

## Medios de cultivo para la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis*

Marcela Cabañas-Rodríguez<sup>1</sup>

María Andrade-Rodríguez<sup>1,§</sup>

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

José Antonio Chávez-García<sup>1</sup>

Iran Alia-Tejagal<sup>1</sup>

Porfirio Juárez-López<sup>1</sup>

1 Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. CP. 62209. (marcela.cabanar@uaem.edu.mx; iran.alia@uaem.mx; antonio.chavez@uaem.mx; porfirio.juarez@uaem.mx; oscar.villegas@uaem.edu.mx).

Autora para correspondencia: maria.andrade@uaem.mx

### Resumen

La orquídea *Laelia autumnalis* es endémica de México, se encuentra en protección especial. El cultivo *in vitro* ha contribuido a mejorar la propagación de orquídeas a partir de semillas. Con la finalidad de micropropagar esta especie, se estableció un experimento en 2023, para evaluar ocho medios de cultivo: Murashige y Skoog (MS al 100, 75, 50 y 25%), Knudson C, Dalla Rosa y Laneri, Vacint y Went y Lindemann, todos los medios se suplementaron con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de tiamina HCl, 100 mg L<sup>-1</sup> de mioinositol y 3% de sacarosa, para determinar el mejor medio para la germinación de esta especie. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.3% y se sembraron en los medios, en diseño completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento. Se registró inicio y porcentaje de germinación, a los 90 días se evaluó altura de plántula, longitud y número de hojas, número y longitud de raíces, así como diámetro de pseudobulbos. Los medios MS al 25 y 50% generaron mayor porcentaje de germinación (84.57 y 72.54% respectivamente), la cual inició 29 días después de la siembra. El crecimiento en altura (5.6 mm), longitud de hojas (4.54 mm) y de raíces (5.2 mm) fue mayor en el medio MS al 50%, donde las plántulas fueron de color verde. Se concluyó que el mejor medio de cultivo para germinación y crecimiento de plántulas de *L. autumnalis* fue el MS al 50% de concentración.

### Palabras clave:

medio MS, orquídea de día de muertos, plántulas de orquídea.



## Introducción

La familia *Orchidaceae* es una de las más importantes de México superada sólo por la familia *Asteraceae* y *Fabaceae* (Villaseñor, 2016). México ocupa el décimo primer lugar a nivel mundial en riqueza de orquídeas silvestres (Hágsater *et al.*, 2005), con alrededor de 1 315 especies (Soto *et al.*, 2007; Solano *et al.*, 2019).

A nivel de entidades federativas, Oaxaca y Chiapas ocupan los primeros lugares en diversidad de orquídeas, ambos con más de 700 especies (Solano *et al.*, 2019), Veracruz está en tercer lugar con 432 taxa (421 especies, 4 variedades, 2 híbridos y 5 subespecies) que representan el 32% de las orquídeas del país.

*Laelia* es un género de orquídeas en su mayoría epífitas, por lo que se encuentran viviendo sobre los árboles, en México se han clasificado 12 especies y 2 subespecies; una de ellas es *Laelia autumnalis*, nativa de México, cuyas poblaciones silvestres han estado sujetas al cambio en el uso del suelo y extracción masiva e ilegal de plantas en etapa reproductiva, para satisfacer la demanda de los mercados.

De seguir con esta actividad, pronto formará parte de la lista de especies amenazadas (Hernández *et al.*, 2013). Debido a la magnitud de la extracción de las plantas de esta especie que, en la actualización de la NOM-059-SEMARNAT-2010, aparece en la categoría de protección especial (Pr) (DOF, 2019).

Las orquídeas son especies de difícil reproducción natural porque sus semillas diminutas tienen escasa o nula reserva de nutrientes y requieren de la simbiosis con hongos micorrizogénos para su germinación, los cuales no siempre están presentes debido a la perturbación de su hábitat. Además, no todas las semillas de una cápsula se forman por completo o son fértiles (Verma *et al.*, 2014).

Estas plantas destacan por su belleza y formas atractivas; sin embargo, es una de las familias más afectadas por las actividades antropocéntricas, saqueo y comercio ilegal (Castillo-Pérez *et al.*, 2018). Las técnicas de cultivo *in vitro* han contribuido a mejorar la propagación de orquídeas a partir de semillas, tanto en especies nativas como en híbridos.

En el género *Laelia* se ha logrado la germinación *in vitro* en *L. speciosa* usando el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) al 50 y 100% de sus componentes (Murashige y Skoog, 1962) y el medio Knudson C (KC) al 50 y 100% de sus componentes (Knudson, 1946) (Aguilar y López Escamilla, 2013), *L. anceps* ssp. *Dawsonii*, en la cual se logró la formación de embriones somáticos utilizando medios de cultivo Knudson C (1946) (KC) y Vacin y Went (1949) (VW); Murashige y Skoog (1962) (MS); (Lee *et al.*, 2010) y en *L. eyermaniana*, donde se observó el desarrollo morfológico desde la germinación hasta la aclimatación *ex vitro* en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) al 50% (Francisco *et al.*, 2011).

Para la germinación de semillas de orquídeas se reportan algunos medios de uso generalizado como Knudson C (1946); Vacin y Went (1949); Murashige y Skoog (1962); Dalla Rosa y Laneri, (1977); (Dutra *et al.*, 2009; De Menezes *et al.*, 2016). La principal diferencia en estos es la composición de minerales, el más simple es Knudson C y el más rico en nutrientes es el Murashige y Skoog que incluye macro y microelementos; este último es el más utilizado para el cultivo de orquídeas, Lallana *et al.* (2020), señalan que el MS al 50% ha dado buen resultado para los géneros más comunes.

La composición del medio de cultivo es uno de los factores que determinan el éxito para generar y propagar plántulas, todo medio está compuesto básicamente de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos y una fuente de carbono (De Menezes *et al.*, 2016). Por lo tanto, la composición de los medios de cultivo puede variar en contenido de sales (macro y microelementos), azúcares, compuestos orgánicos y gelificantes. Los requerimientos para orquídeas pueden ser diversos, incluso en especies del mismo género (Mayo *et al.*, 2010).

Con base en la importancia de esta especie de orquídea y la situación que tiene en su hábitat, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la germinación *in vitro* de semillas de *Laelia autumnalis* en ocho medios de cultivo, así como el crecimiento inicial de las plántulas, para determinar el más adecuado para esta especie.

## Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Propagación Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos México, durante los meses de septiembre de 2023 a enero de 2024.

### Material biológico

Las cápsulas de *L. autumnalis*, fueron colectadas de plantas en cultivo de un productor particular de Tepoztlán, Morelos, México. Las semillas se secaron a temperatura Ambiente (29 °C) y se almacenaron en tubos de plástico herméticos y se mantuvieron en refrigerador a 5 °C, durante 20 días.

### Medios de cultivo

Se usaron las sales minerales de ocho medios de cultivo de uso común para la germinación de semillas de orquídeas, Murashige y Skoog (1962), en cuatro concentraciones, 25 (MS25), 50 (MS50), 75 (MS75) y 100% (MS100) de concentración de macro y micronutrientes, Knudson C (1946) (KC); (DRL); Vacint y Went (1949) (VW); Lindemann (1970) (L); Dalla Rosa y Laneri (1977) (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Formulación de los medios de cultivo, empleados en el cultivo *in vitro* de orquídeas, de acuerdo con Mayo *et al.* (2007).**

Compuesto (mg L <sup>-1</sup> )	Murashige y Skoog (1962)	Knudson C (1946)	Vacint y Went (1949)	Lindemann (1970)	Dalla Rosa y Laneri (1977)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1 650				
KNO <sub>3</sub>	1 900		525		
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	332.2				1000
MgSO <sub>4</sub>	370	250	122.1	58.62	250
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	250	250	135	250
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		500	500	1 000	500
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O		1 000		347.2	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2			1.014	
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22.3	5.682	5.68	0.05	7.5
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8.6			0.565	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0.25				
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.025			0.019	
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.025				
KI	0.83			0.099	
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27.85	25			27.85
Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	37.27			1 050	37.25
Tartrato férrico			28		
Fosfato de calcio tribásico			200		
Cloruro de níquel				0.03	
Citrato férrico				4.4	

Todos los medios se suplementaron con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de tiamina HCl, 100 mg L<sup>-1</sup> de mioinositol y 3% de sacarosa, el pH de los medios se ajustó a 5.7. Se agregó 0.7% de agar. El medio se dosificó en frascos de 150 ml, colocando 15 ml de medio de cultivo y se esterilizó durante 18 min a 121 °C y 15 lb de presión.

## Desinfección de semillas

Antes de la siembra, las semillas de *L. autumnalis* se desinfectaron en la campana de flujo laminar, se usó el método de la jeringuilla, esto consistió en colocar un pedazo de algodón en la boquilla de una jeringa de 20 ml, las semillas se pusieron dentro de la jeringa y se agregó la solución desinfectante con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.3% y agua destilada esterilizada, posteriormente se colocó el embolo y se agitó de arriba hacia abajo durante 5 min, se realizaron tres enjuagues con agua destilada esterilizada, finalmente, se añadieron 20 ml de agua destilada estéril en la jeringa, para mantener las semillas suspendidas.

## Siembra

En cada uno de los frascos con medio de cultivo se dispensaron 250  $\mu$ l de agua con aproximadamente 250 semillas suspendidas, mismas que fueron contadas con un hemocitómetro. Los frascos se taparon y se sellaron con plástico adherente, por último, se colocaron en el área de incubación en condiciones controladas con fotoperiodo de 16 h luz y 8 de obscuridad a  $24 \pm 1$  °C e intensidad luminosa de  $32 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

## Diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento, para evaluar la germinación de semillas y crecimiento de plántulas (10 plántulas por repetición). Cada repetición fue un frasco de cultivo.

## Variables evaluadas y análisis estadístico

### Germinación de semillas

Se evaluaron dos variables de germinación, el inicio de germinación se consideró una vez que la semilla presentó rompimiento de la testa, también se determinó el porcentaje de germinación, se realizó conteo de las semillas germinadas un mes después de la siembra, en cuatro campos por repetición, para ello se utilizó un microscopio estereoscópico.

### Crecimiento de plántulas

Se tomaron 10 plántulas por repetición para evaluar el crecimiento, se midió la altura (mm), desde la base hasta la parte donde se abren las hojas; longitud de hoja (mm), se midió desde la base hasta la punta de la hoja; longitud de raíces (mm), se midió desde la base hasta la punta de la raíz, estas tres variables se midieron con hoja milimétrica; número de hojas y número de raíces, mediante conteo; también se midió diámetro de protocormo (mm). Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza (Anova), en las variables donde hubo efecto de los tratamientos, se efectuó la prueba de comparación de medias Tukey ( $p \leq 0.05$ ), con el paquete estadístico SAS v. 9.2 (SAS, 2023).

## Resultados y discusión

### Germinación de semillas

El análisis de varianza para inicio de germinación y germinación total indicó que hubo efecto altamente significativo de los medios de cultivo ( $p \leq 0.01$ ). Los valores de  $R^2$  fueron de 0.96 y 0.88, indicando que el modelo estadístico usado para el análisis de varianza fue adecuado (Cuadro 2).

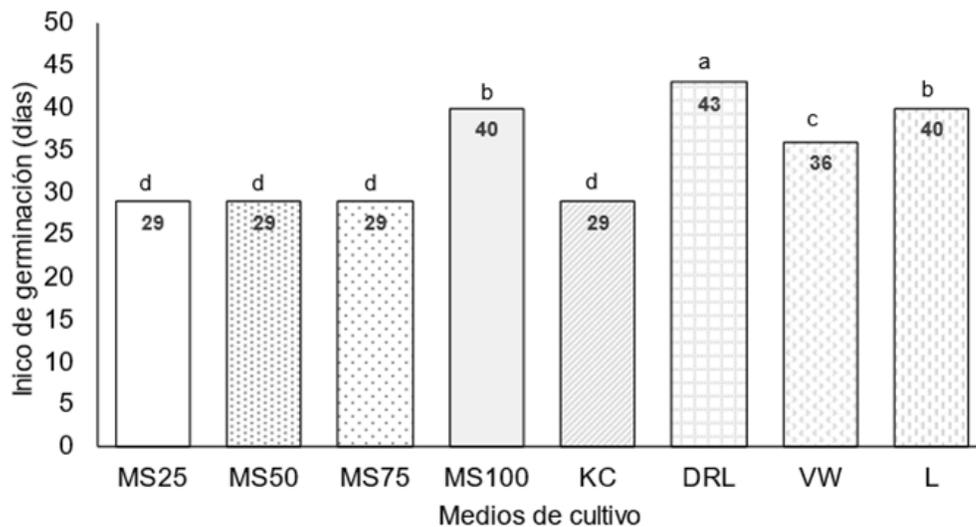
**Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para inicio de germinación y germinación total en ocho medios de cultivo *in vitro* de *L. autumnalis*.**

Fuente de variación	GL	Inicio de germinación (días)	Germinación total (%)
Medios de cultivo	7	365.53**	3 328.79**
Error	72	1.44	93.61
R <sup>2</sup>		0.96	0.88
CV (%)		3.49	24
Promedio		34.37	40.31

GL= grados de libertad; CV= coeficiente de variación; R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación, \*\*= efecto altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ).

La germinación de las semillas se observó a simple vista cuando cambio de color crema a estructuras de color verde y el tamaño del embrión aumento, posteriormente el embrión rompió la testa, esto se pudo observar mediante un microscopio. Este proceso varió en función de los medios de cultivo; las semillas iniciaron la germinación en menor tiempo en los medios MS al 25, 50, 75% y KC (a los 29 días), mientras que en los medios MS al 100%, DRL, VW y L, ocurrió después de los 35 días, en el DRL tardó 14 días más (Figura 1).

**Figura 1. Inicio de germinación de semillas de *L. autumnalis* por efecto de ocho medios de cultivo. DMSH= 1.67.**

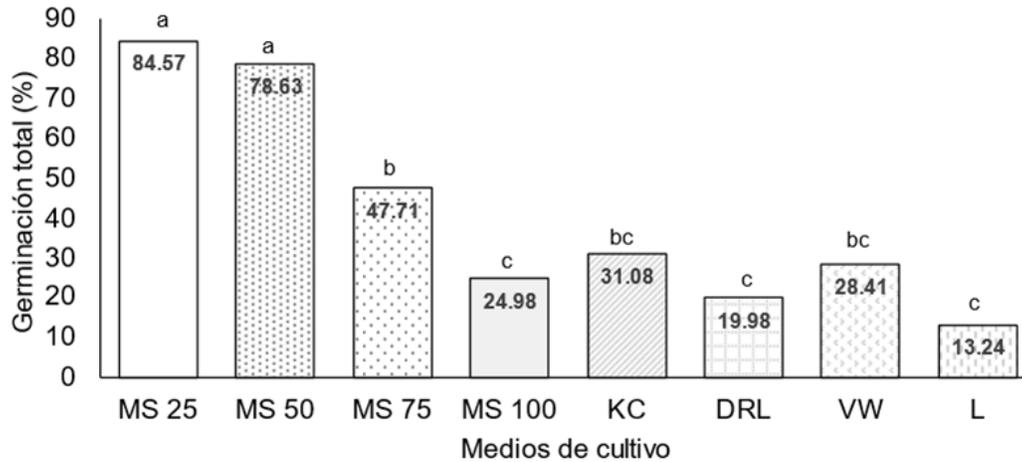


En esta especie la germinación de las semillas fue un poco más lenta en comparación con lo reportado por Aguilar y López Escamilla (2013) para *Laelia speciosa*, las que germinaron en 10 y 16 días en los medios MS al 50 y 100%; sin embargo, indican que en los medios KC al 50 y 100% la germinación se presentó a los 114 y 178 días respectivamente. Lo anterior indica que la germinación de semillas de orquídea varía en función del medio de cultivo y especie.

El porcentaje de semillas germinadas de *L. autumnalis* fue mayor cuando se usaron los macro y micronutrientes del medio MS al 25 y 50% de concentración, sin diferencias estadísticas entre ambos medios de cultivo (84.57 y 78.63%, respectivamente), la tendencia fue a disminuir la germinación conforme aumentó la concentración de sales del medio MS, esto debido a que hubo mayor disponibilidad de agua para que ocurriera el proceso, pues como señalan Martínez-Villegas *et al.* (2015), al aumentar las sales, el potencial osmótico se hace más negativo.

En los medios VW, KC, y MS al 75% la germinación varió de 28.41 a 47.71%. Los medios donde hubo menor germinación fueron MS al 100%, DRL y L, que presentaron 19.98, 64.59 y MS 71.33% menor germinación que la obtenida con el medio MS al 25% de concentración (Figura 2).

Figura 2. Efecto de los medios de cultivo en la germinación total de semillas de *L. autumnalis*. DMSH= 19.82.



Posterior al cambio en el color verde, en las semillas se formaron los pequeños protocormos, a partir de los cuales se observó la primera hoja pequeña. También el crecimiento se manifestó con la emisión de nuevas hojas, el incremento en altura y grosor de tallos, y el crecimiento del rizoides, formando de esta manera una plántula. Las semillas que germinaron en el medio MS al 25% generaron plántulas de color verde amarillento indicando deficiencia de nutrientes debido a la baja concentración de macro y micronutrientes.

### Crecimiento de plántulas

Las semillas germinadas en los medios Vacin y Went (1949) y Lindemann (1970) no generaron plántulas, por lo cual fueron excluidos en los resultados de crecimiento. El análisis de varianza para las variables de crecimiento altura de plántula, longitud de hoja, número de hojas, número de raíces, longitud de raíces y diámetro de pseudobulbos mostró que la composición de los medios de cultivo tuvo efecto altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ).

Los coeficientes de variación fueron de 18.13 a 22.42, los valores de  $R^2$  fueron de 0.88 a 0.94 (Cuadro 3), indicando que el modelo estadístico usado para el análisis de varianza fue el adecuado. La altura de las plántulas fue mayor en los medios MS en concentraciones de 25 a 75%, en contraste, la altura fue menor cuando se usó cualquiera de los otros medios. La longitud de hojas fue mayor en los medios MS al 50 y 75%, los medios de cultivo que propiciaron menor crecimiento fueron MS al 100% y KC.



**Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables de crecimiento *in vitro* de plántulas de *L. autumnalis*, a los tres meses después de la siembra.**

FV	GL	AP	LH	NH	NR	LR	DP
Medios de cultivo 5		51.46**	33.25**	16.53**	2.53**	51.14**	3.64**
Error	54	0.64	0.27	0.13	0.02	0.26	0.04
R <sup>2</sup>		0.88	0.92	0.92	0.89	0.94	0.89
CV (%)		22.42	18.31	18.13	22.22	18.51	21.41
Promedio		3.57	2.86	2.05	0.76	2.79	0.96

GL= grados de libertad; CV= coeficiente de variación; R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación; \*\* = efecto altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ). AP= altura de plántula; LH= longitud de hoja; NH: Número de hojas; NR= número de raíces; LR= longitud de raíces; DP= diámetro de pseudobulbos. N= 100 plántulas por tratamiento.

El número de hojas por plántula también se vio afectado por el medio de cultivo, las plántulas que crecieron en el medio DRL tuvieron mayor número de hojas (3.03 mm por plántula), estadísticamente diferentes solo con las plántulas que crecieron en el medio MS al 25%, que tuvo el menor número.

El diámetro de pseudobulbos, fue estadísticamente igual con la mayoría de los medios, con excepción de las plántulas que crecieron en el medio MS al 25%, donde se presentaron los valores más bajos (Cuadro 4). La cantidad promedio de raíces por plántula varió de 0.75 a 1.24. Los medios KC, MS75 y MS50% fueron estadísticamente iguales, con mayor promedio de raíces (Figura 3). El menor número de estos órganos se presentó en el medio MS100%. La longitud de raíces fue mayor en el medio MS al 50%, sin diferencia estadística con los medios KC y MS al 25%, el medio MS al 100% presentó los valores más bajos (Table 4).

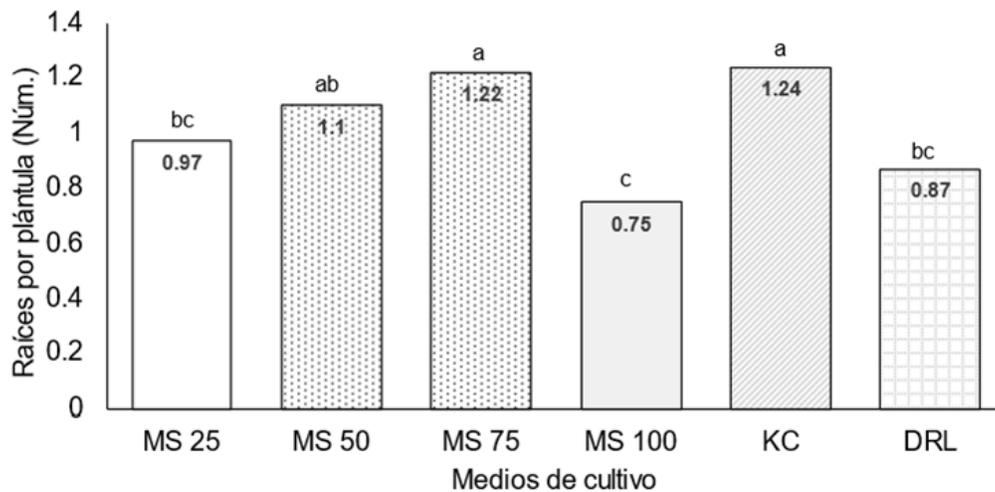
**Cuadro 4. Efecto de los medios de cultivo sobre variables de crecimiento de plántulas de *L. autumnalis*, a los tres meses después de la siembra.**

Medio de cultivo (%)	Altura de plántula (mm)	Longitud de hojas (mm)	Hojas (núm.)	Diámetro de protocormo (mm)	Longitud de raíz (mm)
MS25	4.79 a	3.77 bc	2.31 b	1.09 b	4.64 a
MS50	5.6 a	4.54 a	2.87 a	1.3 ab	5.2 a
MS75	5.32 a	4.33 ab	2.92 a	1.3 ab	3.89 b
MS100	4.04 b	3.14 c	2.75 ab	1.49 a	0.66 d
KC	4.13 b	3.4 c	2.52 ab	1.21 ab	5.08 a
DRL	4.71 ab	3.7 bc	3.03 a	1.29 ab	2.89 c
DMSH ( $p \leq 0.05$ )	1.12	0.73	0.52	0.29	0.72

DMSH= medias con la misma letra en cada columna son iguales estadísticamente, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). N= 100 plántulas por tratamiento.



Figura 3. Efecto de los medios de cultivo en el número de raíces de *L. autumnalis*, a los tres meses después de la siembra. DMSH= 0.23.



El análisis general de los resultados obtenidos para las diversas variables permite señalar que, para la germinación de *in vitro* de semillas de *L. autumnalis* los medios de cultivo MS 25, 50 y 75% y el medio KC fue donde la germinación inició en menor tiempo; aunque, el porcentaje total fue mayor en los medios MS al 25 y 50%. Con respecto al crecimiento de plántulas, la mayoría de las variables indican que fue mejor y similar en los medios MS al 25, 50 y 75%.

Sin embargo, las plántulas fueron de color verde en el medio MS al 50%, en contraste, las plántulas que crecieron en los medios MS al 25 y 75%, después de los 107 días comenzaron a mostrar color violeta o rojizo. Por lo tanto, se considera que el mejor medio de cultivo para germinación y crecimiento de plántulas de *L. autumnalis* fue MS al 50% de concentración de nutrientes. Dalzotto (2013) reportó que la altura de planta, número de raíces y materia seca de *Oncidium biflorium* fueron mayores en el medio MS 50%, lo que coincide con lo obtenido en la presente investigación.

El medio Murashige y Skoog (1962) se ha utilizado en la germinación de varias especies de orquídeas en diferentes proporciones y suplementados con reguladores de crecimiento y otras sustancias. Los resultados obtenidos en el inicio de germinación y germinación total de esta investigación pudieron deberse a que el medio Murashige y Skoog contiene los macronutrientes y micronutrientes necesarios, en comparación con los demás medios.

El estudio de Aguilar y López Escamilla (2013) usaron semillas de *L. speciosa* y reportaron que la germinación fue a los 10 días después de la siembra en medio MS al 50% y a los 16 días en medio MS al 100%, en ambos casos la germinación fue 100%, lo anterior coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que el medio MS al 50% fue el mejor para la germinación de semillas de *L. autumnalis*.

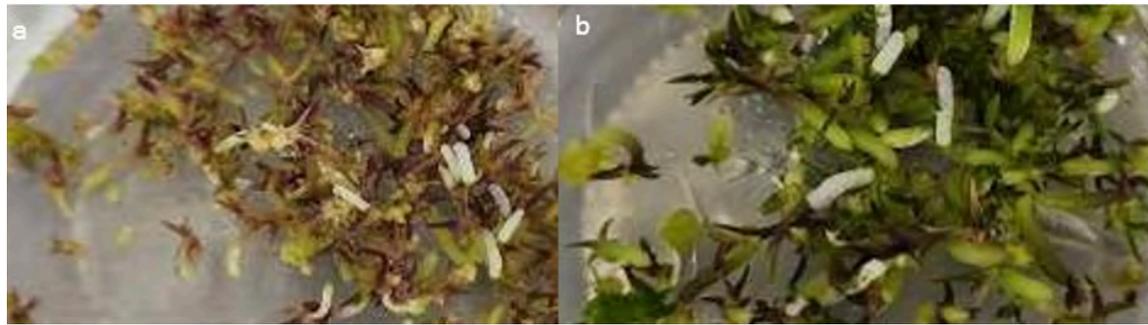
Datos de Hernández *et al.* (2017) utilizaron cápsulas de *Laelia autumnalis* las cuales fueron irradiadas con rayos gama y posteriormente fueron cultivadas en medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) y observaron que el proceso de imbibición se presentó entre los 5 y 40 días y la formación de protocormos fotosintéticos inicio a los 10 días y concluyó hasta los 60 días.

Hallazgos de Francisco *et al.* (2011) no reportaron los días a germinación de *Laelia eyermaniana*; sin embargo, el medio de cultivo que utilizaron para germinar las semillas fue el Murashige y Skoog al 50%. Jara *et al.* (2007) utilizaron los medios MS al 50 y 100%, KC y medio Morel, para la germinación de *Chloraea virescens*, *Chloraea lamellata* y *Gavilea acaucana* y reportan que el medio MS 50% dio los mejores resultados.

La investigación de Ávila *et al.* (2009) germinaron semillas de *Laelia speciosa* usando los medios Murashige y Skoog (1962) al 100 y 50% y el medio Knudson C (KC) adicionados con sacarosa, reportan que los medios MS al 100 y 50% generaron la mejor respuesta en el establecimiento de semillas para esta especie, ya que las primeras etapas de desarrollo fueron mejores en el medio MS en comparación al medio KC.

En cuanto a altura de plántula, longitud de hoja, número de hojas, longitud de raíces, número de raíces, longitud de raíces y diámetro de pseudobulbos se observó que el medio MS al 25% no fue adecuado para el crecimiento de las plántulas. Es importante que los medios de cultivo tengan la cantidad de nutrientes adecuada, para que las plántulas no presenten deficiencia nutrimental y tengan mejor desarrollo, como ocurrió en el medio MS al 25% (Figura 4.)

Figura 4. Crecimiento de plántulas de *L. autumnalis*. a) medio MS (25%) y b) medio MS (50%).



Los medios Vacin y Went (1949); Lindemann (1970) fueron los menos adecuados para la germinación de *L. autumnalis* ya que tardaron más tiempo en germinar; así como, en el porcentaje de germinación donde presentaron los valores más bajos en comparación con los demás medios; por otra parte, las semillas se fueron muriendo conforme pasó el tiempo, por lo que no hubo crecimiento de plántulas.

## Conclusiones

Con base en los resultados de este trabajo, la germinación *in vitro* de semillas de *L. autumnalis* fue mejor en los medios de cultivo MS 25 al 50% ya que el inicio de germinación fue en menor tiempo y en mayor porcentaje. El crecimiento de plántulas fue mejor en el medio MS al 50% en el cual las plántulas fueron de color verde. Por lo tanto, el mejor medio de cultivo para germinación y crecimiento de plántulas de *L. autumnalis* fue el MS al 50% de concentración de nutrientes.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por el apoyo de beca a la estudiante de maestría Marcela Cabañas- Rodríguez.

## Bibliografía

- 1 Aguilar-Morales, M. A. y López-Escamilla, A. L. 2013. Germinación *in vitro* de *Laelia speciosa* (Kunth) Schltr., una herramienta para su conservación *ex situ*. In: estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas. Pulido F. G. y Monks S. (eds.) USA. Zea Books, University of Nebraska. Volumen II. 18-24 pp. <https://digitalcommons.unl.edu/hidalgo>.

- 2 Ávila-Díaz, I.; Oyama, K.; Gómez-Alonzo, C. and Salgado-Garciglia, R. 2009. *In vitro* propagation of the endangered orchid *Laelia speciosa*. Plant Cell Organ Culture. 99(3):332-343. Doi:10.1007/s11240-009-9609-8.
- 3 Castillo-Pérez, L. J.; Martínez-Soto, D.; Maldonado-Miranda, J. J.; Alonso-Castro, A. J. and Carranza-Álvarez, C. 2018. The endemic orchids of Mexico: a review. Eslovaquia. Biología. 74:1-13. 10.2478/s11756-018-0147-x.
- 4 Dalla-Rosa, M. and Laneri, U. 1977. Modification of nutrient solutions for germination and growth "*in vitro*" of some cultivated orchids and for the vegetative propagation of *Cymbidium* cultivars. American Orchid Society Bulletin. 46(9):813-820.
- 5 Dalzotto, C. A. 2013. Efecto de medios de cultivo en el crecimiento *in vitro* de *Oncidium bifolium* Sims. "federal". Revista Científica Agropecuaria. 17(1-2):7-15.
- 6 De Menezes, G. L.; Machado, M. F.; Ballesta, P.; Mora, F.; Milaneze, G. M. A. y Mangolin, C. A. 2016. Suplementos orgánicos para el cultivo *in vitro* del híbrido *Laeliocattleya* (Orchidaceae). Chile. Idesia (Arica). 34(1):47-54. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016000100006>.
- 7 DOF. 2019. Diario Oficial de la Federación. Modificación del anexo normativo III, lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de la flora y fauna silvestre- categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, publicada.
- 8 Dutra, D.; Kane, M. and Richardson, L. 2009. Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Cyrtopodium punctatum*: a propagation protocol for an endangered Florida native orchid. USA. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 96(3):235-243. 10.1007/s11240-008-9480-z.
- 9 Francisco-Nava, J. J.; Jiménez-Aparicio, A. R.; De Jesús-Sánchez, A.; Arenas-Ocampo, M. L.; Ventura-Zapata, E. y Evangelista-Lozano, S. 2011. Estudio de la morfología y aclimatación de plantas de *Laelia eyermaniana* Rchb. f. generadas *in vitro*. Polibotánica. 32(16):107-117.
- 10 Hágsater, E.; Soto-Arenas, M. Á.; Salazar-Chávez, G. A.; Jiménez-Machorro, R.; López-Rosas, M. A. y Dressler, R. L. 2005. Orquídeas de México. México. Instituto Chinoín México, . 304 p.
- 11 Hernández-Muñoz, S.; Pedraza-Santos, M. E.; Morales-García, J. L.; Guillén-Andrade, H.; López, P. A. and Téllez-Velasco, M. A. A. 2013. Phenotypic characterization of Mexican orchid *Laelia autumnalis*. Bélgica. Acta Horticulturae. 977:245-252. 10.17660/ActaHortic.2013.977.28.
- 12 Hernández-Muñoz, S.; Pedraza-Santos, M. E.; López P. A.; Cruz-Torres, E.; Martínez-Palacios, A.; Fernández-Pavía, S. P. y Chávez-Bárcenas A. T. 2017. Estimulación de la germinación y desarrollo *in vitro* de *Laelia autumnalis* con rayos gamma. México. Revista Fitotecnia Mexicana. 40(3):271-283.
- 13 Jara, G.; Seemann, P.; Durán, C. y Soto, S. 2007. Multiplicación *in vitro* y caracterización citológica de dos especies de orquídeas nativas (*Chloraea* y *Gavilea*) de la provincia de Valdivia, Chile. Agro Sur. 35(2):43-44. <http://revistas.uach.cl/pdf/agrosur/v35n2/art21.pdf>.
- 14 Knudson, C. 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seed. American Orchid Society Bulletin. 15(10):214-217.
- 15 Lallana, V. H.; Billard, C. E.; Reinoso, P. D.; Martínez, V. A. y García, L. F. 2020. Banco de germoplasma de orquídeas nativas de la región litoral. Suplemento Ciencia. Docencia y Tecnología. 10(10):84-110.
- 16 Lee-Espinosa, H. E.; Laguna-Cerda, A.; Murguía-González, J.; Iglesias-Andreu, L.; García-Rosas, B.; Escobedo-López, D.; Martínez-Ocampo, Y. M.; Barredo-Pool, F. A. y Santana-

- Buzzy, N. 2010. Un protocolo de embriogénesis somática para la regeneración y caracterización *in vitro* de *Laelia anceps* ssp. *Dawsonii*. México. Revista Fitotecnia Mexicana. 33(4):323-332. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v33n4/v33n4a10.pdf>.
- 17 Lindemann, E. G. P.; Guncke, J. E. and Davidson, W. O. 1970. Meristem culture of *Cattleya*. American Orchid Bulletin. 39(11):1002-1004.
  - 18 Martínez-Villegas, Y. M.; Andrade-Rodríguez, M.; Colinas-León, M. T.; Villegas-Torres, O. G.; Castillo-Gutiérrez, A. and Alía-Tejacal, I. 2015. Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lotsy). Revista Fitotecnia Mexicana. 38(4):369-374.
  - 19 Mayo M. A.; Cazares, J. G. C.; Cruz, E. L. y Flores, A. H. 2010. Germinación *in vitro* de semillas y desarrollo de plántulas de orquídeas silvestres de Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 32 p.
  - 20 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. USA. Physiologia Plantarum. 15(3):473-497. 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
  - 21 Solano, G. R.; Salazar, C. G. A.; Huerta, E. H.; Hagsater, E. and Jiménez, M. R. 2019. Diversity of Mexican orchids: synopsis of richness and distribution patterns. Guayaquil. Proceedings of the 22<sup>th</sup> World Orchid Conference. 255-270 pp.
  - 22 SAS Institute Inc. 2023. SAS/STAT User #s guide, Version 9,2. SAS Institute. Cary, NC.
  - 23 Soto, A. M. A.; Solano, G. R. and Hagsater, E. 2007. Risk of extinction and patterns of diversity loss in Mexican orchids. Costa Rica. Lankesteriana. 7(1-2):114-121.
  - 24 Verma, J.; Sharma, K.; Thakur, K.; Sembi, J. K. and Vij, S. P. 2014. Study on seed morphometry of some threatened western himalayan orchids. Turquía. Turkish Journal of Botany. 38(2):234-251. <https://journals.tubitak.gov.tr/cgi/viewcontent.cgi?article=1560&context=botany>.
  - 25 Villaseñor, J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 87(3):559-902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>.



## Medios de cultivo para la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis*

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 May 2025
Date accepted: 01 August 2025
Publication date: 01 October 2025
Publication date: Aug-Sep 2025
Volume: 16
Issue: 6
Electronic Location Identifier: e3811
DOI: 10.29312/remexca.v16i6.3811

### Categories

Subject: Artículo

### Palabras clave:

**Palabras clave:**

medio MS

orquídea de día de muertos

plántulas de orquídea

### Counts

Figures: 4

Tables: 4

Equations: 0

References: 25

Pages: 0