

Estudio de algunos medios de cultivo para la inducción de brotes en callos de orquídea terrestre (*Blettia purpúrea*).

Autores: MsC. María JÓ García ¹, MsC. René Hernández Gonzalo.²

Email mary@af.upr.edu.cu reneh@af.upr.edu.cu

1 Dpto. Biología 2. Dpto. Agropecuario. Universidad “Hnos Saíz Montes de Oca” Pinar del Río. Cuba

INTRODUCCION.

Las orquídeas han fascinado al mundo durante siglos. Debido a su belleza y al elevado costo que alcanzan las orquídeas actualmente, son motivo de cultivo por particulares e industriales como flor cortada y como planta ornamental, por ello tiene una importancia económica en el ámbito mundial.

Algunos géneros de la familia de las orquídeas son objeto de cultivos importantes; se trata no obstante, de cultivos muy especializados. Una de las formas de propagación acelerada de las orquídeas es el cultivo “in vitro”.

Los primeros reportes del uso de las técnicas del cultivo de tejido en la propagación clonal de orquídea fue en 1949, obtenidos por Rotor a partir de botones de inflorescencias de *Phalanopsis*.

En los años 60, se descubrió la capacidad que tienen las puntas de brotes y los meristemos de orquídea (*Cimbidium*) sembrados en medios de cultivo adecuados, para producir protocormos, los cuales son capaces de desarrollar plantas. (Morel,1974).

Los dos mas populares medios usados en el cultivo de tejidos de orquídea son el Vasin y Went y el Knudson C.

En los Laboratorios de Hawai y Singapore usan Vasin y Went ampliamente mientras que en Europa y América Continental emplean el Knudson C Hu y Wang (1983).

El objetivo del trabajo es valorar algunos medios de cultivo para la inducción de organogénesis en callos de orquídea *Blettia purpúrea*.

MATERIALES Y METODOS.

El trabajo se realiza en el Laboratorio de Biotecnología de las Plantas de la Universidad de Pinar del Río

Tabla 1 Fracciones de callos de orquídea fueron sembrados en 4 medios de cultivo

	MEDIOS DE CULTIVO			
	OB mg/L	Phytamax mg/L	MSO mg/L	KCB mg/L
Sales	reducidas	Sin nitrato de calcio y sulfato de amonio	Sales del MS	Con nitrato de calcio y sulfato de amonio y Mg
sacarosa	20 g/L	20 g/L	20 g/L	20 g/L
VIT. GAMBORT	25 ml	25 ml	25 ml	25ml
ANA	0.2 mg/L	0.2 mg/L	0.2 mg/L	0.2 mg/L
6BA	2 mg/L	2 mg/L	2 mg/L	2 mg/L
agar	8 g/L	8 g/L	8 g/L	8 g/L
Ph	5.4	5.4	5.4	5.4

Se sembraron 10 frascos por tratamiento sembrando 4 fracciones de callos en cada uno,. Se evaluó el número de brotes, vigor, color y contaminación.

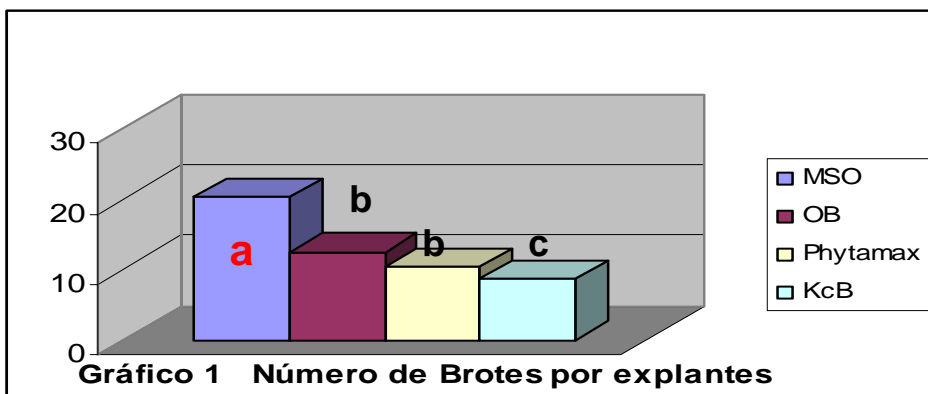
Los datos contables fueron normalizados mediante la raíz cuadrada y se aplicó un análisis de varianza, así como el test de rangos múltiples de Duncan para la significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Borkowska (1988) señala que el BA tiene un pronunciado efecto en la actividad metabólica y el crecimiento de los tejidos.

Junto con el incremento de las concentraciones del BA no sólo se incrementa los nuevos brotes; sino se incrementa la actividad de la invertasa de las sales solubles. Esto puede ser un punto importante en la absorción y utilización del azúcar como es necesario para un rápido y eficiente desarrollo..

Todos los medios probados como se refleja en la tabla 1 la citoquinina que contiene es el 6 BA a razón de 2 mg/L y el ANA a 0,2 mg/L.



$E_{sx} = 0.187$

C.V. 1.12 %

Como se muestra en la Gráfico 1 el análisis de varianza dio significativo para los tratamientos y el mejor comportamiento lo tuvo el medio MSO con un promedio de 20,25 brotes / explante seguido del OB y Fhytamax , siendo el peor comportamiento el de KcB., con 8,6 brotes/explantes.

Al comparar nuestros resultados con otras investigaciones podemos plantear que los medios empleados en el Jardín Botánico de Singapur para orquídeas varían desde el Knudson C, el MS y otras variantes como el Vacin, Went y otros, ellos utilizan el BA, y el 2 4 D como hormonas en diferentes especies de orquídeas y de acuerdo al explante y al objetivo que se persiga. Hew y Chin (1987, 1988)

Del Sol (1985) obtuvo buenos resultados en la especie Sphatoglottis empleando el MS con 5 mg/L BA y 0,2 mg/L AIA mientras que nosotros obtuvimos buenos resultados en Blettia con 2 mg/L BA y 0,2 mg/L ANA.

Tabla 3 Comportamiento del color y vigor de los callos en los diferentes medios utilizados

Medios	Color	Vigor
MSO	Verde intenso	Vigorosas
OB	Verde	Vigorosas
Fhytamax	verde	Vigorosos
KcB	Verde claro	Menos vigorosas

En la tabla 3 se muestran los resultados en relación al color y el vigor, con el medio MSO los brotes obtenidos tuvieron un color verde más intenso y mas vigorosos que en el OB, Phytamax y el peor comportamiento fue en el medio KcB donde los brotes tuvieron un color verde mas claro y los brotes eran menos vigorosos.

Esto lo atribuimos a la adición del $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ en sustitución del CaCl_2 en el MSO ya que el Ph del medio es 5.4 y el nitrógeno puede ser absorbido y la planta responde a él cumpliendo con sus funciones metabólicas.

En relación a la contaminación fue muy poca se contaminaron 2 tubos en todo el experimento mostrando ello una buena manipulación y asepsia.

CONCLUSIONES.

- El medio donde tuvo mejor respuesta los parámetros evaluados como fue el No de brotes por explante el color y vigor fue el MOS .

BIBLIOGRAFÍA

- Boskowska B, Mariola Opiloswska (1988) Influencia del BA y otras citoquininas en la proliferación en cereza ácida cultivadas "in vitro" Fruit Science Report Vol XV No 4.
- Del Sol O. J, Torres M.y Pedroso J. (1985) Propagación acelerada de plantas ornamentales por métodos de cultivo de tejidos. Interferon y Biotecnología Vol 2 No 3 PP 213- 219.
- Goh C.J.(1990) Orchids monopodials. Handbook of Plant Cell Culture Parte IV Pag, 599-633,
- Hew C.S, T.F. Chia y K. Lee (1987= The need for a flow orchid tissue culture system. Malayan Orchid Vol 21 pag. 30-33.
- Hew C. S, T.F. Chin (1988) Advances in the technique of orchid tissue culture. Dpto Botany University of Singapur.