

# SUCROSE AND ACTIVATED CHARCOAL *in vitro* DETERMINES THE GERMINATION OF *Heliconia* L. ZIGOTIC EMBRYOS

## SACAROSA Y CARBÓN ACTIVADO *in vitro* DETERMINAN LA GERMINACIÓN DE EMBRIONES CIGÓTICOS DE *Heliconia* L.

Ortiz-Curiel, S.<sup>1</sup>; Iracheta-Donjuan, L.<sup>1</sup>; Carrillo-Castañeda, G.<sup>2</sup>; Avendaño-Arrazate, C.H.<sup>1</sup>; Gálvez-Marroquín, L.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa. Carretera Tapachula-Cacahoatán km 18, Tuxtla Chico, Chiapas, México. C. P. 30870.

<sup>2</sup>Colegio de Posgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, México. C. P. 56230. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca. Melchor Ocampo No. 7, Santo Domingo Barrio Bajo, Etlá, Oaxaca, México. C. P. 68200.

\*Autor de correspondencia: ortiz.simitrio@inifap.gob.mx

### ABSTRACT

**Objective:** To determine an *in vitro* culture medium that allows close to 100% germination rates of zygotic embryos of four heliconia species (*H. champneiana*, *H. latispatha*, *H. uxpanapensis* and *H. vaginalis*), native to Mexico.

**Methodology:** Mature zygotic embryos from heliconia species, naturally pollinated, were incubated *in vitro* in permanent light for 27 d. An experiment was established under a 2x10 factorial arrangement with a Completely Randomized Design where two genotypes (*H. uxpanapensis* and *H. champneiana*) were evaluated and 10 MS culture media added with sucrose-activated charcoal concentrations. In a second phase, the best treatment was validated with the additional incubation of *H. latispatha* and *H. vaginalis*. The data were interpreted by means of variance analysis and mean comparison using Tukey with 95% confidence.

**Results:** The combinations 3-0.2 and 4.5-0.05% sucrose-activated charcoal in *H. uxpanapensis* and *H. champneiana*, respectively, favored 100% of germination, in addition to the growth and optimal development of the seedlings. In the second phase, treatment with 3-0.2% sucrose-activated charcoal, also germinated 100% embryos of *H. latispatha* and *H. vaginalis*.

**Implications:** The medium with 3% sucrose and 0.2% activated charcoal eliminates the problem of reduced germination of *Heliconia* and can contribute to germinate with the same success hybrid seed or seed of other species of the same genus.

**Conclusions:** The balance of 3% sucrose and 0.2% of activated charcoal in the MS medium favored 100% germination of four *Heliconia* species, as well as generating plants with optimal growth and development.

**Key words:** *in vitro* reproduction, germination, *Heliconia* spp. *H. champneiana*, *H. latispatha*, *H. uxpanapensis*, *H. vaginalis*.

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar un medio de cultivo *in vitro* que permita tasas de germinación cercanas al 100% de embriones cigóticos de cuatro especies de heliconias (*H. champneiana*, *H. latispatha*, *H. uxpanapensis* y *H. vaginalis*) nativas de México.

**Metodología:** Embriones cigóticos maduros de cuatro especies de heliconia, de polinización natural, se incubaron *in vitro* en luz permanente durante 27 d. Se estableció un experimento factorial 2x10 con diseño completamente al azar donde se evaluaron dos genotipos (*H. uxpanapensis* y *H. champneiana*) y 10 medios de cultivo MS adicionados con concentraciones de sacarosa-carbón activado. En una segunda fase se validó el mejor tratamiento con la incubación adicional de *H. latispatha* y *H. vaginalis*. Los datos se interpretaron mediante el análisis de varianza y comparación de medias mediante Tukey con 95% de confianza.

**Resultados:** Las combinaciones 3-0.2 y 4.5-0.05% sacarosa-carbón activado en *H. uxpanapensis* y *H. champneiana*, respectivamente, favorecieron el 100% de germinación, además del crecimiento y desarrollo óptimo de las plántulas. En la segunda fase el tratamiento con 3-0.2% sacarosa-carbón activado, también germinó el 100% de embriones de *H. latispatha* y *H. vaginalis*.

**Implicaciones:** El medio con sacarosa al 3% y carbón activado al 0.2% elimina el problema de la baja germinación de *Heliconia* y puede contribuir a germinar con el mismo éxito semilla híbrida o semilla de otras especies del mismo género.

**Conclusiones:** El balance de 3% sacarosa y 0.2% de carbón activado en el medio MS favorecieron el 100% de germinación de cuatro especies de *Heliconia*, y generaron plantas con óptimo crecimiento y desarrollo.

**Palabras clave:** Reproducción *in vitro*, germinación, *Heliconia* spp. *H. champneiana*, *H. latispatha*, *H. uxpanapensis*, *H. vaginalis*.

indujeron a la germinaron semillas de *H. stricta* frescas y secas mediante el uso de escarificación; obtuvieron 60% al remojarlas por 24 h en agua y 72% de germinación al tratarlas con ácido sulfúrico por 20 min. Gómez-Merino *et al.* (2010) establecieron embriones frescos *in vitro* de *H. latispatha* y obtuvieron 23.5% de germinación, mientras con *H. collinsiana* fue cercana al 70%.

Un buen balance nutrimental, de reguladores de crecimiento y condiciones óptimas de fotoperiodo en condiciones de cultivo *in vitro* aseguran buenos resultados en la germinación de diversas especies de heliconias. Torres *et al.* (2005) evaluaron 1, 2 y 3% de sacarosa como fuente de carbohidratos en la germinación de embriones *in vitro* de *H. rostrata* y obtuvieron 70, 76.67 y 88.89% de germinación respectivamente. Ulises *et al.* (2010) en embriones de *H. bihai* mediante el uso de sacarosa y glucosa pero con ½ Murashigue y Skoog (MS) obtuvieron 85% y 41% de germinación, respectivamente. Resultados más favorables fueron reportados por Souza *et al.* (2010) al balancear concentraciones de sacarosa y carbón activado complementado con AG<sub>3</sub> o BAP en el medio de cultivo para embriones de *H. bihai* y *H. rostrata*; la germinación osciló de 20 a 100%. Ortiz-Curiel *et al.* (2016) en estudios preliminares con embriones de *H. bourgaeana* mediante el balance de carbón activado (0.1 a 0.4%) y sacarosa (3 al 9%) obtuvieron 85.7% de germinación. En los esquemas de mejoramiento genético cada semilla toma relevancia cuando para obtenerla se recurre a costosos y complejos métodos para lograr la hibridación, y en consecuencia cada individuo representa una combinación única de genes que puede

## INTRODUCCIÓN

**El género** *Heliconia* incluye plantas adaptadas a clima tropicales y subtropicales (Kress *et al.*, 2004). La variabilidad morfológica intra e interespecífica, tanto en planta como en inflorescencia, posibilita su uso ornamental como flor de corte, jardinería o macetas (Berry y Kress, 1991; Gómez-Merino *et al.*, 2018; Jácome-Chacón *et al.*, 2018).

El fruto que producen estas especies es una drupa que posee de uno a tres semillas. Cada semilla presenta un endocarpio petrificado impermeable al agua (Kress y Roesel 1987; Simão *et al.*, 2006) que le confiere grados de latencia y porcentajes variables de germinación según la especie. Por esta razón diversos estudios han explorado estrategias y mecanismos que permitan incrementar las tasas de germinación.

Méndez (2009) usó sustratos convencionales para germinar semillas de *H. chartacea* cv. Surinam Gold y obtuvo 40% de germinación en los primeros dos meses; 22 meses después obtuvo 40% adicional. Kress y Roesel (1987)

ser de utilidad para el fitomejorador. El presente trabajo tuvo por objetivo determinar un medio de cultivo *in vitro* con la concentración adecuada de sacarosa y carbón activado que permita tasas cercanas al 100% de germinación de embriones cigóticos de especies de heliconias nativas de México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del INIFAP-Campo Experimental Rosario Izapa durante los meses septiembre 2017 a abril de 2018. El estudio se dividió en dos fases y en ambos se utilizó el medio de cultivo de Murashigue y Skoog (1962). En la primera fase, por cada litro de medio se agregaron 100 mg de mioinositol, 0.1 mg de tiamina, 0.5 mg de ácido nicotínico, 0.5 mg de piridoxina, 2 mg de glicina, además se adicionó de forma independiente concentraciones de sacarosa y carbón activado. La solución se ajustó a pH de 5.8, se le adicionó 3 g de Gelrite® y esterilizó durante 20 minutos. En cada frasco se vertieron 20 mL de medio de cultivo.

Frutos maduros, con epicarpio de color azul se cosecharon de plantas que se encuentran establecidas en el banco de germoplasma de heliconias del citado Campo Experimental. Los frutos se lavaron con detergente y posteriormente de forma manual y con agua corriente se eliminó toda la pulpa. En campana de flujo laminar las semillas se sometieron al siguiente procedimiento: Se lavaron con alcohol al 70% durante un minuto, en NaClO al 3% durante 20 min y finalmente con NaClO 1.5% durante 15 min. Después de cada lavado se enjuagaron con agua esterilizada. Posteriormente, con una pinza esterilizada se presionó a la semilla en la parte opuesta al opérculo para que expulsara el embrión con base en la metodología propuesta por Torres et al. (2005), inmediatamente los embriones se colocaron en los medios de cultivo correspondientes e incubaron en luz permanente con intensidad lumínica de 900 lux durante 27 días y a temperatura de  $26 \pm 2$  °C.

Se estableció un experimento con arreglo factorial  $2 \times 10$  con diseño completamente al azar. Los factores evaluados fueron: genotipo (*H. uxpanapensis* y *H. champneiana*) y medio de cultivo con los siguientes porcentajes de sacarosa-carbón activado (p/v): 1) 1.5-0.05, 2) 1.5-0.1, 3) 1.5-0.2, 4) 3-0.05, 5) 3-0.1, 6) 3-0.2, 7) 4.5-0.05, 8) 4.5-0.1, 9) 4.5-0.2 y 10) 0-0. Cada tratamiento se integró por cuatro repeticiones; un frasco con medio de cultivo fue la unidad experimental.

Las variables respuesta fueron: porcentaje de germinación (número de embriones establecidos/número de embriones germinados  $\times 100$ ), número de hojas, número de raíces, altura de planta (cm), peso fresco (mg) y peso seco (mg). Se consideró embrión germinado a aquel que presentó la radícula y el protófilo.

Para determinar el peso seco, las muestras se extrajeron de *in vitro*, se pesaron y colocaron en estufa a 60 °C y se pesaron cuando el peso se mantuvo constante.

Los datos se interpretaron mediante el análisis de su varianza con su previa comprobación de supuestos del modelo y la comparación de medias mediante Tukey con 95% de confianza. Se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.0.

### Validación del medio de cultivo que favoreció la germinación y el desarrollo de plántulas

La segunda fase consistió en validar el medio de cultivo que propició, en la fase previa, la mayor tasa de germinación, pero además las mejores características de plántulas. Se indujeron a la germinación embriones de los genotipos previamente estudiados además de *H. latispatha* y *H. vaginalis*. El procedimiento de desinfección de semillas y extracción de embriones cigóticos fue el anteriormente descrito. Además, el medio de cultivo utilizado fue con las mismas sales y suplementos del medio MS. Las variables fueron germinación y, altura de planta a los 27 días después de siembra. Las plántulas generadas durante la etapa de validación fueron aclimatadas en sustrato 90% turba-10% agrolita.

## RESULTADOS Y DISUSIÓN

El balance de sacarosa-carbón activado en el medio de cultivo determinó la germinación de los embriones. En el testigo (medio blanco), los embriones permanecieron vivos durante el experimento, mostraron indicios de reactivación en la zona meristemática pero no emitieron ni la radícula ni el protófilo. El 100% de germinación de ambos genotipos se obtuvo en los medios de cultivo 3, 4, 6 y 7, mientras que, en el resto de los medios que se caracterizaron por concentraciones marginales de sacarosa-carbón activado, la germinación fue menor (Cuadro 1). A partir de que Nathan et al. (1992) utilizaron con éxito sacarosa al 3% como fuente básica de carbohidratos con fines de multiplicación de yemas axilares y apicales de *Heliconia psittacorum*, Torres et al. (2005) utilizaron concentraciones entre 1 y 8% para germinar



**Cuadro 1.** Comparación de medias del efecto del genotipo, medio de cultivo y la interacción, en la germinación de embriones de heliconia.

Factor	Ger (%)	NH	NR	AL (cm)	PF (mg)	PS (mg)
<b>Genotipo</b>						
H. uxp	87	2.5 a	5.6 a	2.9 a	127.5 a	6.8 a
H. cham	85	2.4 a	4.1 b	2.5 a	116.9 a	6.8 a
<b>Medio de cultivo con sac-ca</b>						
9) 4.5-0.2	96	2.8 a	8.0 a	3.7 a	188.3 a	11.4 a
8) 4.5-0.1	92	2.7 a	6.1 abc	2.6 ab	142.2 abc	8.4 abc
7) 4.5-0.05	100	2.7 a	6.8 ab	2.8 ab	157.5 ab	9.9 ab
6) 3-0.2	100	3.0 a	5.7 abc	3.7 a	167.5 ab	8.7 abc
5) 3-0.1	94	2.6 a	4.5 bc	2.7 ab	111.4 bcd	6.2 cde
4) 3-0.05	100	2.5 a	5.1 abc	2.4 ab	89.9 cd	5.0 de
3) 1.5-0.2	100	3.0 a	4.6 bc	3.7 a	142.4 abc	6.7 bcd
2) 1.5-0.1	92	2.8 a	4.7 bc	3.5 ab	143.3 abc	7.0 bcd
1) 1.5-0.05	93	2.6 a	3.1 c	2.0 b	65.0 de	3.2 ef
10) 0-0	0	0 b	0 d	0 c	14.3 e	1.3 f
<b>Combinación</b>						
Uxp-9	92	2.7 a	10 a	3.8 a	197.0 a	12.0 a
Uxp-8	100	2.7 a	7.9 ab	2.9 a	152.7 abc	8.3 abcd
Uxp-7	100	2.9 a	7.8 ab	3.3 a	184.8 ab	10.8 ab
Uxp-6	100	2.9 a	5.6 abc	3.4 a	156.2 abc	7.8 abcd
Uxp-5	100	3 a	5.5 abc	3.1 a	123.7 abc	6.4 bcde
Uxp-4	100	2.6 a	6.0 abc	2.8 a	100.7 abc	5.1 cde
Uxp-3	100	3 a	5.0 bc	4.1 a	149.0 abc	6.0 abcde
Uxp-2	92	2.7 a	4.3 bcd	3.4 a	131.9 abc	6.2 bcde
Uxp-1	92	2.7 a	4 bcd	2.0 ab	65.4 cd	3.1 de
Uxp-10	0	0 b	0 d	0 B	15.5 d	1.4 e
Cha-9	100	2.8 a	6.1 abc	3.6 a	179.6 ab	10.8 ab
Cha-8	84	2.8 a	4.3 bcd	2.3 ab	131.8 abc	8.5 abcd
Cha-7	100	2.4 a	5.8 abc	2.3 ab	130.3 abc	9.0 abc
Cha-6	100	3.2 a	5.7 abc	4.0 a	178.0 abc	9.6 abc
Cha-5	89	2.3 a	3.6 bcd	2.3 ab	99.1 abcd	6.1 bcde
Cha-4	100	2.5 a	4.2 bcd	2.0 ab	79.2 bcd	4.9 cde
Cha-3	100	3.1 a	4.1 bcd	3.3 a	134.9 abc	6.8 abcd
Cha-2	92	2.9 a	5.1 abc	3.5 a	154.7 abc	7.7 abcd
Cha-1	94	2.5 a	2.3 cd	1.9 ab	65.5 cd	3.4 de
Cha-10	0	0 b	0 d	0 b	13.0 d	1.0 e

Nota: Ger=Germinación; NH=Número de hojas; NR=Número de raíces; AL=Altura de planta; PF=Peso fresco; PS=Peso seco; H. uxp (Uxp)=*Heliconia uxpapensis*; H. cham (Cha)=*Heliconia champneiana*; sac=Sacarosa; ca=Carbón activado. Letras distintas en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ).

embriones cigóticos de heliconias. Estos últimos autores obtuvieron que concentraciones inferiores a 1% en el medio *in vitro* no contribuyen en la germinación, mientras que concentraciones elevadas provocan un desbalance osmótico, lo cual interfiere de manera negativa en la biología de las plantas. Souza *et al.* (2010) con sacaro-

sa al 6% obtuvieron 68% de germinación en *H. rostrata* y 88% en *H. bihai*.

Diversos estudios indican que el carbón activado en el cultivo *in vitro* estimula la germinación; no obstante, los resultados son más favorables cuando se combina con

la sacarosa en el medio de cultivo. Souza et al. (2010) complementaron 0.25% de carbón activado al medio con sacarosa y obtuvo 100% de germinación en las especies previamente citadas. Diro y Staden (2004) evaluaron los beneficios del carbón activado en la germinación de *Ensete ventricosum* (Musaceae) y obtuvieron porcentajes de germinación del 75 a 100%.

Los medios de cultivo que favorecieron el 100% de germinación fueron aquellos constituidos por 1.5-0.2, 3-0.05, 3-0.2 y 4.5-0.05%, sacarosa-carbón activado, cantidades relativamente inferiores a los que utilizaron Souza et al. (2010) en las citadas especies, que cabe mencionar, son originarias de Sudamérica.

El análisis de varianza de número de hojas, número de raíces, altura, peso fresco y peso seco mostró diferencias significativas por efecto del medio de cultivo ( $p < 0.0001$ ), así como la interacción del genotipo\*medio de cultivo. El factor genotipo solamente tuvo efecto en la variable número de raíces.

La comparación de medias en la variable número de hojas mostró diferencias entre los medios de cultivo con respecto al testigo, por la razón que en este último no hubo plántulas, solamente embriones vivos (Cuadro 1).

En la variable número de raíces, *H. uxpanapensis* fue superior a *H. champneiana*. El análisis del factor medio de cultivo mostró que el medio 9 fue superior a los tratamientos 5, 3, 2, 1 y 10, pero no estadísticamente diferente a 4, 6, 7, y 8. Los medios de cultivo que indujeron mayor formación de raíces tienen en común 3 y 4.5% sacarosa con cualquiera de las concentraciones de carbón activado, excepto el medio de cultivo 5.

En la variable altura, los medios de cultivo 3, 6 y 9 (cada uno con 1.5, 3 y 4.5% de sacarosa combinados con 0.2% de carbón activado) fueron superiores estadísticamente a la altura inducida en el medio 1, pero no fueron significativamente diferentes a la altura en los medios 2, 4, 5, 7 y 8. El hecho que en altura haya solamente dos grupos (omitiendo el testigo) expresa que las plantas elongaron pero no desarrollaron, condición que se pudo discriminar en las variables peso fresco y peso seco.

En las variables peso fresco y peso seco nuevamente el tratamiento 9 fue superior a los tratamientos 5, 2 y 1, además superior al tratamiento 4, pero sin diferencias significativas respecto a los tratamientos 8, 7 y 6. Resalta

que en peso fresco y peso seco el testigo se agrupó con el medio 1, y éste a su vez con los medios 4 y 5. Cabe destacar que el medio 4, aunque generó 100 % de germinación, aparentemente no propició las condiciones para una óptima acumulación de biomasa, contrario a lo que sucedió con medios 6, 7, 8 y 9.

Con los resultados anteriores, se dedujo que en el análisis factorial, el medio 9 favoreció a la mayoría de variables cuantitativas, no obstante, la interacción mostró que el genotipo-medio 9 no fue del todo favorable en la germinación de *H. uxpanapensis*. En este mismo sentido, la interacción genotipo-medio 8 también fue desfavorable en la germinación de *H. champneiana*. Con esto como base, los medios de cultivo 7 y 6 favorecieron la germinación además de las variables previamente analizadas. En este sentido, se optó por validar el medio 6 en la siguiente fase del presente trabajo.

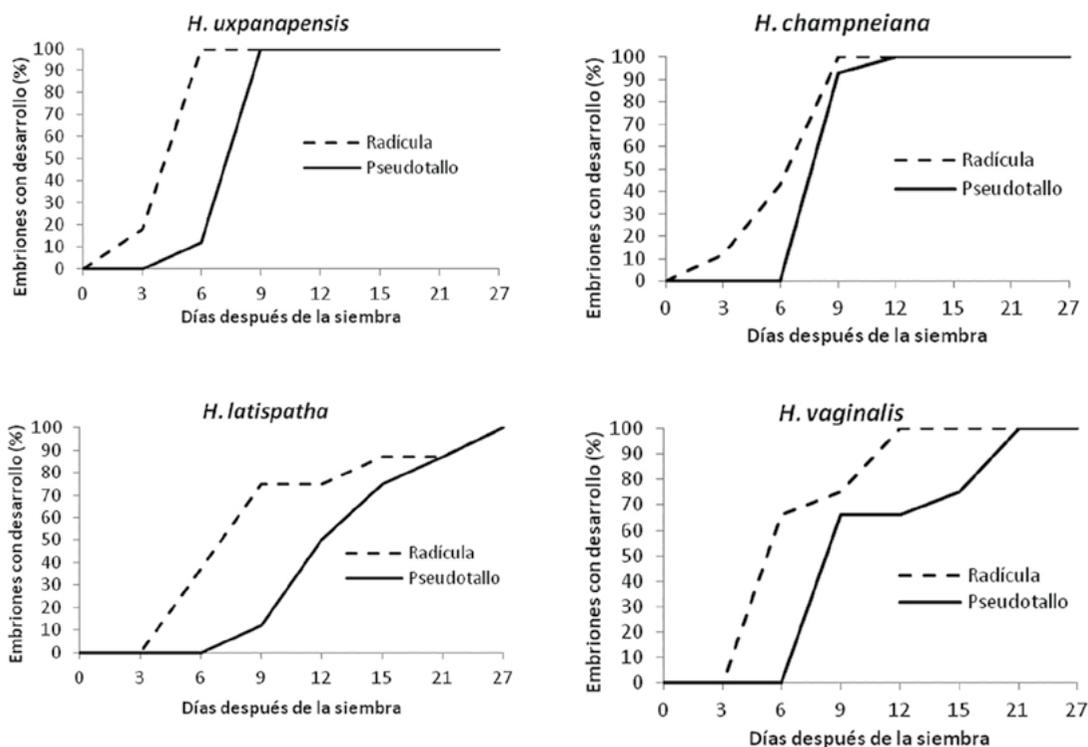
### **Germinación de cuatro especies de *Heliconia* con 3% sacarosa – 0.2% carbón activado**

La efectividad del tratamiento 6 (3% sacarosa – 0.2% carbón activado) quedó demostrada al lograr la germinación del 100% de embriones en las cuatro especies; no obstante, la incidencia de germinación de cada especie permitió determinar tendencias en función del tiempo.

A los 3DDS *H. uxpanapensis* y *H. champneiana* mostraron pelos radicales en la zona meristemática anticipando la emisión de la radícula; en *H. latispatha* y *H. vaginalis* estas estructuras fueron evidentes entre el quinto y sexto día (Figura 1).

En los primeros embriones de *H. uxpanapensis* y *H. champneiana* el protófilo se observó a partir del sexto día (Figura 2 B) y los últimos se observaron al noveno día en *H. uxpanapensis* mientras que en *H. champneiana* al doceavo día.

Respecto a *H. latispatha* y *H. vaginalis*, aunque los pelos radicales se observaron dos días después que *H. uxpanapensis* y *H. champneiana*, la emisión tanto de la radícula como del protófilo en su conjunto fue heterogénea, de esta manera, la germinación concluyó a los 21 días en *H. vaginalis* y 27 días en *H. latispatha*. Estas dos especies aparentemente comparten similitudes en la respuesta con las especies *H. rostrata* y *H. bihai* que estudiaron Souza et al. (2010), ya que en dichas especies la radícula apareció a los 7 DDS; sin embargo, el 100% de germinación lo obtuvieron hasta los 45 DDS.



**Figura 1.** Respuesta de embriones *in vitro* de cuatro especies de *Heliconia* al medio de cultivo con 3% sacarosa y 0.2% de carbón activado.

Dada la incidencia de la germinación de *H. vaginalis* y *H. latispatha* se aprecia una germinación escalonada (Figura 1 C y D). Criley y Broschat (1992) y Simão *et al.* (2006) indicaron que la especie y la testa petrificada de la semilla que protege al embrión son responsables del tiempo que tardan las semillas para germinar, al menos por los métodos convencionales que han utilizado. Aun con las condiciones *in vitro* a la que se sometieron los embriones hay indicios que los patrones de germinación dependen de la especie, y para el caso de *H. vaginalis* y *H. latispatha* parece ajustarse a la tendencia que reportó Méndez (2009) al germinar semilla de *H. chartacea* (por métodos convencionales), donde un primer bloque germinó en los dos primeros meses y después de 22 meses germinó el 40% restante.

En complemento a la variable germinación, la altura promedio que alcanzaron las plantas a los 27 DDS fue de 3.8 cm en *H. champneiana*, 3.1 cm en *H. uxpanapensis*, 2.5 cm en *H. vaginalis* y 1.7 en *H. latispatha*. Souza *et al.* (2010) lograron plantas de 2.4 cm de altura en *H. rostrata* y 2.3 cm en *H. bihai* después de los 45 DDS. Esta diferencia puede estar determinada por el genotipo, pero también por las condiciones de iluminación, ya que los citados autores sometieron los embriones a oscuridad total durante todo del experimento, mientras que en el presente trabajo se sometieron a luz permanente. Simão

*et al.* (2006) y Benítez-Domínguez *et al.* (2011) al estudiar los aspectos morfo-anatómicos de la semilla de *Heliconia* concluyeron que pese a que los embriones están bien diferenciados a la madurez fisiológica del fruto, y aun después de un año de almacenamiento, la germinación está asociada con factores como el endocarpio petrificado, las condiciones de luz y temperatura.

Finalmente, las plántulas aclimatadas en condiciones de invernadero, después de 30 días desarrollaron hojas y raíces completamente funcionales (Figura 2D). Con base en los resultados de germinación del 100% de embriones y del desarrollo óptimo en invernadero de las cuatro especies evaluadas en el presente estudio, surgen expectativas de germinación y desarrollo óptimo de las plántulas para otras especies; asimismo, abre un campo de estudio para determinar el patrón de germinación por medios convencionales partiendo de la hipótesis que cada semilla es viable. Así, posiblemente se entenderá si el endocarpio representa una estrategia de regulación de la especie o es para dispersar su progenie en el espacio y en el tiempo.

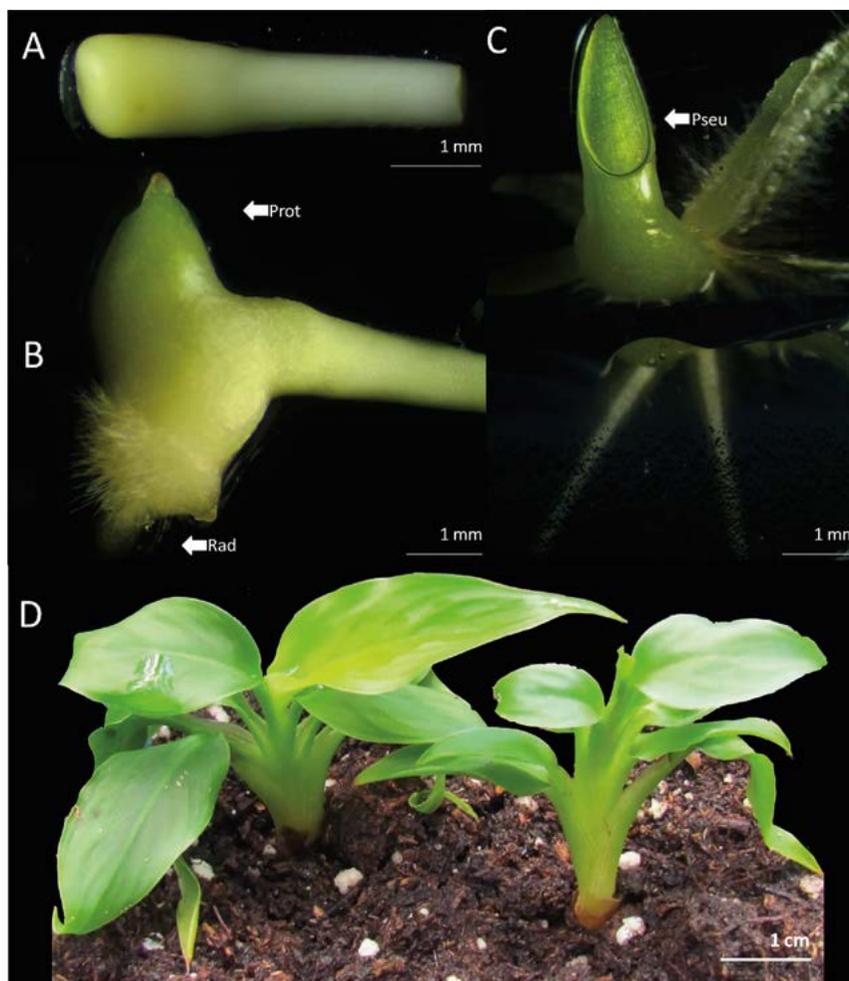
## CONCLUSIONES

**En el cultivo** *in vitro*, 3% sacarosa combinada con 0.2% de carbón activado permite la germinación del

100% de embriones, además el desarrollo óptimo de las plántulas. Se observó que *H. latispatha* y *H. vaginalis* presentan un patrón de germinación heterogéneo. Los resultados del presente trabajo generan expectativas de germinación óptima para otras especies.

## LITERATURA CITADA

- Benítez-Domínguez, L., F.C., Gómez-Merino, L.I., Trejo-Téllez, y A., Robledo-Paz. (2011). Anatomía, contenidos de ácido abscísico y nutrimentos y germinación de semillas de *Heliconia*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34, 189-196.
- Berry, F., and W.J., Kress. (1991). *Heliconia: An Identification Guide*. Washington, D. C., USA: Smithsonian Institution Press.
- Criley, R.A., and T.K., Broschat. (1992). *Heliconia: Botany and Horticulture of a New Floral Crop*. *Horticultural Reviews*, 14, 1-55.
- Diro M., and J.V., Staden. (2004). Germination of zygotic embryos and *in vitro* growth of seedlings of wild types of *Ensete ventricosum*. *South African Journal of Botany*, 70, 635-639.
- Gómez-Merino, F.C., Vidal-Morales B., Trejo-Téllez L. I., y C., Molinos da Silva. (2010). Escarificación y germinación *in vitro* de semillas de heliconias. *Universidad y Ciencia*, 26, 293-297.
- Gómez-Merino, F.C., L.I., Trejo-Téllez, J.C., García-Albarado, y J.A., Pérez-Sato. (2018). Diversidad, distribución y reproducción de heliconias. *Agroproductividad*, 11, 33-40.
- Jácome-Chacón, M.A., L.I., Trejo-Téllez, J.A., Pérez-Sato, J.C., García-Albarado, C., Cuacua-Temiz, y F.C., Gómez-Merino. (2018). Consideraciones sobre manejo fitosanitario, nutrimental y postcosecha de heliconias para su comercialización. *Agroproductividad*, 11, 41-48.
- Kress, W.J., and C., Roesel. (1987). Seed germination trials in *Heliconia stricta* cv. Jamaica. *Heliconia Society International Bulletin*, 2, 6-7.
- Kress, W.J., J., Betancur, and B., Echeverry. (2004). *Heliconias Llamadas de la Selva Colombiana*. Bogotá, Colombia: Cristina Uribe.
- Méndez, C.H. (2009). The Magic of Seeds—Believe in Miracles. *Heliconia Society International Bulletin* 15, 2-4.
- Murashige, T., and F., Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Nathan, M.J., C., Goh, and P.P., Kumar. (1992). *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. *Hort Science* 27, 450-452.
- Ortiz-Curiel, S., L. Iracheta-Donjuan, Cruz-López, P., López-Gómez, J., Pineda-Aguilar, and A., Quintana-Escobar. (2016). Efecto de la sacarosa y carbón activado en la germinación *in vitro* de embriones cigóticos maduros de *Heliconia bourgaeana*. In: XI Congreso de Biotecnología "Chiapas 2016".
- Simão, D.G., V.L., Scatena, and F., Bouman. (2006). Developmental anatomy and morphology of the ovule and seed of *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). *Plant Biology*, 8, 143-154.
- Souza, E.H., T.L., Soares, F.V.D., Souza, and S.J.A., Santos. (2010). Micropropagation of *Heliconia rostrata* and *Heliconia bihai* from Mature Zygotic Embryos. *Acta Horticulturae*, 865, 315-320.
- Torres, A.C., F.D., Duval, D.G., Ribeiro, A.F., Barros, and F.A., Aragão. (2005). Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. *Horticultura Brasileira*, 23, 789-792.
- Ulisses, C., G. F., Melo-de-Pinna, L., Willadino, C., Cavalcanti de Albuquerque, and T., Rangel-Camara. (2010). *In vitro* propagation of *Heliconia bihai* (L.) L. from zygotic embryos. *Acta Botanica Brasílica*, 24, 184-192.



**Figura 2.** Fases del cultivo *in vitro* de embriones de *H. champneiana*. A) al establecimiento, B) embrión con cinco días después de siembra (DDS), C) embrión con 8 DDS y D) plántulas aclimatadas con 90 días de edad. Flechas señalan zona meristemática. Prot.-Protófilo, Pseu.-Pseudotallo y Rad.-radícula.