y el manitol (60 g/l) fueron los que indujeron el menor crecimiento sin afectar la viabilidad de las plántulas e indujeron una formación de brotes por explante baja. Estos resultados permiten conservar un gran número de plantas de *L. anceps* subsp. *anceps* f. semialba, en espacios relativamente pequeños, además puede servir como base para la conservación de otras especies de orquídeas.

Palabras clave: conservación *in vitro*, *Laelia anceps* subsp. *anceps* f. semialba, plántulas, inductores de estrés osmótico

Abstract

A protocol for slow down the growth of plantlets of *Laelia anceps* Lindl., subsp. *anceps* Lindl., f. semialba, colloquially known as Lirio de Todos Santos (with in color), with the goal of establishing the base for its short-medium term *in vitro* conservation. The effect of osmoticums (sucrose, mannitol and sorbitol), abscisic acid (ABA), added to MS culture medium, on the growth of plantlets of *L. anceps* were tested, as well as the incubation a low temperatures (5 °C). In all essays, except with low temperatures in which the plantlets did not survive, it was possible to decrease the plantlets growth. From the different compounds used, ABA (5 and 10 mg/l) and mannitol (60 g/l) induced the lowest plantlet growth without affect their survival. These results will allow conserving a lot of plantlets of *L. anceps* subsp. *anceps* f. semialba in relative small spaces, and also this study would be useful as reference for the short-medium *in vitro* conservation of other species of orchids.

Key words: *in vitro* conservation, *Laelia anceps* subsp. *anceps* f. semialba, plantlets, osmoticums.

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas constituyen una de las familias más diversas y ampliamente distribuidas de plantas con flores, con unas 25 000 especies conocidas a nivel mundial agrupadas dentro de 650 a 900 géneros (Dixon *et al.*, 2003). México enfrenta serios problemas ambientales que han ocasionado que gran parte de su biodiversidad se encuentre en peligro de desaparecer y uno de los grupos altamente vulnerables son las orquídeas (Hágsater *et al.*, 2005).

Las orquídeas son muy específicas en cuanto a sus requerimientos ecológicos y son muy vulnerables a las alteraciones causadas por el hombre (Salazar-Casasa *et al.*, 2007). Aunado a la alteración y fragmentación del hábitat, así como a la belleza de las orquídeas, muchas poblaciones silvestres son objeto de la extracción ilegal de ejemplares reproductores para satisfacer la demanda comercial existente, principalmente de aquellos ejemplares con características sobresalientes, ya que son muy solicitados a pesar del alto costo que algunas individuos llegan a alcanzar (Flores-Palacios y Valencia-Díaz, 2007). Un claro ejemplo es el lirio de todos santos *Laelia anceps* Lindl. subsp. *anceps*, donde pueden encontrarse esporádicamente ejemplares con rasgos que destacan dentro del resto de los individuos que conforman la población, tal es el caso de las formas semialbas, caracterizadas por poseer pétalos y sépalos blancos y donde el labelo presenta una coloración, por lo general rosa-morada. Aunque *L. anceps* subsp. *anceps* no presenta problemas de conservación, las diferentes formas son muy escasas, por lo que es necesario desarrollar programas dedicados a su conservación y propagación.

Dentro de las alternativas para la conservación *ex situ* de este tipo de especies, se encuentra el cultivo de tejidos vegetales (CTV), ya que ha demostrado ser de gran utilidad para estudiar, propagar y conservar especies hortícolas, ornamentales y principalmente aquellas que presentan problemas en su conservación (Malabadi *et al.*, 2004; Osorio

y Mata, 2005). El CTV también puede ser empleado para mantener colecciones en crecimiento mínimo, para lo cual se requiere: reducir la temperatura, reducir la intensidad luminosa, modificar el medio de cultivo, adicionar al mismo, estresantes osmóticos o retardantes del crecimiento, entre otros. La modificación de uno o más de estos factores ha sido exitosamente empleada para la conservación a corto-mediano plazo de numerosas plantas herbáceas y arbustivas, entre las cuales figuran algunas especies de orquídeas (Scocchi y Rey, 2004; Ávila y Salgado, 2006).

El presente estudio tuvo como objetivo determinar las condiciones que permitan retardar el crecimiento de plántulas de *L. anceps* subsp. *anceps* forma semialba cultivada *in vitro* y que sean la base para su conservación a corto mediano-plazo.

MATERIAL Y MÉTODO

Material biológico

Como explante se utilizaron plántulas de *L. anceps* subsp. *anceps* f. semialba con 1-3 cm de altura, provenientes de semillas previamente germinadas en medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962), más 2 mg·l⁻¹ glicina; 100 mg·l⁻¹, myo-inositol, and 30 g·l⁻¹ sacarosa. Las semillas provenían de una cápsula formada tras la polinización manual entre dos ejemplares pertenecientes a la colección del Jardín Botánico "Francisco Javier Clavijero" del Instituto de Ecología A.C.

Retardantes del crecimiento

Para retardar el crecimiento de las plántulas de *L. anceps* subsp. *anceps* f. semialba se adicionó el medio MS diferentes concentraciones de manitol o sorbitol (10, 30 y 60 g/l), sacarosa (10, 20, 40, 50 y 60 g/l). También se evaluó el efecto de incubación a 5 °C, así como el efecto del ácido abscísico (1, 3, 5, 10 mg/l). El medio de cultivo fue vertido en frascos de vidrio de 125 ml de capacidad y conteniendo 30 ml de medio. Se sembraron cinco explantes por frascos con 20 repeticiones, con un total de 100 plántulas por tratamiento. Se realizaron subcultivos mensuales a sus respectivos medios de cultivo durante cinco meses.

El pH de todos los medios de cultivo se ajustó a 5.0 con soluciones de Hidróxido de Sodio (NaOH) 1 N y/o Ácido Clorhídrico (HCl) 1 N, previo a la adición de 7 g/l de agar Micropropagation (Phytotechlab®) y se esterilizaron en un autoclave a 120 °C durante 15 min. Los cultivos fueron incubados a una temperatura de 25 ± °C con una intensidad luminosa de 50 µMol/m²/s proporcionada por dos lámparas fluorescentes (luz de día) de 75 W.

Para evaluar el desarrollo *in vitro* de las plántulas en los diferentes tratamientos se realizó el registro mensual de datos tomando en cuenta la supervivencia, el número de brotes y/o PLBs (cuerpos semejantes a protocormos por sus siglas en inglés) por explante, así como la talla del explante (tomada desde la base del pseudobulbo hasta la punta de la hoja más larga), Se calculó el incremento real de altura restando la talla final alcanzada menos la talla inicial del explante.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos, número de brotes por explante y por tratamiento, altura de los brotes, etc., fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con ayuda del paquete estadístico *Statistica* (1999) y los tratamientos diferentes significativamente fueron discriminados mediante la prueba de rango múltiple de mínima diferencia significativa (LSD) a un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plántulas cultivadas en los distintos tratamientos mostraron en general un porcentaje de supervivencia alto que osciló entre 75-100%, aunque es importante mencionar que la pérdida se debió básicamente a la contaminación del cultivo y en una menor proporción por la oxidación en los mismos (Cuadro 1).

La respuesta al cultivo varió entre en los diferentes tratamientos (Fig. 1), en el control se observó un ligero incremento de altura y formación de brotes relativamente alta. Por su parte, las plántulas cultivadas con diferentes

concentraciones de manitol mostraron en algunos tratamientos un ligero incremento en la altura y otros promovieron una reducción de la talla. El sorbitol presentó una relación inversa, es decir, a mayor concentración, menor altura alcanzada y menor formación de brotes, donde con 60 g/l se obtuvo un decremento en la altura de los brotes. La sacarosa de manera general promovió una elevada formación de brotes y un incremento de altura, con excepción del tratamiento con 40 g/l. El empleo de ABA también indujo un menor desarrollo (altura y número de brotes) al incrementar su concentración. Las plántulas incubadas a baja temperatura no mostraron ningún desarrollo y adquirieron una coloración blanquecina debido al daño por el frío, lo que originó su muerte a los 15 días de iniciado el cultivo.

Cuadro 1. Resultados obtenidos al cultivar plántulas de *Laelia anceps* subsp. *anceps* f. *semialba* en medio MS adicionado con retardantes de crecimiento.

| Tratamiento (g/l) | | Supervivencia (%) | Incremento real por brote (cm) | Promedio de brotes ± E.S |
|-------------------|----|-------------------|--------------------------------|--------------------------|
| CONTROL | 0 | 90 | 0.47de | 7.24 ± 0.63cd |
| | 10 | 85 | 0.52def | 12.54 ± 2.07ef |
| MANITOL | 30 | 100 | 0.11cd | 13.41 ± 1.64f |
| | 60 | 85 | -1.70a | 4.55 ± 0.50abc |
| | 10 | 85 | 1.19gh | 12.14 ± 1.67ef |
| SORBITOL | 30 | 100 | 1.22gh | 9.53 ± 0.93de |
| | 60 | 95 | -0.88b | 7.55 ± 0.46cd |
| | 10 | 90 | 1.35gh | 6.56 ± 0.79bcd |
| SACAROSA | 20 | 90 | 1.50h | 14.57 ± 2.37f |
| | 40 | 95 | -0.10c | 6.48 ± 0.99bcd |
| | 50 | 100 | 0.96fg | 18.78 ± 1.97g |
| | 60 | 100 | 0.16cd | 13.30 ± 1.42f |
| | 1 | 100 | 0.76ef | 5.19 ± 0.48abc |
| ABA (mg/l) | 3 | 100 | 0.64ef | 3.60 ± 0.23ab |
| | 5 | 95 | -0.03c | 2.33 ± 0.13a |
| | 10 | 75 | -0.76b | 2.19 ± 0.12a |

Resultados obtenidos después de cinco meses de cultivo *in vitro*. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). ABA: Ácido abscísico. E.S: Error estándar.

Después de realizar un ANOVA entre todos los tratamientos, se pudo establecer diferencia significativa ($p \leq 0.05$) encontrándose que para evitar la formación de brotes y permitir una supervivencia alta, el ABA (3, 5 y 10 mg/l) resultó ser el más adecuado para ello. Con ABA (5 mg/l) el incremento en altura fue prácticamente 0 y la formación de brotes baja, además de que la supervivencia fue del 95%. Para este tratamiento, únicamente la formación de brotes fue superada por la concentración de 10 mg/l y aunque de acuerdo al cuadro 1, es el tratamiento en el que hubo mayor pérdida de explantes (25%) se debió a la contaminación de los mismos, mas no a su mortalidad debido a las condiciones de cultivo. Este tratamiento además promovió una reducción en la talla de las plántulas originada por la pérdida de sus hojas, lo que se ve reflejado en un decremento de 0.76 cm en los brotes formados, los cuales también son escasos en comparación con otros tratamientos. La adición de 3 mg/l de ABA también promovió una baja formación de brotes, un decremento en la talla de los explantes y una supervivencia elevada. Ávila y Salgado (2006) mencionan que *L. albida*, *L. autumnalis* y *L. speciosa* se conservan a una temperatura de 10 °C en medio MS 12.5% de su concentración original con 60 g/l de sacarosa y 0.5 mg/l de ABA.

El manitol en general también fue efectivo para reducir el crecimiento al causar estrés, donde a mayor concentración mayor decremento de la talla y en el número de brotes por explante, a una concentración de 60 g/l originó que sus hojas se secaran paulatinamente y cayeran, con lo cual se vio afectada la talla de los mismos (Fig. 1B). Ávila y Salgado (2006) reportan que *Cattleya aurantiaca*, *Encyclia adenocaula*, *Euchile citrina*, *Epidendrum radicans*, *L. albida*, *L. autumnalis*, *L. speciosa*, *Oncidium tigrinum* y *O. cavendishianum* se conservan a mediano

plazo con un mínimo de crecimiento sin disminuir su viabilidad en medio MS a diferentes concentraciones de sales y compuestos orgánicos, sacarosa y con la adición de sustancias retardadoras del crecimiento, entre los cuales figura el manitol.

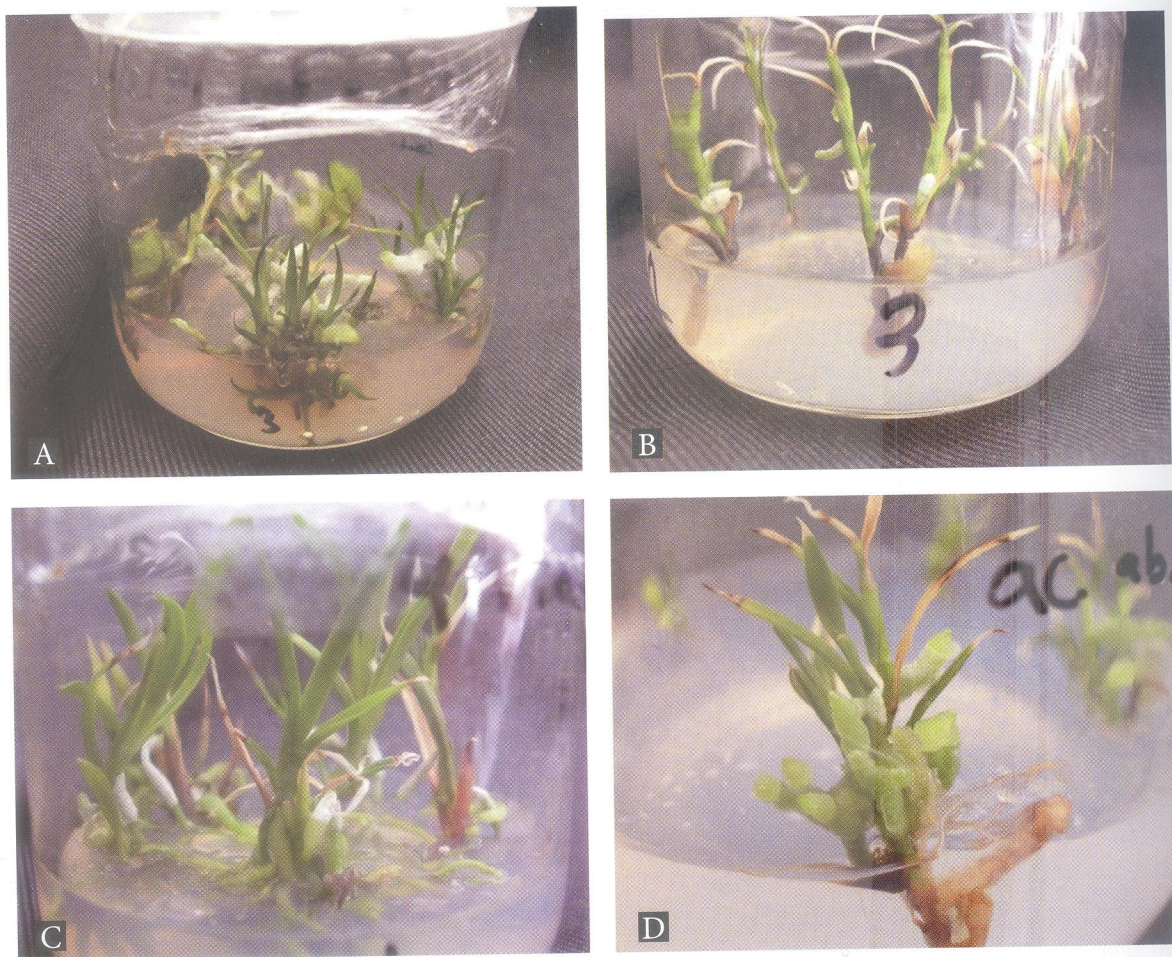


Figura 1. Tratamientos para retardar el crecimiento de *L. anceps* subsp. *anceps* f. *semialba*. (A) Plántulas testigo. (B) Con 60 g/l de manitol se presentó un decremento en la talla de las plántulas y una escasa producción de brotes. (C) Las plántulas cultivadas con 40 g/l de sacarosa mostraron un decremento en su altura y una baja brotación múltiple. (D) Decremento en la talla y la casi nula formación de brotes se presentaron las plántulas cultivadas en ABA (10 mg/l).

Los diferentes tratamientos con sacarosa no redujeron significativamente la altura de los brotes, sólo con 10 g/l se obtuvo un decremento en la altura pero en la mayoría de los casos se obtuvo una alta formación de brotes. Engelmann (1991) resalta que la adición de altas concentraciones de sacarosa reduce la tasa de crecimiento en protocormos de algunas orquídeas. También la suplementación con manitol reduce la tasa de crecimiento en brotes de papa y la sacarosa en combinación con manitol extiende el tiempo de almacenamiento. Martin y Pradeed (2003) encontraron que es posible mantener con un lento crecimiento la orquídea *Ipsea malabárca* en medio de cultivo MS con la reducción de sus componentes al 50% sin la adición de sacarosa y reguladores del crecimiento vegetal.

CONCLUSIONES

De los compuestos usados el ABA (5 y 10 mg/l) y el manitol (60 g/l) resultaron ser de gran utilidad para reducir el crecimiento de las plántulas, pues evitaron una alta formación de brotes y permitieron mantener una supervivencia alta, características ideales cuando se pretende conservar a corto-mediano plazo a *L. anceps* subsp. *anceps* f. *semialba*.

Los resultados obtenidos en este trabajo ofrecen una alternativa viable y de gran utilidad para mantener *in vitro* a corto-mediano plazo plántulas *L. anceps* subsp. *anceps* f. *semialba* y pueden ser empleados como base para su aplicación con otras especies de orquídeas.

LITERATURA CITADA

- Ávila D., I. y R. Salgado G. 2006. Propagación y mantenimiento *in vitro* de orquídeas mexicanas, para colaborar en su conservación. *Biologicas* 8: 138-149.
- Dixon, K.W., S. Kell P., R. Borret L. y P. Cribb J. (Eds.). 2003. *Orchid conservation*. Natural History publications (Borneo). Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, 418 p.
- Engelmann, F. 1991. *In vitro* conservation of tropical germplasm- a review. *Euphytica* 57(3): 227-243.
- Flores-Palacios, A. y S. Valencia-Díaz. 2007. Local illegal trade reveals unknown diversity and involves a high species richness of wild vascular epiphytes. *Biological Conservation* 136(3): 372-387.
- Hágsater, E., M.Á Soto-Arenas, G.A. Salazar Ch., R. Jiménez M, M.A. López R. y R.L. Dressler. 2005. *Las orquídeas de México*. Instituto Chinoín. México, 304 p.
- Malabadi, R.V., S. Mulgund G. y K. Nataraja. 2004. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76(3): 289-293.
- Martin, K.P. y A. K. Pradeep. 2003. Simple strategy for the *in vitro* conservation of *Ipea malabarica* an endemic and endangered orchid of the Western Ghats of Kerala, India. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 74(2): 197-200.
- Murashige, T. y Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-494.
- Osorio R., M.L. y M. Mata R. 2005. Micropropagation of ponytail palms (*Beaucarnea gracilis* Lem. and *B. recurvata* Lem.), endemic and endangered Mexican species. *HortScience* 40 (5): 1481-1484.
- Salazar-Casas, W., G. Rivera-Coto y G. Corrales-Moreira. 2007. Comparación de los problemas fitosanitarios en orquídeas de poblaciones silvestres y de cultivo, como evaluación de riesgos de plagas o epidemias. *Lankesteriana* 7(1-2): 362-367.
- Scocchi, A. y H. Rey. 2004. Conservación de germoplasma *in vitro*. En: V. Echenique, C. Rubistein, y L Mroginski. (Eds.). *Biotecnología y mejoramiento vegetal*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Buenos Aires, pp. 179-185.
- Statistica. 1999. Statistica for Windows. Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA.