

## **ESTUDIO HISTOLÓGICO DE DIFERENCIACIÓN *in vitro* DE ORQUÍDEA CHILENA DEL GÉNERO *Chloraea***

**Evaldo Hernán Pape Carrasco**  
**Ingeniero Agrónomo**

### **RESUMEN**

Se estudió, mediante cortes histológicos, el desarrollo *in vitro* de plántulas de orquídea nativa del género *Chloraea*.

Este material fue previamente clasificado en laboratorio de acuerdo a caracteres morfológicos. Se determinaron siete estados. El estado 0 se asignó a la semilla seca; estado 1 a la semilla *in vitro* con las primeras divisiones; estados 2 protocormo (embrión no diferenciado); estado 3 protocormo más desarrollado con numerosas divisiones; estado 4 con dos extremos, apical aguzado y basal ancho, con apariencia de botella; estado 5 desarrollo abundante de pelos en la zona basal; estado 6 desarrollo de clorofila en el extremo apical, aumento en grosor de la zona basal; estado 7 extremo apical bifurcado por desarrollo de hojas, raíz lateral inhibida.

El material se fijó en FAA e incluyó en parafina. Se hicieron cortes de 16 micrones en micrótomo manual, los cuales se tiñeron con hematoxilina, safranina y fast green. El contenido de almidón se detectó con ioduro de potasio. Los cortes se montaron en Entellan y se tomaron fotografías al microscopio óptico.

Se observó que en la semilla seca aparecen dos regiones, una meristemática y otra parenquimática. En el estado 4 la región meristemática origina primordios foliares; y en el centro del protocormo se originan las células procambiales, de las cuales surge el xilema de tipo helicoidal que se observó en el

estado cinco. La zona del parénquima asume una función de reserva de almidón. En la etapa 7, se observó que la aparición de la raíz lateral surge a partir del meristema caulinar, en la zona en que se diferencian los cordones de xilema bajo el meristema apical del tallo.

Este estudio no sólo permitió establecer relaciones entre las características morfológicas externas y la estructura interna en las primeras etapas del desarrollo *in vitro* de *Chloraea* sp, sino también observar que la formación del eje caulinar ocurre previo a la formación del eje radicular. La zona en que debía existir un polo radicular corresponde a un tejido parenquimático almacenador, que aporta la energía necesaria para el proceso de diferenciación de raíces. Esto indica que en el proceso de embriogénesis cigótica no están simultáneamente presentes ambos meristemas, como ocurre en otras monocotiledóneas (gramíneas)

## ABSTRACT

It was studied, by means of histological cuttings, the vitro development of seedlings of Chilean native orchids of the *Chloraea* genus.

This material was previously classified in laboratory, according to morphological characters. Seven stages were determined. The stage zero was assigned to the dry seed; stage one to the *in vitro* seed with the first divisions; stage two protocorm (undifferentiated embryo), stage three more developed protocorm with numerous divisions; stage four with two tips, sharp apex and wide base, with appearance of bottle; stage five abundant hair development of basal area; stage six development of chlorophyll in the apical tip, thickening of the basal area; stage seven apical tip bifurcated because of the development of leaves and lateral root inhibited.

The material was fixed in FAA and included in parafin. Cuttings of 16 microns in a manual microtome were made, they were stained with hematoxilin, safranin and fast green. The starch presence was detected with potassium iodide. The cuttings were put in Entellan and photographed in an optical microscope.

It was observed that in the dry seed there appear two regions, one meristematic and the other parenchymatic. In the stage four the meristematic region originates leaf primordia and in the middle part of the protocorm the procambial cells are originated, emerging from this tissues the helicoidal xylem, observed in stage five. The parenchymatic area plays a role of starch storage. The apparition of the lateral root, arising from the caulinar meristem, was observed at the stage seven, in the region where the procambial strands of xylem are differentiated below the shoot apex meristem.

This study not only allowed to establish the relationships between morphological external characteristics and the internal structure in the first stages of development of *Chloraea* sp. in vitro, but also to observe that the formation of caulinar axis preceeds the root axis formation. The area in which there should be a

root pole corresponds to a storage parenchymatic tissue, giving the energy to the process of root differentiation. This results indicates that in the process of zygotic embryogenesis there are not simultaneously present the plumular and radicular meristems, as in other monocotyledons (gramineae).