



Iris Suárez\*, Estela Sandoval, Mabel Hernández & Víctor M. Chávez

Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales

Jardín Botánico

Instituto de Biología, UNAM

Mexico

Author for correspondence: iris\_suarez82@yahoo.com.m

**Determinación histológica de regenerantes de *Euchile mariae* (Ames) Withner (Orchidaceae), obtenidos a partir de protocormos cultivados *in vitro***

A partir de la germinación de semillas de *Euchile mariae* en medios KC y MS modificados, se logró la formación de protocormos. Una vez que éstos alcanzaron un tamaño promedio de 2 a 5 mm de longitud y la formación de su primer primordio foliar, fueron utilizados como explantes para inducir una respuesta morfogénica. Por medio del cultivo *in vitro* de secciones apicales y basales de éstos, en medio MS modificado adicionado con distintas concentraciones de ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) y benciladenina (BA), se logró la formación de estructuras semejantes a protocormos: PLB's (protocorm like bodies), y su posterior desarrollo hasta la formación de plantas completas. El propósito de este trabajo fue determinar la identidad de los regenerantes formados a partir de ambas secciones de protocormos, así como conocer los procesos de desarrollo que se llevaron a cabo. Para alcanzar estos objetivos, se fijaron en Navashin muestras de los regenerantes de cada fracción del protocormo a los 35, 65 y 120 días de su cultivo. A través de las técnicas histológicas convencionales, se procesaron estas muestras deshidratando en series graduales de ATB, infiltrando e incluyendo en parafina histológica (58°). Los cortes histológicos se realizaron con un microtómo de rotación y se tiñeron con safranina-verde rápido. La toma de fotomicrografías, así como la observación de las estructuras y tejidos se realizó con un fotomicroscopio Carl Zeiss-Axioskope. Se hicieron pruebas histoquímicas para la detección de contenidos celulares.

La similitud morfológica de las primeras etapas del desarrollo, de las estructuras obtenidas con respecto a los protocormos de esta misma especie, nos permitió definirlos como PLB's. Mediante el análisis histológico de estas estructuras se pudo constatar que estos PLB's resultaron ser embriones somáticos, por lo que la vía morfogénica seguida bajo las condiciones de este cultivo, fue embriogénesis somática directa. Así mismo, se reportan las diferentes etapas del desarrollo de estos embriones somáticos hasta su formación en una planta completa. Con las pruebas histoquímicas realizadas, se detectó la presencia de contenidos celulares, tales como: proteínas con azul negro de naftol, lípidos con sudán IV y almidón con lugol; estos contenidos se encontraron al interior de las células del tejido inicial (secciones de protocormos), así como en las células de los embriones. Este es uno de los pocos estudios a nivel global, que determina fehacientemente la identidad de los regenerantes.