

Recibido: 19.05.2022 • Aceptado: 21.02.2023

Palabras clave: Propagación comercial, micropropagación, sistemas de inmersión temporal.

Cultivo de tejidos vegetales aliado en la propagación comercial de orquídeas



MARCO ANTONIO RAMÍREZ MOSQUEDA

amosqueda@cibnor.mx

DAVID RAÚL LÓPEZ AGUILAR

daguilan04@cibnor.mx

ANDRÉS ORDUÑO CRUZ

aorduno@cibnor.mx

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE S.C., UNIDAD GUERRERO NEGRO

La biotecnología mediante el cultivo de tejidos vegetales representa un aliado muy importante en la micropropagación comercial de orquídeas. En este artículo se abordan aspectos relevantes sobre la micropropagación de orquídeas y las innovaciones como el uso de sistemas de inmersión temporal (SIT). Con la finalidad de obtener la mayor cantidad posible de plantas a través del cultivo de tejidos vegetales.

El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta biotecnológica que permite el mantenimiento, crecimiento y desarrollo de dichos tejidos. En este sentido, es una alternativa para la propagación de especies vegetales que cuentan con problemas de reproducción tanto sexual como asexual (Dhiman *et al.*, 2020). Sin embargo, en los últimos años se ha convertido en una estrategia para la producción de plantas con interés agroalimentario, agroindustrial, medicinal y ornamental.

Las orquídeas son una familia de plantas que destaca por sus exuberantes flores y colores vistosos; no obstante, la propagación de éstas se ve afectada por la limitada germinación de semillas de manera natural; además de su tardío crecimiento para la obtención de hijuelos que sirvan como propágulos comerciales (parte de una planta

capaz de originar vegetativamente otro individuo). Por tal motivo, se han implementado prácticas de micropropagación comercial para diferentes especies de orquídeas con interés ornamental. En este artículo, se analiza cómo el cultivo de tejidos vegetales ha sido en las últimas décadas, una herramienta imprescindible en la obtención de propágulos comerciales de orquídeas. Así como un ejemplo práctico del uso de esta tecnología a favor de productores de ornamentales de la región.

Morfogénesis *in vitro*

A la respuesta que se obtiene en los tejidos vegetales cultivados *in vitro* se le conoce como morfogénesis. Textualmente, el término se refiere al “proceso biológico que lleva a que un organismo desarrolle su forma” (López-Puc *et al.*, 2021). Según Rocha *et al.* (2018). Existen dos procesos morfogenéticos que pueden ocurrir en tejidos vegetales cultivados en condiciones *in vitro*: 1) La organogénesis, la cual se refiere a la formación de órganos (brotes, raíces, hojas, etcétera) a partir de un ex-plante (fragmento de tejido vegetal, generalmente de 0.5-2 cm de longitud, útil en el establecimiento *in vitro*). 2) Embriogénesis, que es la formación de embriones a partir de células somáticas (cualquier célula de la planta que no sea sexual).





Especie	Medio de cultivo
<i>Cattleya and Laelia</i>	Knudson
<i>Dendrobium tosaense makino</i>	Murashige y Skoog
<i>Odontoglossum gloriosum</i>	Hydro-Coljapw® + ácido naftalenacético
<i>Vanda hybrids</i>	Medio PhytoTechnology Orchid Seed®
<i>Epidendrum ibaguense</i>	Mitra medio
<i>Cyrtopodium punctatum</i>	Medio PhytoTechnology Orchid Seed®
<i>Hoffmannseggella cinnabarina</i>	Knudson C + Benciladenina
<i>Cymbidium aloifolium</i>	Murashige & Skoog + Benciladenina + ácido naftalenacético
<i>Vanda dearei</i>	Knudson C
<i>Dendrobium</i>	Revisión (todo tipos de medios de cultivo)
<i>Dendrobium hookerianum</i>	Murashige & Skoog
<i>Hadrolaelia grandis</i>	Vacin & Went + Tidiazuron
<i>Paphiopedilum insigne</i>	½ Murashige & Skoog + Kinetina + ácido indolacético
<i>Laeliocattleya hybrid</i>	Murashige & Skoog + compuestos orgánicos
<i>Dendrobium officinale</i>	½ Murashige & Skoog
<i>Stanhopea tigrina</i>	Murashige & Skoog + compuestos orgánicos
<i>Paphiopedilum tigrinum</i>	½ Murashige & Skoog + Kinetina
<i>Anacamptis longicornu and Ophrys panormitana</i>	Medio Orchimax
<i>Cymbidium whiteae King & Pantl.</i>	Murashige & Skoog + Benciladenina
<i>Guarianthe bowringiana</i>	Knudson C

Tabla 1. Algunas especies de orquídeas micropropagadas por germinación asimbiótica de semillas.

Las dos respuestas morfológicas pueden transitar por un estado de desdiferenciación celular (estado en que las células no cuentan con las características que le permitan una función en específica, este estadio se conoce como callo diferenciado: las células de las hojas cuentan con altos contenidos de clorofila) y rápida división; este estadio se conoce como callo. La formación y regeneración de plantas *in vitro* a partir de dicho estadio ha funcionado para la obtención de nuevas formas y tipos de plantas (variación somaclonal). En orquídeas, las respuestas morfológicas *in vitro* que se han obtenido han sido diversas.

Propagación de orquídeas a través del cultivo de tejidos vegetales

Las semillas de orquídeas necesitan una asociación simbiótica con hongos micorrícicos (los hongos micorrícicos ayudan a facilitar nutrientes a las semillas de las orquídeas para poder germinar en la naturaleza). A partir de la década



Foto 1. Germinación asimbiótica de orquídeas a) semillas germinadas de *Stanhopea tigrina* después de seis semanas de cultivo en un medio MS (Murashige y Skoog) y b) semillas germinadas de un híbrido de *Cattleya* después de cuatro semanas de cultivo en un medio MS (Foto de Ramírez Mosqueda, 2022).



de 1920 se observó que las semillas de orquídeas podían ser germinadas de manera asimbiótica (este término se refiere a que las semillas de orquídeas germinan sin la presencia de hongos micorrícicos, condición que ocurre en bajos porcentajes en la naturaleza) en un medio artificial, compuesto por macro y micronutrientes, hormonas vegetales y compuestos orgánicos, necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Knudson, 1922). Además de realizarse en condiciones asépticas (libre de gérmenes y suciedad). Después de este descubrimiento, se fueron

presentando cada vez más casos de la germinación asimbiótica de semillas de orquídeas con interés ornamental (tabla 1). En la foto 1 se muestran semillas germinando a través del cultivo de tejidos vegetales.

Por su parte, se han desarrollado estudios de micropropagación comercial de orquídeas a partir del uso de sistemas de inmersión temporal (SIT). En este sentido, se pretende escalar al máximo el número de propágulos comerciales que se puedan obtener a través de la micropropagación.

Especie	SIT utilizado
<i>Phalaenopsis</i>	Biorreactor tipo globo
<i>Oncidium</i>	Biorreactor tipo globo
<i>Cattleya walkeriana</i>	Biorreactores de inmersión temporal
<i>Cymbidium sinense</i>	Biorreactor tipo globo
<i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	Recipientes de inmersión temporal automatizados
<i>Vanda tricolor</i>	Recipientes de inmersión temporal automatizados
<i>Bletilla striata</i>	Biorreactores de inmersión temporal
<i>Cattleya forbesii</i>	Recipientes de inmersión temporal automatizados
<i>Epipactis flava</i>	Biorreactores de inmersión temporal
<i>Guarianthe skinneri</i>	Biorreactores de inmersión temporal

Tabla 2. Especies de orquídeas con interés ornamental micropropagadas en SIT



Foto 2. Micropropagación de orquídeas en SIT. a) Recipiente de inmersión temporal automatizado (RITA®) con *Stanhopea tigrina* y b) Biorreactor de inmersión temporal (BIT) con un híbrido de *Cattleya* (Foto de Ramírez Mosqueda, 2022).



Foto 3. Micropropagación de orquídeas a escala comercial. a) micropropagación en laboratorio, b) aclimatización en invernadero y c) orquídea lista para la comercialización (Fotos de Ramírez Mosqueda, 2022).



Foto 4. Productores de ornamentales pertenecientes a Ornamentales Tropicales de Veracruz S.C. de R.L. (OTV) beneficiados a través del cultivo de tejidos vegetales de orquídeas (donación de plantas). (Foto de Ramírez Mosqueda, 2022).

Propagación de orquídeas en SIT

Los SIT son sistemas de cultivo *in vitro* novedosos, combinan los beneficios de los medios líquidos (la reducción de costos por la falta del agente gelificante) y evita desordenes fisiológicos como la hiperhidricidad (es un desorden fisiológico que puede ocurrir en el cultivo de tejidos de las plantas, relacionado a la acumulación de agua en las células vegetales) (Hwang *et al.*, 2022). Los SIT están representados por recipientes, denominados bio-reactores, que separan el medio de cultivo de los explantes (material vegetal) y se puede programar cuando se requiere que estén en contacto (inmersión) (Valdiani *et al.*, 2019). Existen diferentes marcas y diseños de bio-reactores; sin embargo, no todos son eficientes en la propagación de cualquier especie de orquídea. En la tabla 2 se muestran los estudios de micropropagación comercial de orquídeas con interés ornamental en SIT. En la foto 2 se muestran orquídeas micropropagadas en SIT.

Importancia del cultivo de tejidos vegetales en micropropagación de orquídeas

Las nuevas tecnologías han permitido el aumento en la propagación de orquídeas con interés ornamental. En este sentido, el cultivo de tejidos vegetales desde hace más de un siglo ha permitido establecer metodologías que ayuden a obtener un mayor número de especies de orquídeas, en menor tiempo y espacio. En la actualidad, se busca obtener el mayor rendimiento biológico (número de brotes por explantes), a través del uso de nuevos reguladores del crecimiento vegetal, nuevos sistemas de cultivo, nuevos medios de cultivo, nuevas fuentes de iluminación (LED); mediante la prueba de diferentes condiciones de incubación, diferentes tipos de explantes, entre otros. Este tipo de investigaciones resultan en un avance constante de información relevante sobre la micropropagación de orquídeas, con la finalidad de satisfacer la demanda ornamental de hoy en día. En la foto 3 se observa el proceso de micropropagación de orquídeas a escala comercial.

A la fecha, se siguen buscando sustancias con efectos bioestimulantes, efectos que generen beneficios morfológicos y fisiológicos en las orquídeas producidas. Uno de ellos es el silicio, el cual genera un aumento en las características morfológicas de orquídeas. Otro ejemplo es el quitosano, que promueve efectos benéficos en las características morfológicas y fisiológicas. Por último, también

MARCO ANTONIO RAMÍREZ MOSQUEDA

Es doctor directo en Ciencias en Ecología y Biotecnología por la Universidad Veracruzana y obtuvo el Postdoctorado en el Colegio de Postgraduados. Actualmente es investigador en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. y trabaja en el proyecto "Micropropagación de especies vegetales de zonas áridas".



están los brasinoesteroides, que ocasionan aumento en la multiplicación *in vitro* en diversas especies de la familia de orquídeas. En consecuencia, se considera que día a día se desarrollan investigaciones que permiten aumentar la propagación de orquídeas con fines comerciales.

Esta tecnología fue implementada para el beneficio de productores de ornamentales de la región Córdoba-Fortín del estado de Veracruz, pertenecientes a Ornamentales Tropicales de Veracruz S.C. de R.L. (OTV) (foto 4). Se aplicó el proceso descrito con anterioridad y se logró la donación de orquídeas obtenidas a través del cultivo de tejidos vegetales.

Conclusiones

El cultivo de tejidos vegetales ha permitido el aumento en la propagación de orquídeas con fines comerciales. Existen nuevas técnicas que aumentan el número de plantas obtenidas por cultivo de tejidos vegetales, algunos ejemplos los sistemas de inmersión temporal. En este caso en particular esta tecnología, anteriormente descrita se aplicó en la producción y donación de plantas a productores de ornamentales. 

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Veracruzano para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (COVEICYDET) por el financiamiento del proyecto 15 0325 que permitió la realización de este trabajo.



Referencias bibliográficas:

- Dhiman, M., L. Sharma, A. Singh, y M. M. Sharma (2020), "Ex situ conservation using in vitro methods of an endangered plant *Sterculia urens* Roxb.: a high volume trade plant for Gum Karaya", *Industrial Crops and Products*, 158: 113015.
- Hwang, H. D., S. H. Kwon, H. N. Murthy, S. W. Yun, S. S. Pyo y S. Y. Park (2022), "Temporary Immersion Bioreactor System as an Efficient Method for Mass Production of In Vitro Plants in Horticulture and Medicinal Plants", *Agronomy*, 12(2): 346.
- Knudson, L. (1922), "Nonsymbiotic germination of orchid seeds", *Botanical gazette*, 73(1): 1-25.
- López-Puc, G., J. Cano-Sosa, A. Ramos-Díaz, A. Uc-Vázquez. (2021). *Biotecnología Vegetal: Conceptos, técnicas y herramientas*. In: López-Puc, G., J. Cano-Sosa (Eds). *Alcances y perspectivas del área de Biotecnología Vegetal del CIATEJ en el Sureste de México*. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco A.C. pp 2-16.
- Rocha, D. I., L. M. Vieira, A. D. Koehler, & W. C. Otoni (2018), "Cellular and morpho-histological foundations of in vitro plant regeneration", in *Plant Cell Culture Protocols*, New York, *Humana Press*, pp. 47-68.
- Valdiani, A., O. K. Hansen, U. B. Nielsen, V. K. Johannsen, M. Shariat, M. I. Georgiev, V. Omidvar, M. Ebrahimi, E. T. Dinanai y R. Abiri (2019), "Bioreactor-based advances in plant tissue and cell culture: challenges and prospects", *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(1), pp. 20-34.