

Propagación y cultivo *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis* (calaverita) y *Jatropha curcas* (piñón)

ANALCO-MIRANDA, Leydi Esmeralda*†, ÁNGELES-BRACAMONTES, Ruth, FRANCISCO-NAVA, Juan José

*Unidad Académica de Ciencias Naturales – UAGro. Av. Universidad S/N Carretera Nac. Chilpancingo-Petaquillas, Guerrero. México.

01(747)132 2426.

Recibido Septiembre 2, 2013; Aceptado Marzo 5, 2014

Resumen

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, la mayoría de ellas ubicadas en regiones tropicales en México. *Laelia anceps* var. *chilapensis* de la familia Orchidaceae, es una orquídea nativa de México conocida comúnmente como "calaverita". Se sabe que la mayoría de las orquídeas son muy específicas en cuanto a sus requerimientos ecológicos y son muy vulnerables a las alteraciones causadas por el hombre en los diferentes ecosistemas que habitan (Castañeda 2008). La orquídea "calaverita" en el municipio de Chilapa Guerrero, es utilizada tradicionalmente el día de muertos, y traficada para su comercio debido a su belleza y su gran importancia hortícola y ornamental. Esta especie es considerada en peligro de extinción de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, (Halbinger y Soto 1997). Alamillo, J. (2013) afirma que desde hace tres décadas el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales ha demostrado su utilidad en la propagación de especies amenazadas y especies que son útiles en cantidades masivas, porque ofrece la posibilidad de multiplicar plantas a escalas mayores que las obtenidas a través de los procedimientos tradicionales y en menor tiempo. *Jatropha curcas* L. de la familia Euphorbiaceae, conocida con el nombre común de "piñón", es una planta nativa de México y Centroamérica, utilizada como fuente alternativa para la obtención biodiesel a partir del aceite de la semilla, como alimento y también para usos medicinales. Según Zamarripa, A., Ruiz, P., Solís, J., Martínez, J., Olivera, A. y Martínez, B. (2009) es una planta rústica, adaptada a las condiciones del trópico y utilizada en Guerrero como cerca viva para delimitar parcelas. La semilla de *Jatropha*, ya que es una especie no tóxica es utilizada para hacer "Pipian" comida típica en día de muertos en la Región Costa Chica de Gro. Esta planta según Laguna, G; Padilla, A; Vacca, M; Aviles, Z; y Bonomo, M (2011) tiene problemas para reproducirse por los métodos convencionales, teniendo bajas tasas de multiplicación, por eso inducir el desarrollo y cultivo *in vitro* de *Jatropha curcas* L. puede ser una alternativa para la obtención en grandes masas de plantas que pueden ser utilizadas en la industria, sin poner en riesgo las poblaciones.

El objetivo del presente trabajo es la propagación *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis* y *Jatropha curcas* valorando las condiciones adecuadas para su desarrollo

Propagación, cultivo *in vitro*, *Laelia anceps* var. *chilapensis*, *Jatropha curcas*.

Abstract

Orchids are one of the most diverse and widely distributed family of flowering plants, with some 25,000 species known worldwide, clustered within 650-900 genera, most of them located in tropical regions in Mexico. *Laelia anceps* var. *chilapensis* of the family Orchidaceae, is a Mexico native orchid commonly known as "calaverita". It is known that most orchids are very specific in their ecological requirements and are very vulnerable to disturbances caused by man in different ecosystems they inhabit (Castañeda 2008). Orchid "calaverita" in the municipality of Chilapa Guerrero, is traditionally used the day of the dead, and trafficked for trade due to its beauty and great horticultural and ornamental importance. This species is considered endangered according to the Official Mexican Standard NOM-059-ECOL-2001 (Halbinger and Soto 1997). Alamillo, J. (2013) states that for three decades the *in vitro* plant tissue culture has proved useful in the propagation of threatened species and species that are useful in mass quantities, it offers the possibility of multiplying plants to larger scales those obtained by traditional methods and in less time. *Jatropha curcas* L. from the Euphorbiaceae family, known by the common name "gear", is a plant native to Mexico and Central America, used as an alternative source for obtaining biodiesel from oil seeds as food and also uses medicinal. According Zamarripa, A., Ruiz, P., Solís, J., Martínez, J., Olivera, A. Martínez, B. (2009) is a rustic plant, adapted to tropical conditions and used a warrior as close alive to delimit plots. *Jatropha* seed because it is a non-toxic species is used to make "Pipian" typical meal in Day of the Dead in the Costa Chica region Gro. This plant according Laguna, G; Padilla, A; Vacca, M; Aviles, Z; and Bonomo, M (2011) have trouble reproduced by conventional methods, with low rates of multiplication, so induce development and *in vitro* cultivation of *Jatropha curcas* L. may be an alternative for obtaining large masses of plants that can be used in the industry, without compromising populations.

The aim of this work is the *in vitro* propagation of *Laelia anceps* var. *Jatropha curcas chilapensis* and assessing appropriate conditions for its development

Propagacion, cultivation *in vitro*, *Laelia anceps* var. *chilapensis*, *Jatropha curcas*.

Citación ANALCO-MIRANDA, Leydi Esmeralda, ÁNGELES-BRACAMONTES, Ruth, FRANCISCO-NAVA, Juan José. Propagación y cultivo *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis* (calaverita) y *Jatropha curcas* (piñón). Foro de Estudios sobre Guerrero. Mayo 2013 – Abril 2014, 1-1: 488-492

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: ley_esme3@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

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, la mayoría de ellas ubicadas en regiones tropicales en México. *Laelia anceps* var. *Chilapensis* de la familia *Orchidaceae*, es una orquídea nativa de México conocida comúnmente como “calaverita”. Se sabe que la mayoría de las orquídeas son muy específicas en cuanto a sus requerimientos ecológicos y son muy vulnerables a las alteraciones causadas por el hombre en los diferentes ecosistemas que habitan (Castañeda 2008). La orquídea “calaverita” en el municipio de Chilapa Guerrero, es utilizada tradicionalmente el día de muertos, y traficada para su comercio debido a su belleza y su gran importancia hortícola y ornamental. Esta especie es considerada en peligro de extinción de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, (Halbinger y Soto 1997). Alamillo, J. (2013) afirma que desde hace tres décadas el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales ha demostrado su utilidad en la propagación de especies amenazadas y especies que son útiles en cantidades masivas, porque ofrece la posibilidad de multiplicar plantas a escalas mayores que las obtenidas a través de los procedimientos tradicionales y en menor tiempo. *Jatropha curcas* L. de la familia *Euphorbiaceae*, conocida con el nombre común de “piñón”, es una planta nativa de México y Centroamérica, utilizada como fuente alternativa para la obtención biodiesel a partir del aceite de la semilla, como alimento y también para usos medicinales. Según Zamarripa, A., Ruiz, P., Solis, J., Martínez, J., Olivera, A. y Martínez, B. (2009) es una planta rustica, adaptada a las condiciones del trópico y utilizada en Guerrero como cerca viva para delimitar parcelas.

La semilla de *Jatropha*, ya que es una especie no toxica es utilizada para hacer “Pipian” comida típica en día de muertos en la Región Costa Chica de Gro. Esta planta según Laguna, G; Padilla, A; Vacca, M; Aviles, Z; y Bonomo, M (2011) tiene problemas para reproducirse por los métodos convencionales, teniendo bajas tasas de multiplicación, por eso inducir el desarrollo y cultivo *in vitro* de *Jatropha curcas* L. puede ser una alternativa para la obtención en grandes masas de plantas que pueden ser utilizadas en la industria, sin poner en riesgo las poblaciones. El objetivo del presente trabajo es la propagación *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis* y *Jatropha curcas* valorando las condiciones adecuadas para su desarrollo.

Objetivo general

1. Propagar *in vitro* *Laelia anceps* var. *chilapensis* y *Jatropha curcas* valorando las condiciones adecuadas para su desarrollo.

Objetivos específicos

1. Cultivar *in vitro* explantes de *Laelia anceps* var. *chilapensis*, en medio de Murashige y Skoog.
2. Evaluar y comparar la respuesta de los reguladores de crecimiento benzilaminopurina (BAP) y ácido naftalacético (ANA), en explantes de cotiledones y embriones de *Jatropha curcas*.

Metodología

Material Biológico: Para la propagación *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis*, se obtuvieron pseudobulbos de la planta madre del jardín botánico de la UAGro. Para la propagación *in vitro* de *Jatropha* se extrajeron semillas de frutos semimaduro proveniente de una planta madre cultivada en el jardín botánico de la UAGro.

Preparación del medio de cultivo: Se preparó el medio MS en frascos tipo gerber para la siembra de los explantes de *Laelia anceps* var. *chilapensis*. Para la siembra de explantes de *Jatropha curcas* se preparó medio MS adicionado con fitohormonas BAP y ANA a concentración 0.1 y 0.02 mg/l.

Las fitohormonas se utilizaron por separado y para cada tratamiento. El medio fue colocado en frascos tipo gerber, posteriormente se esterilizó en autoclave.

Asepsia de los instrumentos de laboratorio: La cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol etílico de 96 °, el bisturí, pinzas y cajas Petri fueron esterilizadas utilizando la técnica de flameo previa inmersión en alcohol etílico de 96°.

Asepsia y preparación del material biológico: Para la asepsia de los pseudobulbos de *Laelia*, se dejaron reposar 30 minutos en detergente después fueron lavados con agua destilada, posteriormente sumergidos en alcohol etílico de 96° por un minuto, para después flamearlas. Se retiró la cubierta y se cortaron fragmentos de 1 cm³.

Para la asepsia de los frutos semimaduros de *Jatropha*, se dejó reposar 30 minutos en detergente, después se lavaron con agua destilada para posteriormente sumergirlas por 2 minutos en solución de benzaldehído, enseguida fueron lavadas con agua destilada y sumergidas en alcohol de 96° por 3 minutos. Las semillas fueron sumergidas por 30 segundos en agua caliente para ablandar la cutícula y sacar el embrión y los cotiledones.

Diseño experimental: Se empleó un diseño experimental factorial. Se realizaron dos experimentos para el cultivo *in vitro* de *Jatropha curcas*, para el experimento 1 se aplicaron cuatro tratamientos con cuatro repeticiones y un testigo por cada tratamiento en cotiledones.

Para el experimentos 2, se aplicaron dos tratamientos con cuatro repeticiones y un testigo por cada tratamiento para embriones (tabla 1). Los tratamientos consistieron en adición de fitohormonas ANA y BAP a concentración 0.01 y 0.02 mg/l. Experimento 1: Se sembraron veinte cotiledones en total de *Jatropha curcas* (un cotiledón por frasco) en cuatro frascos con medio MS se adiciono 0.01 mg/l de ANA para el tratamiento 1, cuatro frascos con MS con 0.02 mg/l de ANA para el tratamiento 2, cuatro frascos con 0.01 mg/l de BAP para el tratamiento 3, cuatro frascos 0.02 mg/l ml de hormona BAP para el tratamiento 4, y cuatro testigos (un testigo por cada tratamiento).

Experimento 2: Se sembraron diez embriones en total (un embrión por frasco), cuatro frascos con medio MS adicionado con hormona 0.01 mg/l de ANA para el tratamiento 1, cuatro frascos con medio MS adicionado con 0.01 mg/l de BAP para el tratamiento 2, y un testigo para cada tratamiento (dos frascos en total). Para el cultivo *in vitro* de *Laelia anceps* var. *chilapensis* se utilizaron 20 fragmentos de pseudobulbos de 1 cm³, sembrando un fragmento por frasco.

Todos los explantes, tanto de *Jatropha* y *Laelia* se incubaron a ± 24 °C y 18 horas luz.

Registro de datos: Para *Jatropha curcas* se tomaron datos y fotografías cada tercer día después de la siembra de los explantes y se evaluó la variable de germinación y sobrevivencia de los explantes con respuesta a las fitohormonas BAP y ANA. Para *Laelia anceps* var. *chilapensis* se tomaron datos y fotografías mensualmente. Se evaluara la variable de sobrevivencia y formación de callos.

Experimento 1 (cotiledón)			
ANA		BAP	
T1. 0.01 mg/l 4 frascos	T2. 0.02 mg/l 4 frascos	T3. 0.01 mg/l 4 frascos	T4. 0.02 mg/l 4 frascos
Experimento 2 (embrión)			
ANA		BAP	
T1. 0.01 mg/l 4 frascos		T2. 0.01 mg/l 4 frascos	

Resultados parciales

Los explantes de cotiledones de semilla semimadura de *Jatropha curcas* del experimento 1 fueron los que mostraron mejor respuesta al tratamiento 1 hasta el momento (figura 1), ya que hubo 100% de germinación de las plántulas a los 5 días de haber sembrado los explantes (grafica 1). Solo los explantes de cotiledones tuvieron respuesta más acelerada al tratamiento 1, las plántulas después de haber germinado tuvieron crecimiento, el 50% de las hojas cotiledonares tomaron coloración verdosa. En el tratamiento 3 solo se observó el 25% de germinación a los 11 días. Todos los explantes testigo se muestran sin ningún cambio en el crecimiento.

Para el tratamiento aplicado a explantes de embrión en el experimento 2, no se ha mostrado respuesta alguna (figura 2).

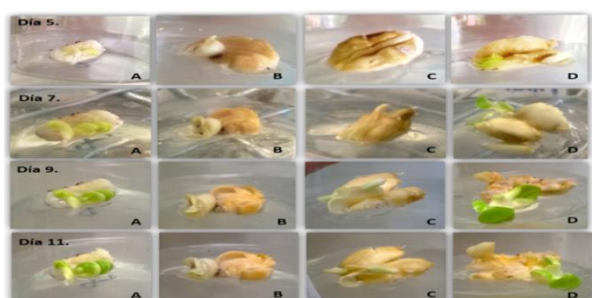


Figura 1 Desarrollo de germinación de cotiledones de *Jatropha curcas* (Experimento 1) del día 5 al día 11.

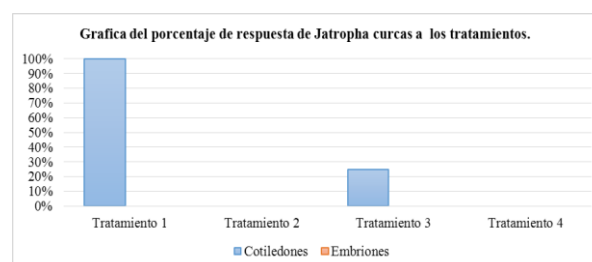


Gráfico 1 Porcentaje de respuesta de embriones y cotiledones

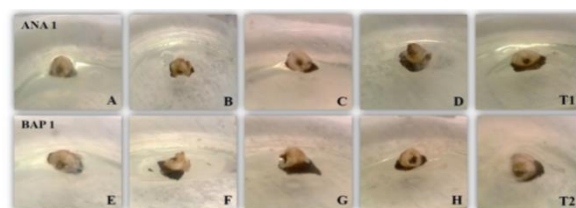


Figura 2 Desarrollo de embriones de *Jatropha curcas*.

Los explantes de *Laelia anceps* var. *chilapensis*, no han mostrado cambios perceptibles durante 30 días después de su siembra (figura 3). Se ha observado hasta ahora un 70% de sobrevivencia de los explantes de *Laelia anceps* var. *chilapensis*, los explantes han tomado coloración café claro.

Los resultados aquí presentados son parciales, no son concluyentes, se continuaran las observaciones hasta los 90 días.

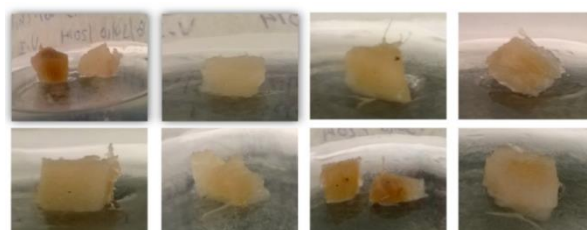


Figura 3 Explantes de *Laelia anceps* var. *chilapensis* a los 30 días.

Discusión y conclusión

Se observó hasta ahora que para la inducción de crecimiento en los explantes de cotiledón de *Jatropha curcas* es favorable la adición de 0.01 mg/l de fitohormona ANA a medio MS, observando germinación del 100% de los explantes a los 5 días. No se observaron cambios substanciales para *Laelia anceps* var. *chilapensis*, excepto la coloración café claro a los 30 días y el 70% de sobrevivencia hasta ahora. Las observaciones continúan.

Referencias

Alamillo, J. (2013). *Evaluación de la estabilidad genética de Laelia anceps. subsp. dawsonii Rolfe propagada in vitro, utilizando marcadores moleculares RAPD*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana, 53p.

Castañeda, M. (2008). *Propagación y Conservación de Lirio de Todos los Santos Laelia anceps. Lindl. subsp. anceps. f. semialba (Orchidaceae) a través de Cultivo de Tejidos*. Trabajo de Experiencia Recepcional. Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, 112p.

Halbinger, F. y Soto, M. (ed.) (1997). *Laelias of México, Orquidea (Mex)*, (Vol. 15). México, AMO, 116p.

Laguna, G., Padilla, A., Molina, M., Aviles, Z. y Bonomo, M. (2011). *Inducción de callogénesis en distintos explantos de Jatropha curcas L.* Seminario Internacional de *Jatropha*, INTA-EEA. Salta. Rep. Argentina, 25p.

Zamarripa, A., Ruiz, P., Solís, J., Martínez, J., Olivera, A. y Martínez, B. (2009). *Biocombustible: perspectivas de producción de biodiesel a partir de Jatropha curcas L. en el trópico de México*. Informe técnico núm. 12. Chiapas, MEX: INIFAP, 46p.