

## Desinfección de semillas y medios de cultivo en la germinación y crecimiento de plántulas *in vitro* de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega)

Norma Angélica Lorenzo-Barrera<sup>1</sup>

María Andrade-Rodríguez<sup>1,§</sup>

Oscar Gabriel Villegas-Torres<sup>1</sup>

Teresa de Jesús Rodríguez Rojas<sup>2</sup>

Erika Román Montes de Oca<sup>2</sup>

1 Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural-Facultad de Ciencias Agropecuarias-Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. CP. 62209. Tel. 777 3297900. (norma.lorenzo@uaem.edu.mx; oscar.villegas@uaem.mx).

2 Universidad Autónoma del Estado de Morelos-Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc. Nicolas Bravo s/n, Jaloxtoc, Morelos, México. Tel. 735 2802240. (teresa.rodriguez@uaem.mx; erika.romanm@uaem.edu.mx).

Autora para correspondencia: maria.andrade@uaem.mx.

### Resumen

*Eysenhardtia polystachya* es una planta apreciada por la resistencia de la madera y uso medicinal. Se propaga por semilla; sin embargo, la baja germinación, ataque por insectos y hongos en condiciones naturales limitan su disponibilidad, lo que la hace altamente vulnerable. El cultivo *in vitro* permite incrementar de forma rápida el número de individuos. El objetivo fue evaluar el efecto de las sales minerales de los medios de cultivo Murashige y Skoog y Woody Plant Medium, ambos en concentración de 50, 75 y 100% (macro y micronutrientes), en combinación con dos métodos de desinfección de semillas. Se usaron semillas de *E. polystachya* colectadas en noviembre del 2021 en Tlayacapan Morelos, estas fueron desinfectadas con Nanopartículas de plata (NPsAg), aplicadas una o dos veces y después sembradas *in vitro*. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos, con 10 repeticiones de cinco semillas. La doble aplicación de NPsAg generó 98.3% de semillas asépticas, en comparación con aplicarlas una vez (86.7%). También la altura de las plantas fue 34.5% mayor. El medio MS generó mejor germinación en las tres concentraciones (90 a 99%). La longitud de raíz y materia seca fueron mayores en el medio MS al 50%. Se concluyó que es conveniente usar NPsAg dos veces para desinfectar las semillas de *E. polystachya* y usar el medio cultivo MS al 50% para la germinación y crecimiento de plántulas.

### Palabras clave:

medio MS, medio WPM, método de desinfección, palo dulce.



License (open-access): Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia **Creative Commons**

## Introducción

La especie *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) tiene potencial ecológico por su capacidad de establecerse en suelos erosionados, desde planicies hasta lugares con topografía irregular como lomeríos y quebradas montañosas (Martín *et al.*, 2021). Su madera es apreciada por su dureza y resistencia, por lo que es extraída para la construcción de muebles, herramientas, postes para corrales y cercos, así como leña para los hogares. Además, es utilizado en la medicina tradicional, para el sistema urinario, digestivo e inflamaciones, tanto en humanos como para uso veterinario (Martín *et al.*, 2021; Lorenzo-Barrera *et al.*, 2023).

Presenta diversos principios activos que la hacen tóxica para bacterias y hongos (Bernabé-Antonio *et al.*, 2017). Para extraer los principios activos se usa el duramen y albura; por lo tanto, es necesario cortar los tallos, lo que en muchos casos provoca la muerte de la planta, esto ha repercutido en la reducción de las poblaciones naturales (Beltrán-Rodríguez *et al.*, 2017; Beltrán-Rodríguez *et al.*, 2020). Además del cambio climático, la actual distribución restringida en condiciones silvestres, limitan la disponibilidad de semillas y con ello la propagación; en consecuencia, esta especie es altamente vulnerable.

La calidad de la semilla es afectada por varios factores como la pureza, sanidad y aspectos de germinación (Raya-Pérez *et al.*, 2020). En *E. polystachya*, las semillas presentan testa delgada e impermeable al agua, lo que puede ocasionar que la germinación sea lenta, heterogénea y se produzca baja cantidad de plántulas; provocando que no se puedan regenerar las poblaciones naturales con rapidez; asimismo, en condiciones naturales éstas son atacadas por insectos y hongos (Martín *et al.*, 2021).

Autores como Núñez-Cruz *et al.* (2018) observaron variaciones de germinación en *E. polystachya*, obtuvieron 50% de emergencia en cámara de germinación y 30% en condiciones naturales, sin efecto de los tratamientos pregerminativos aplicados (remojo y remojo+secado), señalan que la germinación podría estar relacionada con el grado de madurez embrionaria, ruptura de latencia, así como las condiciones ambientales adecuadas. Gelviz-Gelvez *et al.* (2020) evaluaron la germinación de semillas, con bajos potenciales hídricos, sin aplicar tratamientos pregerminativos y obtuvieron 66% de germinación.

Hallazgos localizados por Lorenzo-Barrera *et al.* (2024) estudiaron a *E. polystachya*, en condiciones de invernadero y obtuvieron 34% semillas germinadas, sin aplicar tratamiento, 40% con remojo por 36 h y 96% con 600 ppm de ácido giberélico por 30 min. El uso de las técnicas de micropropagación en ornamentales, plantas de importancia agroalimentaria y especies forestales, ayuda a incrementar de forma rápida el número de individuos, con material vegetal genéticamente estable, libre de plagas y enfermedades, mediante la clonación y cultivo de plantas en condiciones controladas y asépticas (Campos *et al.*, 2020; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2020; Bello-Bello y Spinoso-Castillo, 2022).

También, mediante el cultivo *in vitro* es posible obtener extractos o metabolitos secundarios de plantas de interés con aplicaciones farmacéuticas, utilizando cultivo de células, sin tener que extraerlos directamente de plantas silvestres para evitar la sobreexplotación y deforestación. En este sentido, Bernabé-Antonio *et al.* (2017) utilizaron, la fracción hexánica de extractos metanólicos obtenidos de cultivos en suspensión celular de *E. polystachya*, para inhibir el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*.

Aunado a lo anterior, el cultivo de células vegetales *in vitro* es una herramienta con potencial para acelerar la producción a gran escala de materia prima en menor tiempo, de forma controlada en cualquier época del año y los rendimientos de compuestos bioactivos pueden ser mayores que en las plantas silvestres (Haida *et al.*, 2020; Bernabé-Antonio *et al.*, 2021); Bernabé-Antonio *et al.* (2021) utilizaron el cultivo *in vitro* de *Eysenhardtia platycarpa* en medio MS para cultivar células en suspensión a partir de segmentos internodales, para obtener extractos y evaluar la actividad antifúngica contra *R. solani* y *Sclerotium cepivorum*.

Sin embargo, en la micropropagación pueden ocurrir problemas asociados con la contaminación de los medios de cultivo, sobre todo en la fase de establecimiento del cultivo *in vitro*, contaminación que afecta el crecimiento de los explantes al competir por agua, luz, espacio y nutrientes esenciales (Campos *et al.*, 2020; Ramírez#Mosqueda *et al.*, 2020; Bello-Bello y Spinoso-Castillo, 2022).

Este problema se puede controlar adicionando fungicidas y antibióticos al medio de cultivo; sin embargo, debido a la resistencia de algunas cepas no se recomienda el uso de tales productos. Otra alternativa, es la aplicación de nanopartículas de plata (NPsAg) (Ramírez#Mosqueda *et al.*, 2020; Bello-Bello y Spinoso-Castillo, 2022), éstas tienen amplio espectro microbicida, no generan resistencia ya que la plata ataca una amplia gama de objetivos en los microbios, son fáciles de adquirir, no son tóxicas cuando se usan en la dosis correcta, son económicas en comparación con otros productos y también se han utilizado para inducir la germinación, aumentar el rendimiento y promover el desarrollo de los cultivos *in vitro* (Spinoso-Castillo *et al.*, 2017; Chávez-García *et al.*, 2020; Bello-Bello y Spinoso-Castillo, 2022).

Con base en la importancia del palo dulce, los beneficios que se pueden obtener con el uso de las técnicas de cultivo *in vitro* y el control de la contaminación, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la concentración de sales minerales (50, 75 y 100%) de dos medios de cultivo, MS (Murashige y Skoog, 1962) y WPM (McCown y Lloyd, 1981), en combinación con dos métodos de desinfección de semillas, para inducir la mayor germinación de semillas y crecimiento de plántulas *in vitro* de *E. polystachya*.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en condiciones controladas en laboratorio de micropropagación. Las semillas que se utilizaron fueron colectadas de un árbol silvestre de Tlayacapan, Mor. México, latitud 18° 95' 553" latitud norte, longitud 98° 98' 113" longitud oeste y altitud de 1 640 m, en noviembre del 2021 y fueron conservadas en refrigerador a 4 °C. Se evaluaron tres concentraciones de sales minerales (50, 75 y 100%) de dos medios de cultivo, MS (Murashige y Skoog, 1962) y WPM (McCown y Lloyd, 1981), sin reguladores del crecimiento. Los medios se suplementaron con sacarosa al 3%, mio inositol 100 L; tiamina HCl, glicina, piridoxina y ácido nicotínico (0.5 mg L<sup>-1</sup> de cada uno). El pH se ajustó a 5.7 con un potenciómetro (HANNA instruments, modelo HI8424).

Posteriormente, se adicionaron 2 g L<sup>-1</sup> de carbón activado para prevenir efecto negativo de exudación de fenoles; se usaron 7 g L<sup>-1</sup> de agar (Merk). Se colocaron 20 ml de medio de cultivo en frascos de vidrio de 300 ml. El medio se esterilizó en autoclave vertical (CV250) a 18 psi a 120 °C por 18 min. En la campana de flujo laminar (Novatech, modelo CFLH-120E), se desinfectaron las semillas de *E. polystachya* utilizando dos métodos: 1) jabón roma 0.2 g 100 ml<sup>-1</sup>, en agitación por 5 min, etanol 96° al 70% (1 min), hipoclorito de sodio (NaClO 0.9%) en agitación por 5 min, nanopartículas de plata (NPsAg) 75 µl 50 ml<sup>-1</sup> (AgROVIT-CP), en agitación por 10 min; y 2) jabón roma 0.2 g 100 ml<sup>-1</sup>, en agitación por 5 min, etanol 96° al 70% (1 min), 75 µl 50 ml<sup>-1</sup> de NPsAg, en agitación por 10 min, hipoclorito de sodio (NaClO 0.9%) en agitación por 5 min y nuevamente NPsAg 75 µl 50 ml<sup>-1</sup>, en agitación por 10 min.

En cada caso, las semillas se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y luego fueron establecidas en los frascos con el medio de cultivo respectivo (5 semillas por frasco). Los frascos sembrados, se colocaron en sala de incubación a 24 °C con fotoperíodo de 16 h, con luz fluorescente blanca (32 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) y 8 h de oscuridad. Se usó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos, factor A: medios de cultivo a diferentes concentraciones; factor B: dos formas de desinfectar las semillas. Se establecieron 10 repeticiones por tratamiento, con cinco semillas por repetición (frasco de cultivo).

En la etapa inicial se evaluaron, 1) variables de germinación: inicio de germinación (días), registrado cuando emergió la radícula, porcentaje de germinación total a los 30 días, así como la asepsia de semillas (%). A los 60 días después de la siembra, se registraron; y 2) variables de crecimiento de plántulas: altura de planta (cm), longitud de raíz, hojas por planta y materia seca por plántula (mg). Los datos fueron analizados mediante varianza (Anova) y se realizó la prueba de comparación de medias Tukey (p ≤ 0.05), con el paquete estadístico SAS® v. 9.2.

## Resultados y discusión

### Asepsia y germinación de semillas

Los resultados del análisis de varianza indicaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en la asepsia de semillas por efecto de los dos factores estudiados, así como de la interacción de éstos. El inicio de germinación fue afectado solo por la interacción de la concentración de sales minerales de medios de cultivo con los métodos de desinfección ( $p \leq 0.05$ ); en tanto que, la germinación total fue afectada solo por los medios de cultivo en que se establecieron las semillas (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Porcentaje de semillas asépticas y germinación por efecto del método de desinfección en combinación con medios de cultivo en *E. polystachya*.**

Medio de cultivo (%)	Desinfección	Asepsia (%)	Germinación total (%)
MS 100	1, NPsAg una vez	100 a	90 abc
MS 100	2, NPsAg dos veces	100 a	90 abc
MS 75	1, NPsAg una vez	90 b	98 ab
MS 75	2, NPsAg dos veces	100 a	100 a
MS 50	1, NPsAg una vez	90 b	94 abc
MS 50	2, NPsAg dos veces	100 a	84 bc
WPM 100	1, NPsAg una vez	70 d	98 ab
WPM 100	2, NPsAg dos veces	90 b	98 ab
WPM 75	1, NPsAg una vez	80 c	88 abc
WPM 75	2, NPsAg dos veces	100 a	96 abc
WPM 50	1, NPsAg una vez	90 b	82 c
WPM 50	2, NPsAg dos veces	100 a	86 abc
DSH ( $p \# 0.05$ )		10.94	15
CV (%)		7.92	17.38

DSH= diferencia significativa honesta; CV= coeficiente de variación. Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

El uso de nanopartículas de plata (NPsAg) en la desinfección de semillas de *E. polystachya*, permitió establecer cultivos sin microorganismos. La asepsia fue de 100% cuando en la desinfección se adicionaron dos veces las NPsAg, con el medio MS al 100, 75 y 50%, WPM al 75 y 50%, aunque cuando se usó el MS al 100% y las semillas se desinfectaron con el método 1, también se obtuvo el cultivo completamente aséptico (Cuadro 1).

Con el método de desinfección 1, se obtuvo 70, 80, 90 y 100% de semillas libres de microorganismos contaminantes (Cuadro 1). Lo anterior indica que el uso de NPsAg en dos ocasiones durante la desinfección de las semillas fue lo más adecuado para lograr establecer el cultivo aséptico de esta especie.

El inicio de germinación ocurrió a los 3 y 4 días después de la siembra (dds). De acuerdo con el análisis de varianza, no hubo diferencias significativas, por lo que todos medios fueron adecuados para que ocurriera el proceso de imbibición de las semillas y con ello el inicio de la germinación; además, el medio de cultivo suministró los nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta (Andrade-Rodríguez *et al.*, 2015), ya que el éxito del cultivo *in vitro* depende mucho de la composición del medio de cultivo utilizado.

Con excepción de orquídeas, no se requieren sales minerales y suplementos para la germinación de semillas. Sin embargo, la concentración de sales minerales modifica el potencial osmótico de los medios y con ello la disponibilidad de agua para la germinación. De igual forma el tipo de medio y concentración de sales no afectan la contaminación o porcentaje de cultivos asépticos.

La germinación total de las semillas de *E. polystachya in vitro* varió de 82 a 100%, con promedio de 92%. El medio MS al 75% con el método de desinfección 2, generó la mayor germinación total (100%), que fue estadísticamente diferente solo con lo obtenido en el MS al 50% y WPM al 50%, con la desinfección del método 2 y método 1 respectivamente (Cuadro 1). De manera similar, Bernabé-Antonio *et al.* (2021) obtuvieron un 98% de germinación de semillas de *Eysenhardtia platycarpa* a los 10 días de cultivo en medio MS, estos investigadores agregaron cuatro gotas de Tween 20<sup>®</sup> a la solución de hipoclorito de sodio, señalan que el Tween es utilizado como agente surfactante, lo que pudo haber ayudado a mejorar la ambición y con ello aumentar el porcentaje de germinación total.

Otras investigaciones han localizado Chávez-García *et al.* (2020) que la propagación *in vitro* es una alternativa a los métodos convencionales de propagación, ya que una semilla con problemas puede germinar correctamente debido a que aumenta la tasa de germinación y estará libre de patógenos. El medio WPM generó buen resultado en concentración de 100% con la desinfección 1 y 2, y 75% con la desinfección 2 (98 y 96% de germinación, respectivamente), este medio presenta una concentración de sales más baja,  $\text{NH}_4^+$  (5 mM),  $\text{NO}_3^-$  (9.7 mM) y  $\text{Cl}^-$  (1.3 mM) que el medio MS (Andrade- Rodríguez *et al.*, 2015; Campos *et al.*, 2020), por lo que al 100% generó buena germinación total sin tener que diluirlo.

### Crecimiento de plántulas

El análisis de varianza mostró efecto altamente significativo de medios de cultivo en las cuatro variables de crecimiento de plántulas; en tanto que, el método de desinfección de las semillas afectó significativamente solo a la altura y materia seca de las plántulas de *E. polystachya*. También hubo efecto significativo de la interacción de los niveles de los factores en las variables estudiadas, de ahí que, los resultados se presentan de acuerdo con la combinación de niveles de los factores estudiados.

La altura de plántula fue mayor cuando las semillas fueron sembradas en el medio de cultivo MS al 100 y 75% (3.3 cm) en combinación con el método de desinfección 2, en el cual se aplicaron NPsAg en dos ocasiones, estadísticamente iguales con las del medio MS al 50% y WPM al 100 y 50%, con el método de desinfección 2. El menor crecimiento en altura se registró en el medio WPM al 50% con el método de desinfección 1 (Cuadro 2), que tuvieron 1.3 cm menos que las plantas de los dos mejores medios.



**Cuadro 2. Variables de crecimiento de plántulas de *E. polystachya* por efecto de medios de cultivo en combinación con el método de desinfección, a los 60 después de la siembra.**

Medio de cultivo (%)	Desinfección	Altura (cm)	Longitud de raíz (cm)	Materia seca (mg)	Núm. de hojas
MS 100	D1: NPsAg una vez	2.13 ef	4.24 d	41.3 bc	6 ab
MS 100	D2: NPsAg dos veces	3.37 a	5.42 cd	52.2 ab	7 a
MS 75	D1: NPsAg una vez	2.5 bcdef	5.06 cd	48.5 bc	5.5 bc
MS 75	D2: NPsAg dos veces	3.3 a	5.33 cd	46.3 bc	6.2 ab
MS 50	D1: NPsAg una vez	2.89 abcd	8.86 a	58.6 a	6.2 ab
MS 50	D2: NPsAg dos veces	3.23 ab	7.28 ab	44.3 bc	5.7 bc
WPM 100	D1: NPsAg una vez	2.31 cdef	6.6 bc	50.6 ab	5.8 bc
WPM 100	D2: NPsAg dos veces	3.19 ab	5.61 bcd	47 bc	5.8 bc
WPM 75	D1: NPsAg una vez	2.27 def	4.44 d	45.1 bc	5.7 bc
WPM 75	D2: NPsAg dos veces	2.85 bcde	5.29 cd	43.6 bc	5.8 bc
WPM 50	D1: NPsAg una vez	1.99 f	7.26 ab	44 bc	5.8 bc
WPM 50	D2: NPsAg dos veces	3.03 abc	5.60 bcd	39.6 c	5.8 bc
DSH (P# 0.05)		0.75	1.73	19.52	1.2
CV (%)		18.18	19.54	7.25	8.89

DSH= diferencia significativa honesta; CV= coeficiente de variación. Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Cualquiera de los medios usados dio mejor resultado cuando se combinaron con el método de desinfección 2. Pinedo-Panduro *et al.* (2022), mencionan que el medio MS es de amplia utilización y es apto para la mayoría de las especies, excepto para las más sensibles a la salinidad y en esos casos puede utilizarse diluido al 75 y 50%. En las semillas de palo dulce, las tres concentraciones del medio MS presentaron la mayor altura de plántulas al combinarlo con la desinfección 2, lo que indica el efecto benéfico de las NPsAg, lo que coincide con Chávez-García *et al.* (2020); Bello-Bello y Spinoso-Castillo (2022), quienes señalan que éstas pueden aumentar el rendimiento y promover el desarrollo de los cultivos *in vitro*.

Contrario a la altura, el crecimiento de la raíz de las plántulas fue mayor cuando las semillas fueron cultivadas en el medio de cultivo MS al 50% en combinación con la metodología de desinfección 1 y 2 (8.86 y 7.28 cm respectivamente) y medio WPM al 50% con el método de desinfección 1. La menor longitud de raíz se tuvo cuando se usaron los medios MS al 100% y WPM al 75%, ambos combinados con el método de desinfección 1, mismos que tuvieron 4.63 y 4.42 cm menos longitud de raíz que aquellos con raíces más largas (Cuadro 2).

En términos generales, los medios que tuvieron plantas con menor altura originaron mayor longitud de raíz. Los componentes del medio de cultivo junto con la aplicación del desinfectante afectaron tanto la altura como el crecimiento de la raíz. Al respecto, Bello-Bello y Spinoso-Castillo (2022) mencionan que la aplicación de nanopartículas de plata a bajas concentraciones ayuda a estimular el desarrollo, romper la dormancia o promover la germinación de semillas y crecimiento de algunas especies.

El tamaño de raíz es importante durante la fase aclimatación y establecimiento en suelo; al respecto, Pinedo-Panduro *et al.* (2022) refieren que para lograr que las plantas micropropagadas sobrevivan al proceso de aclimatación y trasplante a campo definitivo, es necesario que estas tengan un buen número y tamaño de raíces. Aunque cabe señalar, que las plántulas con raíces más largas dificultan el proceso de trasplante a sustrato durante el paso a la fase de aclimatación.

El crecimiento de las plantas también se evalúa mediante la acumulación de materia seca. En esta investigación, la mayor cantidad de materia seca se produjo en las plántulas cultivadas en el medio MS al 50% (58.6 mg) con el método de desinfección 1, seguido por aquellas cultivadas en el MS al 100% (52.2 mg) con la desinfección 2 y por las del medio WPM al 100% con el método

de desinfección 1. Caso contrario, se observó en las plántulas obtenidas de las semillas cultivadas en el medio WPM al 50 % con el método de desinfección 2, pues se obtuvo solo 39.6 mg materia seca, 19 mg menos que en el mejor tratamiento.

Las plántulas de los demás tratamientos generaron cantidades de materia seca similar (Cuadro 2). Martínez-Villegas *et al.* (2015), mencionan que la acumulación de materia seca depende de la composición del medio de cultivo y de la especie que se esté cultivando, ya que en *Euphorbia leucocephala*, la mayor acumulación de materia seca (92.2 mg por planta) se obtuvo en las plantas cultivadas en el medio WPM modificado; de ahí que, es importante elegir el medio de cultivo adecuado para la especie de interés y así evitar algún tipo de problema fisiológico o de crecimiento en las plantas cultivadas *in vitro*.

El número de hojas por plántula presentó pocas diferencias por efecto de los tratamientos. Los medios de cultivo MS al 100%, con semillas desinfectadas con el método 2, MS 75% y desinfección 2 y MS 50% desinfección 1, fueron los que generaron mayor cantidad de hojas por plántula (6 y 7 hojas) (Cuadro 2). La concentración de nutrientes en el medio MS fue adecuada para abastecer de agua y nutrientes a las semillas de palo dulce, este medio contiene altas concentración de iones amonio  $\text{NH}_4^+$  (20.6 mM), iones nitrato  $\text{NO}_3^-$  (39.4 mM), iones cloro  $\text{Cl}^-$  (6 mM) y  $\text{MoO}_4^-$  (1 mM) (Martínez-Villegas *et al.*, 2015) y no presentó efecto tóxico en las plantas.

Las características que dan a las plantas *in vitro* mayores posibilidades de sobrevivir durante la aclimatación en los invernaderos, es la obtención de un buen tamaño y follaje debido a que estos dos parámetros están relacionados con mayor capacidad fotosintética, que le permiten realizar mejor captación de radiación y por lo tanto, mayor acumulación de fotosintatos (Pinedo-Panduro *et al.*, 2022). Por lo que, *E. polystachya* desarrolló un buen número de hojas durante los 60 días después de la siembra.

## Conclusiones

El uso de la doble aplicación de NPsAg en la desinfección de semillas de *E. polystachya*, redujo la presencia de hongos y bacterias en los frascos de cultivo, lo que generó la mayor asepsia, así como altura y materia seca de las plántulas. El medio de cultivo MS dio mejor resultado en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas, éste generó mayor longitud de raíz y materia seca en concentración de 50%.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT) por la beca otorgada al primer autor con número de becario 665515. A la Facultad de Ciencias Agropecuarias y a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por el apoyo para el desarrollo de la investigación.

## Bibliografía

- 1 Andrade-Rodríguez, M.; Vargas-Araujo, J.; Villegas-Torres, O. G.; López-Martínez, V.; Guillen-Sánchez, D. y Alía-Tejacal, I. 2015. Germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Cattleya* (*Brassolaeliocattleya*) *in vitro*. *Interciencia*. 40(8):549-553. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/10/549-c-andrades5.pdf>.
- 2 Bello-Bello, J. y Spinoso-Castillo, J. 2022. Utilización de nanopartículas de plata en la micropropagación de plantas. *Revista Interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*. 16(30):1-14. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69692>.
- 3 Beltrán-Rodríguez, L.; Manzo-Ramos, F.; Maldonado-Almanza, B.; Martínez-Ballesté, A. and Blancas, J. 2017. Wild medicinal species traded in the Balsas Basin, Mexico: risk analysis and recommendations for their conservation. *Journal of Ethnobiology*. 37(4):743-764. <https://doi.org/10.2993/0278-0771-37.4.743>.

- 4 Beltrán-Rodríguez, L.; Maldonado-Almanza, B.; Cristians, S.; Blancas, J.; Sierra-Huelz, A. y Bye, R. 2020. Las cortezas como productos forestales no maderables en México: Análisis nacional y recomendaciones para su aprovechamiento sostenible. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 47 p.
- 5 Bernabé-Antonio, A.; Maldonado-Magaña, A.; Ramírez-López, C. B.; Salcedo-Pérez, E.; Meza-Contreras, J. C.; González-García, Y.; López-Dellamary, T. and Cruz-Sosa, F. 2017. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) and fungistatic activity of their extracts. South African Journal of Botany. 112:40-47. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.023>.
- 6 Bernabé-Antonio, A.; Sánchez-Sánchez, A.; Romero-Estrada, A.; Meza-Contreras, J. C.; Silva-Guzmán, J. A.; Fuentes-Talavera, F. J.; Hurtado-Díaz, I. and Cruz-Sosa, F. 2021. Establishment of a cell suspension culture of *Eysenhardtia platycarpa*: Phytochemical screening of extracts and evaluation of antifungal activity. Plants. 10(2):1-21. <https://doi.org/10.3390/plants10020414>.
- 7 Campos, R. J.; Arteaga, M. C.; Campos, S. R.; Chico, J. R. y Cerna, R. L. 2020. Establecimiento de un protocolo de desinfección y micropropagación *in vitro* de “caoba” *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). Arnaldoa. 27(1):141-156. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27107>.
- 8 Chávez-García, J. A.; Andrade-Rodríguez, M.; Bello-Bello, J. J.; Rueda-Barrientos, M. C.; Guillén-Sánchez, D. y Sainz-Aispuro, M. J. 2020. Nanopartículas de plata en el establecimiento *in vitro* de ápices de gladiolo. Revista Fitotecnia Mexicana. 43(4-A):557-564. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.4-A.557>.
- 9 Gelviz-Gelvez, S. M.; Pavón, N. P.; Flores, J.; Barragán, F. y Paz, H. 2020. Germinación de siete especies de arbustos en el centro semiárido de México: efecto de la sequía y el tamaño de la semilla. Botanical Sciences. 98(3):464-472. <http://doi.org/10.17129/botsci.2537>.
- 10 Haida, Z.; Nakasha, J. J. and Hakiman, M. 2020. *In vitro* responses of plant growth factors on growth, yield, phenolics content and antioxidant activities of *Clinacanthus nutans* (Sabah Snake Grass). Plants. 9(8):1-17. <https://doi.org/10.3390/plants9081030>.
- 11 Lorenzo-Barrera, N. A.; Andrade-Rodríguez, M.; Villegas-Torres, O. G.; Román-Montes, E.; Sotelo-Nava, H.; Rodríguez-Rojas, T. J. y Suárez-Rodríguez, R. 2023. Usos del palo dulce *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg., en cuatro municipios del estado de Morelos, México. Polibotánica. 55(28):161-177. <http://doi.org/10.18387/polibotanica.55.11>.
- 12 Lorenzo-Barrera, N. A.; Andrade-Rodríguez, M.; Villegas-Torres, O. G. and Sotelo-Nava, H. 2024. Pre-germination treatments on kidneywood (*Eysenhardtia polystachya*) seeds. Revista Ciência Agronômica. 55:e20238765. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20230067>.
- 13 McCown, B. H. and Lloyd, G. 1981. Woody Plant Medium (WPM)-a mineral nutrient formulation for microculture of Woody Plant Species. HortScience. 16(4):453-453.
- 14 Martín, R. M. H.; Ibarra, F. A.; Moreno, M. S.; Hernández, J. E. y Retes, R. 2021. Costo beneficio asociado con la cosecha de semilla de palo dulce y sitiporo en la región central de Sonora, México. Revista Mexicana de Agronegocios. 48(1):754-764. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14167610015>.
- 15 Martínez-Villegas, Y. M.; Andrade-Rodríguez, M.; Colinas-León, T.; Villegas-Torres, O. G.; Castillo-Gutiérrez, A. y Alia-Tejacal, I. 2015. Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lottsy). Revista Fitotecnia Mexicana. 38(4):369-374. <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802015000400004&script=sci-abstract&tlng=pt>.
- 16 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiology Plantarum. 15(3):473-497.

- 17 Núñez-Cruz, A.; Meave, J. A. and Bonfil, C. 2018. Reproductive phenology and seed germination in eight tree species from a seasonally dry tropical forest of Morelos, Mexico: Implications for community-oriented restoration and conservation. *Tropical Conservation Science*. 11(1):1-14. <https://doi.org/10.1177/1940082917749946>.
- 18 Pinedo-Panduro, M.; Alves-Chagas, E.; Freitas-Luz, F.; Cardoso-Chagas, P.; Panduro-Tenazoa, N. M.; Bardales-Lozano, R.; Abanto-Rodríguez, C.; Paredes-Dávila, E. y Collazos-Saldaña, H. 2022. Efecto de las sales de los medios de cultivo Murashige & Skoog y Knudson sobre el establecimiento *in vitro* de *Epidendrum schomburgkii* Lindl. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 23(3):2526, 1-14. <https://doi.org/10.21930/rcta.vol23-num3-art:2526>.
- 19 Ramírez-Mosqueda, M. A.; Sánchez#Segura, L. and Hernández#Valladolid, S. L. 2020. The influence of silver nanoparticles on a common contaminant isolated during the establishment of *Stevia rebaudiana* Bertoni culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 143(3):609#618. <https://doi.org/10.1007/s11240#020#01945#9>.
- 20 Raya-Pérez, J. C.; Aguirre-Mancilla, C. L.; Covarrubias-Prieto, J.; Ramírez-Pimentel, G. y Iturriaga, G. 2020. El osmoacondicionamiento de las semillas agrícolas. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 8(1):1-8. <https://www.somecta.org.mx/rev-ciencia-y-tecnol-agrop-mexico/revistas/2020-1/2020-1-1/>.
- 21 SAS Institute Inc. 1995. SAS/STAT User's guide, Version 9,2. SAS Institute. Cary, NC.
- 22 Spinoso-Castillo, J. L.; Chávez-Santoscoy, R. A.; Bogdanchikova, N.; Pérez-Sato, J. A.; Morales-Ramos, V. and Bello-Bello, J. J. 2017. Antimicrobial and hormetic effects of silver nanoparticles on *in vitro* regeneration of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 129(2):195-207. <https://doi.org/10.1007/s1124001711698>.



## Desinfección de semillas y medios de cultivo en la germinación y crecimiento de plántulas *in vitro* de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega)

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 February 2025
Date accepted: 01 April 2025
Publication date: 06 August 2025
Publication date: Jul-Aug 2025
Volume: 16
Issue: 5
Electronic Location Identifier: e3744
DOI: 10.29312/remexca.v16i5.3744
Funded by: Consejo Nacional de Ciencia y tecnología
Funded by: Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Award ID: 665515

### Categories

Subject: Artículo

### Palabras clave:

**Palabras clave:**

medio MS

medio WPM

método de desinfección

palo dulce

### Counts

Figures: 0

Tables: 2

Equations: 0

References: 22

Pages: 0