ISSN: 2448-8461

Aplicaciones biotecnológicas y medicinales de los metabolitos secundarios en orquídeas

Braulio Edgar Herrera Cabrera[1], Rafael Salgado Garciglia[2], Jorge Montiel Montoya[3], Alejandra Hernández-García[1], Adriana Delgado Alvarado[2], Víctor Manuel Ocaño Higuera[4], Luis Germán López Valdez[5], Luz María Basurto González[6], Hebert Jair Barrales-Cureño[6]*

[1]Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores, C.P. 72760, No. 205 Santiago Momoxpan, Puebla.

[2]Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México.

[3]Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-IPN. Boulevard Juan de Dios Bátiz No. 250, Col. San Joachín, Guasave, Sinaloa, México.

[4]Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Hermosillo C.P. 83000, México.

[5]Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química. AP74 Oficina de correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Texcoco, Estado de México, México.

[6]*Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora, Carrera en Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable. Carretera Zamora-La Piedad, El Sáuz de Abajo. C.P. 59720 Zamora, Michoacán, México. Correspondign author: hebert.bc@zamora.tecnm.mx

ISSN: 2448-8461

RESUMEN

Las orquídeas son angiospermas que pertenecen a la familia Orchidaceae. Los metabolitos secundarios de las orquídeas medicinales se utilizan para el tratamiento de la diabetes, como anti-inflamatorios, antitumorales, antipiréticos, antiagregación plaquetaria, actividad antioxidante, diurética e hipotensiva y por su efecto inhibitorio de la polimerización de la proteína de la tubulina. En la actualidad, muchos laboratorios comerciales de Europa, Norteamérica y el sudeste asiático producen anualmente millones de plántulas de orquídeas. Los objetivos de esta investigación son: mencionar la actividad farmacológica de las orquídeas medicinales, los metabolitos secundarios biosintetizados por orquídeas y su producción *in vitro*.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, orquídeas medicinales, peligro de extinción.

ABSTRACT

Orchids are angiosperms belonging to the Orchidaceae family. The secondary metabolites of medicinal orchids are used for the treatment of diabetes, as anti-inflammatory, anti-tumor, anti-pyretic, anti-platelet aggregation, anti-oxidant, diuretic and hypotensive activity and for their inhibitory effect on tubulin protein polymerization. Currently, many commercial laboratories in Europe, North America and Southeast Asia produce millions of orchid seedlings annually. The objectives of this research are: to mention the pharmacological activity of medicinal orchids, secondary metabolites biosynthesized by orchids and their *in vitro* production.

Keywords: *in vitro* culture, medicinal orchids, endangered.

ISSN: 2448-8461

1 Introducción

Las orquídeas forman una parte importante de la vegetación a escala mundial. Existen de 30,000 a 35,000 especies agrupadas en 750 géneros taxonómicos (Hossain 2011). Están ampliamente distribuidas, desde los trópicos hasta las altas montañas, y se adaptaron en diferentes tipos de hábitats (epífitos, terrestres y saprofitos) (White y Sharma 2000). Alrededor del 70% de las orquídeas del mundo son epífitas y/o litófitas, el 25% son terrestres y el 5% crecen en hábitats mixtos (litófitos, epífitos y terrestres). Según los informes, los principales géneros de orquídeas citados son: *Angraecum* (200 especies), *Bulbophyllum* (1000 especies), *Calanthe* (150 especies), *Catasetum* (100 especies), *Dendrobium* (900 especies), *Encyclia* (235 especies), *Eulophia* (200 especies), *Epidendrum* (800 especies) y *Vanilla* (100 especies). Asia contiene la reserva dominante de orquídeas en el mundo de especies de *Cymbidium, Dendrobium, Oncidium* y *Phalaenopsis*. Sin embargo, en la India se registraron aproximadamente 158 géneros con 1331 especies de orquídeas (Hossain 2011). A nivel medicinal se utilizan los bulbos, pseudo-bulbos y raíces de las orquídeas (Singh y Duggal, 2009). Los géneros de orquídeas nativas registrados en la India son *Arachnis, Cymbidium, Dendrobium, Paphiopedilum* y *Vanda* (Sarmah et al. 2017). Las orquídeas poseen una inmensa diversidad bioquímica, fisiológica y genética. A nivel molecular, en orquídeas se realizan estudios de análisis transcriptómico, metabolómico, genómico, proteómico, HPLC, biología molecular, cultivo de capa celular fina transversal (tTCL), cultivos *in vitro*, fitopatología, nutrición, plagas, entre otros estudios.

2 Metabolitos secundarios en orquídeas

Se han extraído metabolitos secundarios tales como la dendrobina a partir de la orquídea *Dendrobium candidum* para tratar la diabetes (Shiau et al 2005); coeloginantridina y coeloginantrina a partir de *Coelogyne cristata* con actividades de fitoalexinas y reguladores de crecimiento vegetal endógenos (Naing et al., 2010); 4-hidroxibenzaldehido de *Anoectochilus formosanus* con actividad anti-inflamatoria (Wu et al 2010); dendinobina de *Dendrobium nobile* con actividad antitumoral; dendrocrisaneno de *Dendrobium chrysanthum* con actividad anti-pirética (Mohanty et al., 2013); escoparona de *Dendrobium densiflorum* con actividad anti-agregación plaquetaria (Pradhan et al., 2013); fimbriatona de *Dendrobium fimbriatum* con actividad anti-tumoral (Paul et al., 2017); rutinósido de *Anoectochilus roxburgghii* con actividad antioxidante (Jin et al., 2017); cymbidina A de *Cymbidium goeringii* con actividades diurética e hipotensiva (Park et al 2018); blestrianol A de *Bletilla striata* con efecto inhibitorio de la polimerización de tubulina; heptacosano y octacosanol a partir de *Vanda tessellata* con actividad anti-inflamatoria (Manokari et al 2020). En la **Figura 1** se

ISSN: 2448-8461

aprecian los principales metabolitos secundarios sintetizados por las orquídeas. Las orquídeas producen 50 o más aromas que atraen a los polinizadores, la luz visible y las imágenes UV desempeñan un papel importante en la atracción, además del olor y la morfología. Muchos de estos compuestos aromáticos se identificaron en los últimos 20 a 30 años. En la **Tabla 1** se aprecian los principales genes que participan en el aroma de las orquídeas. Las antocianinas y otros pigmentos determinan los patrones de luz visible y ultravioleta (UV) de las orquídeas. Tras la polinización, las antocianinas se degradan en algunas orquídeas (por ejemplo, *Vanda*) y producidas en otras (por ejemplo, *Cymbidium*).

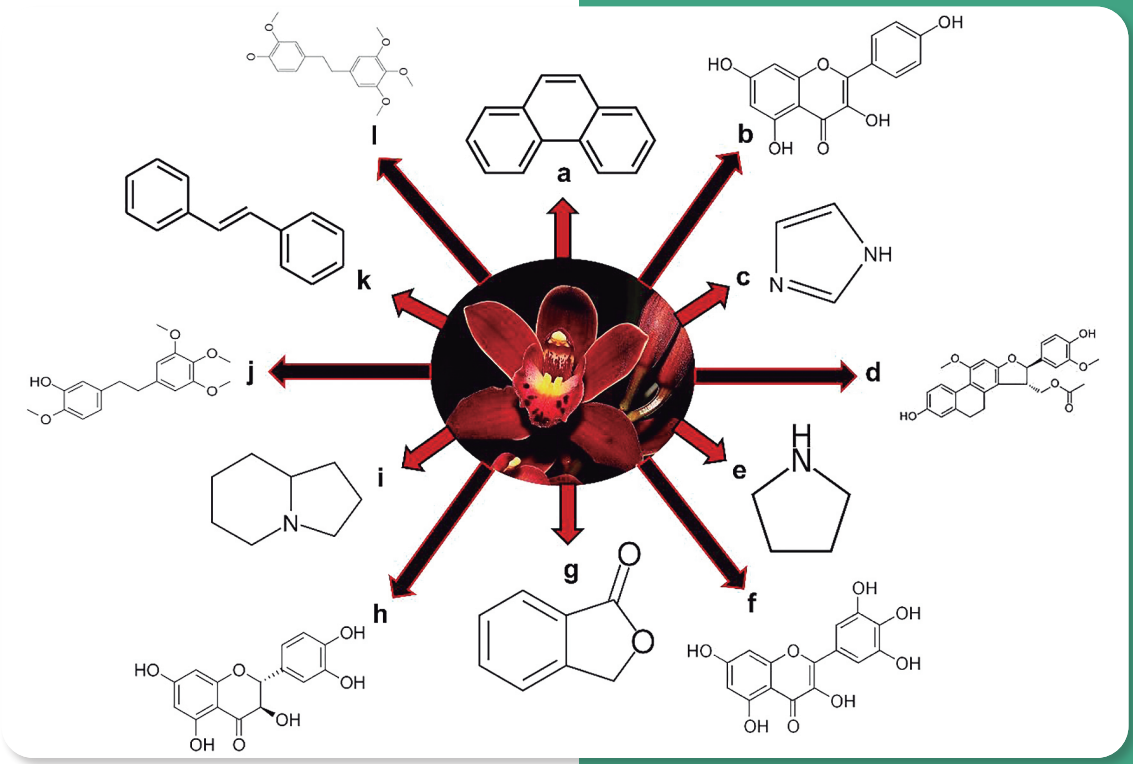


Figura 1. Principales metabolitos secundarios biosintetizados en plantas de orquídeas.
a) Fenantreno ($C_{14}H_{10}$, 178 g/mol);
b) Kaempferol ($C_{15}H_{10}O_6$, 286 g/mol);
c) Imidazol ($C_3H_4N_2$, 68 g/mol);
d) Pleionesina C ($C_{27}H_{26}O_7$, 462 g/mol);
e) Pirrolidina (C_4H_9N, 71 g/mol);
f) Miricetina ($C_{15}H_{10}O_8$, 318 g/mol);
g) Phthalida ($C_8H_6O_2$, 134 g/mol);
h) Dihidroquercetina ($C_{15}H_{12}O_7$, 304 g/mol);
i) Indolizidina ($C_8H_{15}N$, 125 g/mol);
j) Erianina ($C_{18}H_{22}O$, 5318);
k) Estilbeno (C14H12, 180 g/mol) y
l) Crepidatina ($C_{18}H_{22}O$ 5318.37, g/mol).
Elaboró: Autores.

Gen de esencia floral	Ruta del metabolismo	Especies	Referencia
PbGDS	Terpenoides	*Phalaenopsis bellina*	Hsiao et al., 2008
VMPAAT	Terpenoides	*Vanda species*	Chan et al., 2011
VMDXS	Terpenoides	*Vanda Mimi Palmer*	Mohd-Hairul et al., 2010
GdEGS	Bencenoide	*Gymnadenia species*	Gupta et al., 2014
OsSAD1	Bencenoide	*Ophrys sphegodes*	Paulus y Gack, 1990
Factores de transcripción (Tfs)			
CsMYB1	Fenilpropanoide/ bencenoide	*Cymbidium cv.*	Ramya et al., 2019
PbbZIP4	Monoterpenos	*Phalaenopsis aphrodite*	An et al., 2012
PbBHLH2	Monoterpenos	*Phalaenopsis bellina*	Hsiao et al., 2006

Tabla 1. Genes responsables de las esencias florales en extractos de orquídeas.

ISSN: 2448-8461

3 Actividad farmacológica y antioxidante

El uso de orquídeas en fitoterapia tiene una larga historia. Un total de 365 plantas, entre ellas varias orquídeas, figuran en la primera Materia Médica (Shen Nung Pen-tsao Ching). En la que se describen algunos de los efectos farmacológicos de las orquídeas. En la **Figura 2** se muestran las aplicaciones de las orquídeas. Las sustancias activas antibacterianas intervienen en el proceso de prevención de reacciones inflamatorias causadas por las infecciones bacterianas. La familia *Orchidaceae* contiene diversas sustancias activas con efectos bacteriostáticos, como fenantreno, alcaloides y fenilpropainoides. Yuan Jia et al. (2010) descubrieron que tres compuestos de fenantrina, shanciol H, cebusylene y pleionesin C, presentaron un efecto inhibidor sobre *Staphylococcus aureus*. Nueve bacterias de ensayo mostraron un diámetro del círculo de inhibición superior a 15 mm para alcaloides totales a una concentración de 240 µg/mL, lo que indica que el efecto bacteriostático es de

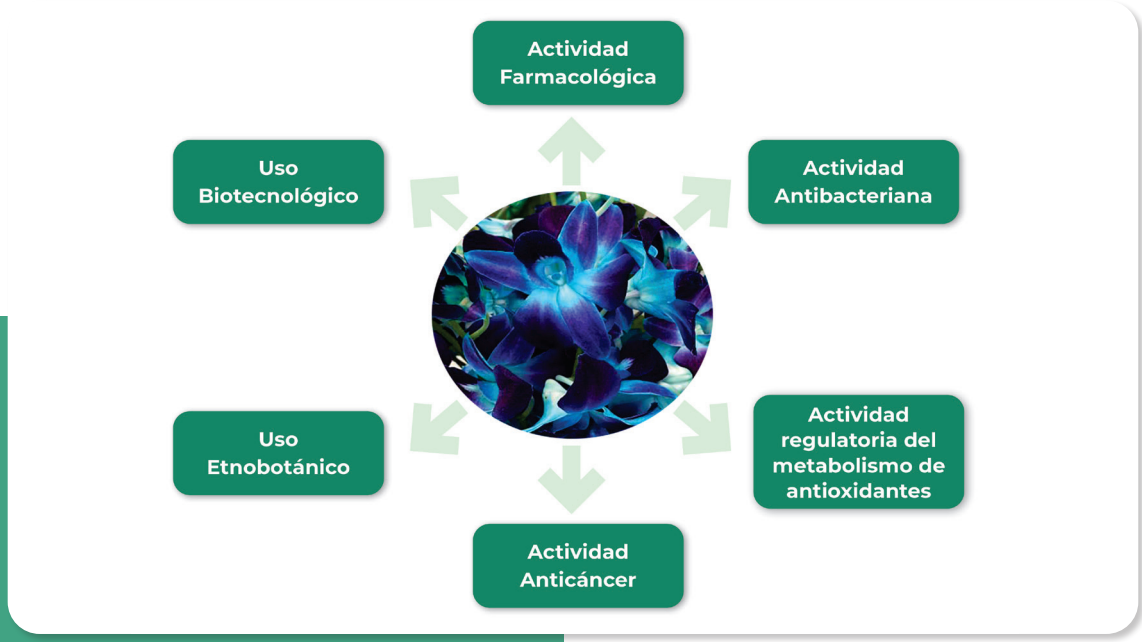


Figura 2. Aplicaciones biotecnológicas y medicinales de los metabolitos secundarios de las orquídeas. Elaboró: Autores.

amplio espectro y altamente sensible (Dong et al., 2010). El mecanismo consiste en que los metabolitos secundarios actúan principalmente como bacteriostáticos al interferir en el metabolismo normal de las cepas, provocando la muerte de las bacterias patógenas, alterando la membrana celular de la cepa y la estructura de la pared celular o al interferir con el metabolismo mitocondrial (fúngico), destruyendo el metabolismo de las bacterias patógenas, inhibiendo su reproducción metabólica (Liu et al., 2023). Los radicales libres son sustancias muy activas, y su acumulación excesiva puede causar daños en el organismo. Sin embargo, hay formas de equilibrar el metabolismo de los radicales libres, como eliminarlos, inhibir su actividad o activar el sistema antioxidante del organismo. Esto ayuda a ralentizar la oxidación celular y a prevenir el envejecimiento (Fang et al., 2015). Los investigadores han realizado estudios sobre los antioxidantes de las orquídeas medicinales. Los metabolitos secundarios del fenantreno tienen una actividad eficaz contra la elimina-

ISSN: 2448-8461

ción de radicales libres y a una concentración de 100 µg/mL, demostraron una tasa de eliminación de DHHP del 80%. También, investigaron una categoría particular de polifenoles con mayor actividad antioxidante que la de la vitamina C (Li et al., 2019). Además, los bibenciloides, encontrados en *D. heterocarpum*, tienen una elevada actividad en el barrido de radicales libres, con el IC_{50} de los radicales ABTS y DPPH radicales siendo 36.41 ± 1.99 y 62.05 ± 3.40 µmol/L, respectivamente (Yang et al., 2019). Las mesoantocianidinas también tienen propiedades antioxidantes, con una actividad de barrido del radical hidroxilo (OH-) de 147,36 U/mL, un DPPH de 85.43% y O2- a 18.02% (Lv et al., 2017). Estos hallazgos ofrecen abundantes fuentes para el desarrollo de antioxidantes. Sin embargo, algunas investigaciones sugieren que estos compuestos antioxidantes también pueden tener efectos negativos en el cuerpo humano. Por lo tanto, es importante considerar cuidadosamente la dosificación y los métodos de aplicación de estas sustancias en el ámbito clínico.

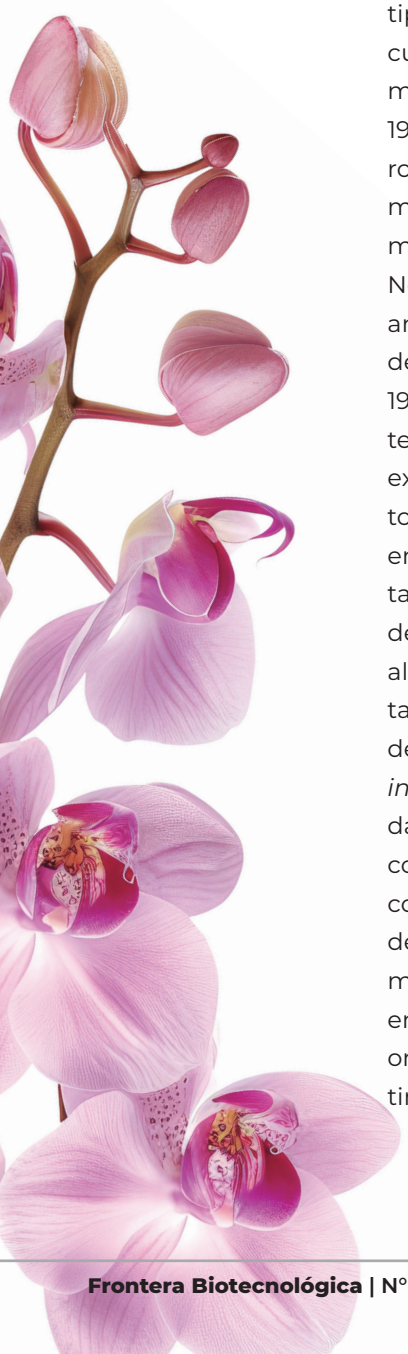
4 Actividad biológica contra las células cancerosas

En 2019, la Organización Mundial de la Salud estimó que el cáncer es la principal segunda causa de muerte entre los individuos menores de 70 años en 112 países de todo el mundo, con 9,958 millones de muertes debidas al cáncer solo en 2020 (Cao y Chen, 2021). La identificación de sustancias biológicamente activas específicas de orquídeas abre posibilidades para la investigación del cáncer, como la camptotecina (de *Camptotheca*), paclitaxel (corteza de *Taxus*), vincristina (bígaro), topotecán (derivado de la camptotecina) y el etopósido (un derivado del podofileno) (Barrales et al., 2015). Las orquídeas medicinales contienen variedad de metabolitos secundarios con efectos antitumorales, que se manifiestan como: inhibición de células cancerosas, citotoxicidad, inducción de la apoptosis e inhibición de la metástasis y la diseminación. La aparición y desarrollo de pseudópodos filamentosos celulares es una estructura característica del movimiento celular, puede determinarse observando si los pseudópodos se extienden hacia el exterior. La foyunnanina E disminuyó significativamente el número de pseudópodos en las células H460 de cáncer de pulmón, así como la supresión de la migración celular mediante la regulación a la baja de las proteínas αv, β3 y reguladoras de la migración. Además, tiene un efecto inhibidor significativo sobre la migración de H292 y A549 de células humanas de cáncer de pulmón (Petpiroon et al., 2017). Los derivados de metabolitos secundarios derivados de orquídeas medicinales demostraron actividad anticancerígena. El derivado bibencil moscatilina indujo la apoptosis en células de melanoma mediante la regulación de la familia p53, inhibiendo la proteína antiapoptótica Bcl-2 y activando la proteína proapoptótica Bax (Cardile et al., 2020). Además, se demostró que la moscatilina aumentó la sensibilidad de las células de cáncer de esófago a la radioterapia (Chen et al., 2019).

ISSN: 2448-8461

5 Producción *in vitro*

Existen medios de cultivo nutritivos designados para la crecimiento, control y multiplicación de orquídeas. El medio Knudson C se utiliza para la siembra *in vitro*, el medio Murashige y Skoog (1962) se utiliza para la propagación clonal. La adición de varios compuestos orgánicos es útil para complementar las sustancias biosintetizadas por las células y cubrir las necesidades metabólicas, energéticas y estructurales de la célula (Caldas et al., 1998). Las orquídeas pueden multiplicarse a una tasa de crecimiento alta por cultivo *in vitro* a partir de puntas de brotes o meristemos de orquídeas *Cymbidium* (Morel, 1960). Esta técnica se utilizó para varios géneros taxonómicos y aplicación práctica casi inmediata en la década de 1970. Actualmente, muchos laboratorios comerciales de Europa, Norteamérica y el sudeste asiático producen anualmente millones de plántulas de orquídeas utilizando esta metodología (Bornman, 1993). La técnica biotecnológica del cultivo de tejidos vegetales *in vitro* es una herramienta exitosa para la generación de cultivos de protocormos (estadio morfológico intermedio entre un embrión cigótico y un vástago), puntas de brotes, segmentos nodales, segmentos de rizoma axénico, pseudobulbos (órgano de almacenamiento que deriva de parte de un tallo entre dos nódulos de hojas), segmentos de brotes apicales y germinación de semillas *in vitro* que produzcan metabolitos secundarios de gran importancia farmacéutica. La conservación *in vitro* permite mantener bajo condiciones controladas el mantenimiento de orquídeas en peligro de extinción. La Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001) enlista aproximadamente 200 especies de orquídeas en alguna categoría de riesgo (extintas, en peligro de extinción, amenazadas y sujetas a protección especial) (Soto et al., 2007). En Oaxaca, existen grandes poblaciones de orquídeas amenazadas que son sobre colectadas en otros estados; por ejemplo, las especies *C. pendula* en Michoacán, así como *P. vitellina*, *O. incurvum*, *R. cordata*, *R. ehrembergii*, *R. rosii* y *S. oculata*, en Puebla, Oaxaca y Veracruz presentan problemas, de las cuales se deben de programar protocolos *in vitro* para preservar estas especies (Soto y Solano, 2003). Las orquídeas del género *Laelia* crecen en el bosque y cada día su supervivencia es de mayor incertidumbre y vulnerabilidad por la colecta clandestina. *Laelia goludiana* es la única orquídea conocida, que se extinguió en su ambiente natural. Oficialmente, de las más de 1,200 especies de orquídeas mexicanas reportadas, 15 están en peligro de extinción, 107 requieren protección especial, una se reporta extinta en el medio natural y 58 están amenazadas (NOM-059-ECOL-2001). La **Tabla 2** presenta una recopilación de trabajos de investigación actualizados a nivel *in vitro*.



ISSN: 2448-8461

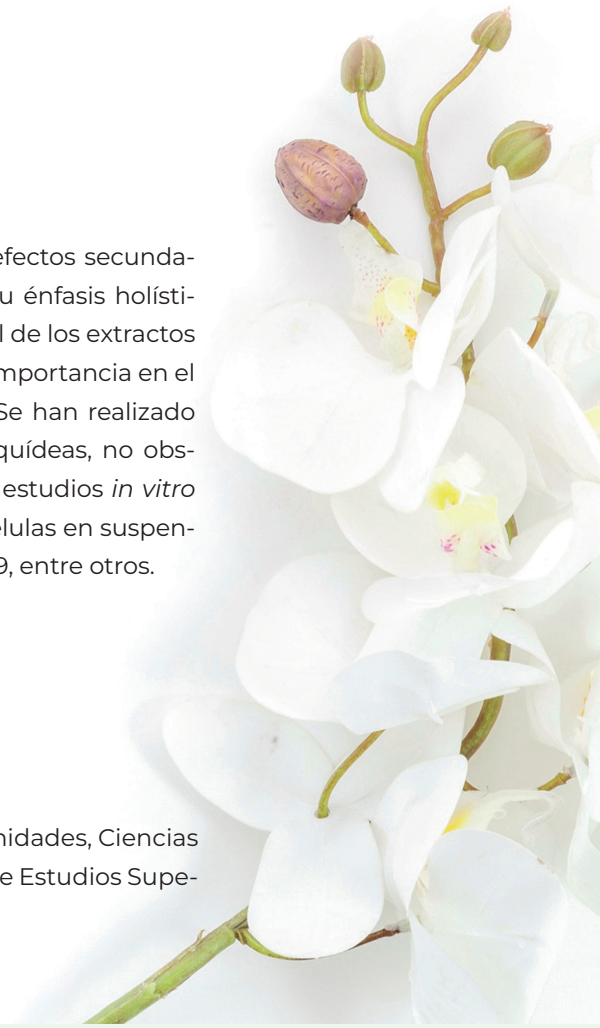
Especie	Fuente de explante	Tratamiento de inducción	Referencia
Vanda tessellate (Roxb.) Hook. ex *G. Don*	Semillas	Medio MS produjo la máxima germinación de semillas (94%). Medio MS + 2.0 mg L−1 BAP + 0.5 mg L−1 IAA produjo la mayor inducción de callos (89.4%).	**Manokari et al 2021**
Vanda pumila Hook.f.	Protocormos	Elevada producción de brotes (9.50 ± 0.29) por cultivo en medio ½ MS + 1.0 mg L−1 KN + 10% CW	**Maharjan et al 2019**
Phalaenopsis amabilis (L.) Blume	Puntas de brotes	Inicialización del cultivo a partir de explantes de puntas de brotes con 1/2 MS + 3% (w/v) sucrosa + 0.1 g L−1 mioinositol, 2 mg L−1 thidiazuron + 1 mg L−1 BAP.	**Farrokhzad et al 2022**
Phalaenopsis amboinensis	Semillas	Mejor germinación de semilla (90.7 %) y desarrollo de protocormos (51,4 %) en medio VW.	**Utami et al 2019**
Ludisia discolor	Segmentos nodales	Explantes tratados con 0.40% de $HgCl_2$ produjo la mejor supervivencia (63.1%) y tasa de crecimiento (22.5%). El tratamiento 1/2 MS + 1.0 mg L−1 NAA + 0.1 mg L^{-1} TDZ + AC (0.2%) + 8% homogeneizado de cultivo de banano + 3% sucrosa genero la máxima sobrevivencia (42%) y tasa de crecimiento vegetal (19.6%)	**Poobathy et al., 2019**
Eulophia dabia	Segmentos de rizoma axénico	Medio de cultivo ½ MS mostró la mejor eficiencia en la germinación del 5%. El mejor crecimiento de rizomas a partir de cuerpos rizómicos se obtuvo a partir de medio MS con hidrolizado de caseina y AC.	**Panwar et al., 2022**
Dendrobium palpebrae	Pseudobulbos derivados *in vitro*	A través de organogénesis, múltiples yemas de brotes se desarrollaron de la parte inferior y superior del pseudobulbo.	**Bhowmik et al., 2020**
Cymbidium eburneum	Segmentos de hojas de plantas crecidas *in vitro*	El tratamiento de MS + 0.5 mg L−1 BAP + 2.0 mg L−1 NAA produjo tasa de regeneración de plantas (83.3%) en 5.25 semanas. Generando 15.7 plántulas/explante después de 30 WOC.	**Sembi et al., 2020**
Brassavola nodosa	Puntas de brotes *in vitro* (0.3 to 0.5 cm)	El mejor tratamiento hormonal para la multiplicación de brotes fue de 2.0 mg L^{-1} BA and 30.0 mg sulfato de adenina generando el máximo número de brotes por explante.	**Xu et al., 2022**
Dendrobium Yuki White	Segmentos de brotes apicales	El tratamiento de medio de cultivo MS + 0.5 mg L−1 BA + 0.1 mg L−1 NAA + 40 mg L−1 de sulfato de adenina produjo máximos brotes (12) y número de raíces (17) por explante durante 8 semanas de cultivo. Las plantas generadas *in vitro* fueron aclimatizadas con 97% de tasa de supervivencia en bloques de carbono durante 6 semanas, seguida por transferencia de plantas con fibra de coco.	**Subrahmanyeswari et al., 2022**

Tabla 2. Producción in vitro de órganos en plantas de orquídeas.

ISSN: 2448-8461

6 Conclusiones

La abundancia de especies y metabolitos secundarios extraídos en las orquídeas medicinales de la familia Orchidaceae, constituyen un tema muy prometedor para descubrir agente adyuvantes óptimos contra el cáncer. Los metabolitos secundarios derivados de orquídeas medicinales demuestran tener actividad anticancerígena. El resurgimiento en Occidente de los remedios a base de plantas se debe principalmente a la falta de efectos secundarios, ventajas económicas y su énfasis holístico. La fitomedicina tradicional de los extractos de orquídeas cobrará mayor importancia en el sistema sanitario del futuro. Se han realizado análisis a los extractos de orquídeas, no obstante, se recomienda realizar estudios *in vitro* en biorreactores, cultivo de células en suspensión y tecnología CRISPR-Cas9, entre otros.



7 Agradecimientos

Nosotros agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) y al Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora (ITESZ).

REFERENCIAS

An FM, Chan MT (2012) Transcriptome-wide characterization of miRNA-directed and non-miRNA-directed endonucleolytic cleavage using Degradome analysis under low ambient temperature in Phalaenopsis aphrodite subsp. formosana. Plant Cell Physiol. 53: 1737–1750.

Barrales-Cureño HJ (2015) Pharmacological applications and *in vitro* biotechnological production of anticancer alkaloids of Catharanthus roseus. Biotecnologia Aplicada 32: 1101-1110.

Bhowmik TK, Rahman MM (2020) Micropropagation of commercially important orchid Dendrobium palpebrae Lindl. through *in vitro* developed pseudobulb culture. J. Adv. Biotechnol. Exp. Ther. 3: 225–232.

Bornman, C.H (1993) Micropropagation and somatic embryogenesis. In: HAYWARD, M.D. et al. (Ed.). Plant breeding: principles and prospects. Cambridge: Chapman and Hall, p. 246-260.

Cao, MM.; Chen, WQ (2020) Interpretation on the global cancer statistics of GLOBOCAN Chin. J. Front. Med. Sci. 2021, 13, 63–69.

Cardile V, Avola R, Graziano ACE, Russo A (2020) Moscatilin, a bibenzyl derivative from the orchid Dendrobium loddigesii, induces apoptosis in melanoma cells. Chem. Biol. Interact. 323: 109075.

Chan WS, Abdullah JO, Namasivayam P (2011) Isolation, cloning, and characterization of fragrance-related transcripts from Vanda Mimi Palmer. Sci. Hortic. 127: 388–397.

Chen WK, Chen CA, Chi CW, Li LH, Lin CP, Shieh HR, Hsu ML, Ko CC, Hwang JJ, Chen YJ (2019) Moscatilin Inhibits Growth of Human Esophageal Cancer Xenograft and Sensitizes Cancer Cells to Radiotherapy. J. Clin. Med. 8: 187.

Dong YF, Li WY, Ye RC, Wang L (2010) Antimicrobial and antioxidant activities of total alkaloids of Liparis nervosa(Thunb.)Lindl. J. Sichuan Univ. 47: 669–673.
Fang Z, Xue B, Liu LZ, Yang Y (2015) Free Radical Types in Cells and Generation Mechanism. J. Anhui Agric. Sci. 43: 20–22.

Farrokhzad Y, Babaei A, Yadollahi A, Kashkooli AB, Mokhtassi-Bidgoli A, Hessami S (2022) Informative title: Development of lighting intensity approach for shoot proliferation in Phalaenopsis amabilis through combination with silver nanoparticles. Sci. Hortic. 292: 110582.

Feng-Xi Y, Jie G, Yong-Lu W, Rui R, Guo-Qiang Z, Chu-Qiao L, Jian-Peng J,Ye A, Ya-Qin W, Li-Jun C, Sagheer A, Di-Yang Z, Wei-Hong S, Wen-Chieh T, Zhong-Jian L, Gen-Fa Z (2021) The genome of

ISSN: 2448-8461

Cymbidium sinense revealed the evolutionof orchid traits, Plant Biotech J 19: 2501–2516
Gupta AK, Schauvinhold I, Pichersky E, Schiestl FP (2014) Eugenol synthase genes in floral scent variation in Gymnadenia species. Funct. Integr. Genom. 14: 779.

Hsiao Y, Tsai W, Kuoh C, Huang T, Wang H, Wu T, Leu Y, Chen W, Chen H (2006) Comparison of transcripts in Phalaenopsis bellina and Phalaenopsis equestris (Orchidaceae) flowers to deduce the monoterpene biosynthesis pathway. BMC Plant Biol. 6, 14.

Hsiao Y, Jeng M, Tsai W, Chung Y, Li C, Wu T, Kuoh C, Chen W, Chen H (2008) A novel homodimeric geranyl diphosphate synthase from the orchid Phalaenopsis bellina lacking a DD(X)2-4D motif. Plant J., 55: 719–733.

Li, X.W.; Chen, H.P.; He, W.B.; Yang, W.L.; Ni, F.Y.; Huang, Z.W.; Hu, H.Y.; Wang, J (2019) Polyphenols from Dendrobium loddigesii and their biological activities. Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni 58, 96–102

Liu S, Huang XY, Su YH, Bai X, Zhu, PC, Li DL, Tang JN (2023) Antibacterial mechanism of crude extracts of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J. Food Saf. Qual. 14, 66–73.

Lv, W.W.; Zhao, M.; Qin, H.C.; Duan, S.M.; Li, K.; Liao, C.H.; Zhou, P (2017) Study on Determination of Anthocyanin from Bletilla striata Flower and Antioxidant Activity in vitro. Genom. Appl. Biol. 36, 5269–5276.

Maharjan S, Pradhan S, Thapa BB, Pant B (2019) In vitro propagation of endangered orchid, Vanda pumila Hook. f. through protocorms culture. Am. J. Plant Sci. 10: 1220–1232.

Manokari M, Latha R, Priyadharshini S, Jogam P, Shekhawat MS (2021) Short-term cold storage of encapsulated somatic embryos and retrieval of plantlets in grey orchid (Vanda tessellata (Roxb.) Hook. ex G. Don). Plant Cell Tissue Organ Cult. 144: 171–183.

Mohd-Hairul AR, Parameswari N, Gwendoline ECL, Janna OA (2010) Terpenoid, benzenoid and phenylpropanoid compounds in the floral scent of Vanda Mimi Palmer. J. Plant Biol. 53: 358–366.

Nybro LD, Erenlund PH, Holm RL (2018) A novel technique for determination of the fructose, glucose and sucrose distribution in nectar from orchids by HPLC-ELSD. Journal of Chromatography B 1082: 126-130

Panwar GS, Joshi B, Joshi R (2022) Axenic rhizome culture and genetic fidelity assessment of Eulophia dabia (D. Don) Hochr: An endangered terrestrial orchid species. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 58: 567–576.

Paulus HF, Gack C (1990) Pollination of *Ophrys* (Orchidaceae) in Cyprus. Plant Syst. Evol. 169: 177–207.

Petpiroon N, Sritularak B, Chanvorachote P (2017) Phoyunnanin E inhibits migration of non-small cell lung cancer cells via suppression of epithelial-to-mesenchymal transition and integrin alphav and integrin beta3. BMC Complement. Altern. Med. 17: 553.

Poobathy R, Zakaria R, Murugaiyah V, Subramaniam S (2019) Surface sterilization and micropropagation of Ludisia discolor. Biocatal. Agric. Biotechnol. 2019, 22: 101380.

Ramya M, Lee SY, An HR, Park PM, Kim NS, Park PH (2019) MYB1 transcription factor regulation through floral scent in Cymbidium cultivar 'Sael Bit'. Phytochem. Lett., 32: 181–187.

Ross AA, Aldrich-Wolfe L, Lance S, Glenn T, Steven E (2013) Microsatellite markers in the western prairie fringed orchid, platanthera praeclara (orchidaceae) Travers applications in plant sciences 11: 1200413

SEMARNAT, 2002. NOM-059-ECOL-2001, Diario Oficial de la Federación Miércoles 6 de marzo 2002.

Sembi JK, Pathak, P, Verma J (2020) Regeneration competence of leaf explants in Cymbidium eburneum lindl. (orchidaceae). J. Orchid Soc. India, 34: 17–21.

Singh A, Duggal S (2009) Medicinal Orchids - An Overview. Ethnobotanical Leaflets. 13: 399-412.

Soto AMA, Solano GR, Hágsater E (2007) Risk of extinction and patterns of diversity loss in mexican orchids. Lankesteriana International Journal on Orchidology 7: 114-121

Soto AM, Solano R (2003) Información actualizada sobre las especies de la NOM 059-ECOL-2000, CONABIO.

Subrahmanyeswari T, Verma SK, Gantait S (2022) One-step in vitro protocol for clonal propagation of Dendrobium Yuki White, a high value ornamental orchid hybrid. S. Afr. J. Bot. 146: 883–888

Ysa Utami ESW, Hariyanto S (2019) In vitro seed germination and seedling development of a rare indonesian native orchid Phalaenopsis amboinensis JJ Sm. Scientifica 8105138

Wang W, Yu H, Li T, Li L, Zhang G, Liu Z, Huang T, Zhang Y (2017) Comparative Proteomics Analyses of Pollination Response in Endangered Orchid Species Dendrobium Chrysanthum Int. J. Mol. Sci. 18: 2496. doi:10.3390/ijms18122496