

## UN PROTOCOLO DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA PARA LA REGENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN *IN VITRO* DE *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*

### A PROTOCOL OF SOMATIC EMBRYOGENESIS FOR THE *IN VITRO* REGENERATION AND CHARACTERIZATION OF *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*

Hilda E. Lee Espinosa<sup>1, 2\*</sup>, Antonio Laguna Cerda<sup>1</sup>, Joaquín Murguía González<sup>2</sup>, Lourdes Iglesias-Andreu<sup>3</sup>, Benjamín García Rosas<sup>2</sup>, Diana Escobedo López<sup>1</sup>, Yolanda M. Martínez Ocampo<sup>2</sup>, Felipe A. Barredo Pool<sup>4</sup> y Nancy Santana Buzzy<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Centro Universitario “El Cerrillo” Km. 15 Carretera Toluca-Ixtlahuaca. <sup>2</sup>Lab. de Cultivo *in vitro* de Tejidos Vegetales, Facultad de Ciencias Biológicas-Agropecuarias, Universidad Veracruzana. Km. 1, Carretera Peñuela-Amatlán, Peñuela, Mpio. de Amatlán de los Reyes, Veracruz. Tel-Fax: (271)71-66410 y 66129. <sup>3</sup>Lab. Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA), Universidad Veracruzana. 91001, Xalapa, Veracruz, México. <sup>4</sup>Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43 Núm. 130, Col. Chuburná de Hidalgo. 97200, Mérida, Yucatán, México.

\* Autor para correspondencia (kalapana\_66@hotmail.com, hlee@uv.mx)

#### RESUMEN

*Laelia anceps* subespecie *dawsonii*, es una de las orquídeas silvestres mexicanas más apreciadas, con potencial ornamental por sus atractivas características que le permiten cumplir estándares internacionales de calidad y la convierten en una especie económicamente importante. Ello ha provocado su colecta excesiva y el consecuente riesgo de extinción. Para asegurar su conservación, es necesario desarrollar protocolos eficientes de propagación para esta especie, que permitan su uso sustentable y reduzcan la colecta. La embriogénesis somática constituye una tecnología eficiente para la multiplicación *in vitro* de especies vegetales. En este estudio, se evaluaron las condiciones *in vitro* para desarrollar un protocolo de embriogénesis somática para *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*. A partir de semillas se indujo callo embriogénico en el medio Murashige y Skoog suplementado con ácido naftalénacético (ANA), 6-bencilami-nopurina (BAP), cinetina (Kin) y ácido indol acético (AIA), en combinaciones múltiples. La combinación ANA+BAP+AIA (2 mg L<sup>-1</sup> de cada una) resultó óptima para inducción de callo pues produjo 611 embriones somáticos en fotoperiodo de 16 h (33.8 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), con tres subcultivos a intervalos de 45 d en el mismo medio de cultivo, en el que además los embriones desarrollaron plántulas completas. En aproximadamente tres meses, las plántulas alcanzaron 4 a 5 cm en el medio Vacin y Went suplementado con BAP (2 mg L<sup>-1</sup>), AIA (1 mg L<sup>-1</sup>) y carbón activado (0.2 %), y después de 30 d, se aclimataron en invernadero, con 95 % de sobrevivencia.

**Palabras clave:** *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*, cultivo *in vitro*, embriogénesis somática, Orchidaceae.

#### SUMMARY

*Laelia anceps* ssp. *dawsonii* is one of the most appreciated Mexican wild orchids, with attractive characteristics for ornamental potential according to international standards. It has become an important economic species, subjected to excessive collection and risk of extinction. To ensure its conservation, it is necessary to develop efficient propagation protocols which allow its sustainable utilization and reduce collection. Somatic embryogenesis is an efficient technology for *in vitro* plant multiplication. In this study we evaluated *in vitro* conditions for developing a somatic embryogenesis protocol for *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*. Embryogenic calli was induced from mature seeds, in a Murashige and Skoog medium supplemented with multiple combinations of naphthalene acetic acid (NAA), 6-benzylaminopurine (BAP), kinetin (Kin) and indole 3 acetic acid (IAA). The combination NAA+BAP+IAA (2.0 mg L<sup>-1</sup> each) was optimal for callus induction, producing 611 embryoids in a 16 h photoperiod (33.8 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) when subcultured every 45 d on the same medium. This conditions allowed for complete plantlet development. In approximately three months, plantlets achieved 4-5 cm in a V&W medium supplemented with BAP (2 mg L<sup>-1</sup>), AIA (1 mg L<sup>-1</sup>) and 0.2 % activated charcoal; after 30 d plantlets were acclimatized in a greenhouse with 95 % survival rate.

**Index words:** *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*, *in vitro* culture, somatic embryogenesis, Orchidaceae.