



**UNIVERSIDAD DEL MAR
CAMPUS PUERTO ESCONDIDO**

**EFFECTO DE REGULADORES DE CRECIMIENTO VEGETAL Y
TECNOLOGÍA LED EN LA MORFOGÉNESIS *IN VITRO* DE
Stanhopea martiana (Orchidaceae)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA FORESTAL**

**PRESENTA
JANNET SANDOVAL REAÑO**

**DIRECTOR DE TESIS
M. EN C. FRANCISCO GUMARO RUÍZ RUÍZ**

PUERTO ESCONDIDO, OAXACA

2020

Dedicatoria

A mi madre, quien ha dedicado su vida a darme lo mejor y motivarme a ser una mejor persona día a día, por ser una madre incansable y enseñarme a valorar lo que la vida nos da; A mi tío Noel por apoyarme toda la vida y motivarme a terminar una licenciatura, por su paciencia, cariño y sobre todo la confianza que ha puesto en mí: A mi abuelita Rosario por su enorme amor y mi abuelo Zoilo (DEP) quien nunca me abandonó y siempre creyó en mí.

Agradecimientos

A mi madre, mi tío Noel, mis tíos Eduardo, Hilaria, Leo, Porfirio, Reginaldo (DEP) y Mary, por todo el apoyo moral y económico.

A mi director de tesis el maestro Guma y su bella esposa la maestra Kari por el enorme apoyo para que todo esto fuera posible y por confiar en mí, así como los momentos divertidos que compartimos.

A los mejores amigos de mi vida Jousli, Zori, Levi, Eve, Chiki (DEP), Ferchis y Roci, por los momentos de risas que me motivaban a tener una mejor actitud ante la vida y me recuerdan que siempre hay alguien esperándote con los brazos abiertos; A los mejores amigos que conocí en la universidad: Diana, Erika, Nolbert y Laura, por hacer la estadía universitaria más divertida; A mi amigo Toño por su apoyo incondicional en el proceso de la tesis, por sus ocurrencias que hacían ver todo más fácil y sobre todo las risas que nunca nos faltaron; A mis primos: Jason, Josecito, Ximena, Brandon y Gi por los momentos de alegría.

A mis revisores de tesis: M. C. Rolando Galán, M.C. Ricardo García, el Dr. Narciso Ysac Ávila por su tiempo y apoyo; A todos los profesores de Forestal que me apoyaron en los 10 semestres de la carrera y a Emanuel Ruíz Triste por proporcionar su plantilla para formato de tesis.

A la Universidad del Mar por permitirme formarme profesionalmente dentro de sus aulas.

Resumen

Las orquídeas son un grupo de plantas que se identifican por la amplia variedad de colores y formas que poseen sus flores, que resultan atractivas para fines comerciales, ornamentales y religiosos, por esta razón han sido afectadas por la extracción masiva de ejemplares en su hábitat natural. México posee una gran diversidad de especies de la familia Orchidaceae y 190 de ellas se encuentran bajo protección en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, es preciso mencionar que muchas especies son endémicas del país y algunas de ellas son de difícil regeneración, por lo tanto, con el presente estudio se pretende estandarizar una metodología para el cultivo *in vitro* de la orquídea *Stanhopea martiana* aprovechando la totipotencialidad de las células en los segmentos de hojas, raíces y pseudobulbos, y de esta manera contribuir a su conservación. Para dicho estudio, se empleó el medio de cultivo basal Murashige & Skoog (MS) (1962), suplementado con tres reguladores de crecimiento de plantas a dos diferentes concentraciones, lo anterior fue utilizado para poder generar combinaciones con el ácido 1-naftalenacético (ANA), 6-N-bencilaminopurina (BAP) y el ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D); Se diseñó un experimento con 10 tratamientos para ser sometidos a la prueba de Chi cuadrado, cada tratamiento con cinco repeticiones, inducidos a diferentes longitudes de onda emitidas por diodos emisores de luz (LED), las tonalidades fueron: blanco, naranja, amplio espectro, rojo y rojo oscuro; Los resultados generados por el análisis estadístico, indican que el mejor tratamiento para la formación de brotes (regeneración), fue el tratamiento 6 con la combinación de $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BAP y $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ANA, bajo la iluminación de amplio espectro y rojo, con segmentos de pseudobulbos; el segundo mejor tratamiento fue el tratamiento 5 con la combinación de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BAP y $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ANA, bajo la iluminación rojo y rojo oscuro, con segmentos de hojas y pseudobulbos, y el tercer mejor tratamiento corresponde al tratamiento 2 con la combinación de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BAP y $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2, 4-D, con segmentos de pseudobulbos bajo iluminación naranja; Por lo tanto, se concluye que el uso de LEDs y reguladores de crecimiento de plantas en cultivos *in vitro*, potencializan la propagación de especies de difícil regeneración, así también reducen el tiempo que normalmente requiere un individuo para desarrollar raíces y pseudobulbos en condiciones naturales.

Abstract

Orchids are a group of plants that are identified by the wide variety of colors and shapes that their flowers possess, which are attractive for commercial, ornamental and religious purposes, for this reason they have been affected by the massive extraction of specimens in their natural habitat, Mexico has a great diversity of species of the Orchidaceae family and 190 of them are under protection in the Official Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010, it is necessary to mention that many species are endemic to the country and some of them are difficult to regenerate, therefore, with this study we aim to standardize a methodology for the *in vitro* cultivation of the *Stanhopea martiana* orchid, taking advantage of the totipotentiality of the cells in the segments of leaves, roots and pseudobulbs, and in this way contribute to their conservation. For this study, the Murashige & Skoog (MS) (1962) basal culture medium was used, supplemented with three plant growth regulators (PGR) in two different concentrations to generate combinations with: 1-naphthaleneacetic acid (ANA), 6-N-benzylaminopurine (BAP) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); An experiment was designed with 10 treatments to be subjected to the Chi square test, each treatment with five repetitions, induced at different wavelengths emitted by light emitting diodes (LED), the tonalities were: white, orange, full spectrum, red and deep red; The results generated by the statistical analysis indicate that, the best treatment for the formation of shoots (regeneration), was the treatment 6 with a combination of 1.0 mg L⁻¹ BAP and 0.5 mg L⁻¹ ANA, under full spectrum and red illumination, with segments of pseudobulbs; the second best treatment was the treatment 5 with a combination of 0.5 mg L⁻¹ BAP and 0.5 mg L⁻¹ ANA, under red and deep red illumination, with segments of leaves and pseudobulbs, and the third best treatment corresponds to the treatment 2 with a combination of 0.5 mg L⁻¹ BAP and 1.0 mg L⁻¹ of 2, 4-D, with segments of pseudobulbs under orange illumination; Therefore, it is concluded that the use of LEDs and PGR in *in vitro* cultures, potentiate the propagation of species of difficult regeneration, thus they also reduce the time that an individual normally requires to develop roots and pseudobulbs under natural conditions

CONTENIDO

LISTADO DE FIGURAS.....	iv
LISTADO DE CUADROS.....	vi
GLOSARIO DE TÉRMINOS	vii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	5
3.1. Objetivo general.....	5
3.2. Objetivos específicos	5
CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS	6
CAPÍTULO 5. JUSTIFICACIÓN	7
CAPÍTULO 6. ANTECEDENTES	8
6.1. Uso de iluminación LED en cultivo <i>in vitro</i>	8
6.2. Uso de reguladores de crecimiento en cultivo <i>in vitro</i>	10
6.3. Micropropagación <i>in vitro</i> del género <i>Stanhopea</i>	11
CAPÍTULO 7. MARCO TEÓRICO	15

7.1. Productos Forestales No Maderables (PFNM)	15
7.2. Morfología general de las orquídeas	16
7.2.1. Pseudobulbos	17
7.2.2. Hojas	18
7.2.3. Inflorescencia	19
7.2.4. Flores	20
7.2.5. Frutos	21
7.2.6. Semillas	22
7.3. Los polinizadores	22
7.4. Filogenia de la familia <i>Orchidaceae</i>	24
7.5. Morfología de <i>Stanhopea martiana</i>	26
7.6. Distribución del género <i>Stanhopea</i> en México	27
7.7. Cultivo <i>in vitro</i>	28
7.8. Medios de cultivo	29
7.8.1. Compuestos inorgánicos	30
7.8.2. Compuestos orgánicos	30
7.8.3. Complejos naturales	30
7.8.4. Soporte inerte	31
7.8.5. Comparación de la composición de los medios de cultivo	31
7.9. Hormonas vegetales	33
7.9.1. Auxinas	36
7.9.2. Citoquininas	37
7.9.3. Giberelinas	38
7.10. La fotosíntesis en las plantas	39
7.11. Desarrollo de la Tecnología LED	42
CAPÍTULO 8. MATERIALES Y MÉTODOS	45
8.1. Materiales	45
8.2. Preparación de medio de cultivo	46
8.2.1. Stock de reguladores de crecimiento	46

8.2.2. Medio MS.....	47
8.3. Preparación de los tratamientos.	48
8.4. Procesamiento de material vegetal	49
8.5. Conexión LED	50
8.6. Incubación.....	51
8.7. Análisis estadístico	52
CAPÍTULO 9. RESULTADOS Y DISCUSIONES	53
9.1. Análisis estadístico	53
9.2. Formación de brotes.....	55
CAPÍTULO 10. CONCLUSIÓN.....	59
CAPÍTULO 11. RECOMENDACIONES.....	61
ANEXO A. PREPARACIÓN DE REGULADORES DE CRECIMIENTO	63
A.1. Solución stock y diluciones.	64
REFERENCIAS	66