

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

VOL II

 EDITORA
ARTEMIS
2023

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

 EDITORA
ARTEMIS
2023

VOL II



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

Editora Chefe	Prof. ^a Dr. ^a Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Executiva	M. ^a Viviane Carvalho Mocellin
Direção de Arte	M. ^a Bruna Bejarano
Diagramação	Elisangela Abreu
Organizador	Prof. Dr. Manuel Simões
Imagem da Capa	Vivilweb/123RF
Bibliotecário	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.^a Dr.^a Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof. Dr. Agustín Olmos Cruz, *Universidad Autónoma del Estado de México*, México
Prof.^a Dr.^a Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano*, Peru
Prof.^a Dr.^a Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
Prof.^a Dr.^a Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof.^a Dr.^a Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^a Dr.^a Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato*, México
Prof.^a Dr.^a Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF, Brasil
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará, Brasil
Prof.^a Dr.^a Edith Luévano-Hipólito, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México
Prof.^a Dr.^a Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo (USP), Brasil
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil
Prof.^a Dr.^a Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México



Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca, Espanha*
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República, Uruguay*
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara, México*
Prof. Dr. Fernando Hitt, *Université du Québec à Montréal, Canadá*
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Gabriela Gonçalves, *Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal*
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, *Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, *Instituto Politécnico da Guarda, Portugal*
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca, Argentina*
Prof. Dr. Håkan Karlsson, *University of Gothenburg, Suécia*
Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, *Universidade São Francisco, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura, Peru*
Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Ivan Amaro, *Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bio-Bio, Chile*
Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, *Universidade Federal do Amazonas, Brasil*
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College, Estados Unidos*
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha, Espanha*
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, *Universidade de Évora, Portugal*
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, *UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil*
Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. José Cortez Godínez, *Universidad Autónoma de Baja California, México*
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Díaz, *Instituto Politécnico Nacional, México*
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid, Espanha*
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín, Colômbia*
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México*
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil*
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, *Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil*
Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, *Universidade Federal de Goiás, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, *Universidade de Passo Fundo, Brasil*
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodríguez, *Universidad Santiago de Compostela, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, *Universidade Federal de Itajubá, Brasil*
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, *Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil*
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, *Universidade Federal de Sergipe, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, *Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil*
Prof.ª Dr.ª María Alejandra Arecco, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, *Universidade Federal da Bahia, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I, Espanha*
Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, *Universidade Nova de Lisboa, Portugal*
Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, *Universidade Federal do Maranhão, Brasil*
Prof.ª Dr.ª Maria Gracinda Carvalho Teixeira, *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil*



Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal
Prof.^a Dr.^a Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba
Prof.^a Dr.^a Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México
Prof.^a Dr.^a Odara Horta Boscolo, *Universidade Federal Fluminense*, Brasil
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru
Prof.^a Dr.^a Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof.^a Dr.^a Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil
Prof.^a Dr.^a Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University*, Russia
Prof.^a Dr.^a Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia
Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León*, Espanha

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

E82 Estudos em biociências e biotecnologia [livro eletrônico] : desafios, avanços e possibilidades: vol. II / Organizador Manuel Simões. – Curitiba, PR: Artemis, 2023.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

Edição bilíngue

ISBN 978-65-87396-83-5

DOI 10.37572/EdArt_310523835

1. Ciências biológicas. 2. Biotecnologia. 3. Biomedicina.
I.Simões, Manuel.

CDD 574

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



PREFÁCIO

A investigação científica e o desenvolvimento tecnológico têm permitido criar soluções para os mais diversos problemas sociais. Contudo, os avanços científicos e tecnológicos não se podem distanciar das abordagens de disseminação relevantes, que permitam que o conhecimento seja disponibilizado de forma criteriosa e compreensível à comunidade académica, às empresas/indústria e ao público em geral.

O segundo volume da edição “Estudos em Biociências e Biotecnologia” é composto por 12 capítulos que descrevem avanços significativos das ciências e tecnologias biológicas aplicadas a diversas áreas de investigação, complementando os trabalhos publicados no primeiro volume. Em particular, este volume, reúne capítulos relacionados com as ciências biológicas nas seguintes áreas/tópicos: biomédica (capítulos 1 e 2); biologia funcional e biotecnologia de plantas (capítulos 3 a 6); produção e proteção de alimentos (capítulos 7 a 9); ambiente e biorrecursos (capítulos 10 a 12).

O leitor deste volume beneficiará de um conjunto de informação inovadora que, além de ser um excelente contributo científico, contribuiu para dar resposta a diversos objetivos de desenvolvimento sustentável estabelecidos pela Assembleia Geral das Nações Unidas.

Manuel Simões

SUMÁRIO

MEDICINA

CAPÍTULO 1..... 1

AISLAMIENTO, CULTIVO Y CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES DE PULPA DENTAL PROVENIENTES DE POBLACIÓN MEXICANA: PERSPECTIVAS EN EL DESARROLLO DE TERAPIA CELULAR

Flor Yohana Flores Hernández
Héctor Miguel Ramírez Bedoy
Laura Susana Villa García Torres
Gleira Lisseth González Pelayo
Luz Patricia Escobar Santibáñez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238351

CAPÍTULO 2..... 14

ALTERACIÓN EN VIABILIDAD CELULAR, DAÑO EN ADN Y CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE HSP70 EN LEUCOCITOS HUMANOS EXPUESTOS A RADIACIÓN UVA Y CALOR

David Alejandro García López
Rosa Gabriela Reveles Hernández
Rosa María Ramírez Santoyo
Luz Elena Vidales Rodríguez
María Argelia López Luna
Sergio Hugo Sánchez Rodríguez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238352

BIOLOGIA FUNCIONAL E BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS

CAPÍTULO 3..... 26

IDENTIFICACIÓN DE HÍBRIDOS DE *Citrus aurantifolia* X *Citrus limon* UTILIZANDO MARCADORES DE SECUENCIAS SIMPLES REPETIDAS (SSR)

Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán
Mario Orozco Santos
Claudia Yared Michel López
Paola Andrea Palmeros Suárez
Mayra Guadalupe Mena Enriquez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238353

CAPÍTULO 4..... 40

DINÁMICA DE CALIDAD, CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE NOGAL PECANERA
(*CARYA ILLINOINENSIS* KOCH)

Joe Luis Arias-Moscoso
Francisco Cadena-Cadena
Felipe Reynaga Franco
Alejandro García Ramírez
Gilberto Rodríguez Pérez
Dulce Alondra Cuevas-Acuña
José Eliseo Ortiz Enríquez
Jesús Arnulfo Márquez Cervantes

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238354

CAPÍTULO 5..... 45

GERMINACIÓN *in vitro* DE TRES ESPECIES DE ORQUÍDEAS ENDÉMICAS DE LA
REGIÓN SUROCCIDENTAL DEL ESTADO DE MICHOACÁN, MÉXICO

María Guadalupe Mendoza García
Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán
Susana de la Torre Zavala
Esmeralda Judith Cruz Gutiérrez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238355

CAPÍTULO 6..... 63

ANÁLISIS DE LA PROPORCIÓN DE SEXOS DE *DIAPHORINA CITRI* KUWAYAMA EN
EL ESTADO DE VERACRUZ, MÉXICO

Araceli Flores Aguilar
Benito Hernández Castellanos
Julio César Castañeda Ortega
Diana Pérez Staples
Lourdes Cocotle Romero

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238356

PRODUÇÃO E PROTEÇÃO ALIMENTAR

CAPÍTULO 7..... 69

EL POLVO DE DIATOMEAS ES UNA OPCION SUSTENTABLE PARA PROTECCIÓN DE
MAIZ ALMACENADO

José Guadalupe Loya Ramírez

Félix Alfredo Beltrán Morales
Sergio Zamora Salgado
Francisco Higinio Ruiz Espinoza
Jesús Navejas Jiménez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238357

CAPÍTULO 8.....75

ANÁLISIS BIOECONÓMICO DEL CULTIVO INTENSIVO FOTO-HETEROTRÓFICO DE CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) EN ALTA SALINIDAD CON REPOSICIÓN MINIMA DE AGUA, PARA EL CICLO VERANO-OTOÑO

Luis Daniel Moreno-Figueroa
Humberto Villarreal-Colmenares
Alfredo Hernández-Llamas
José Naranjo-Páramo
Mayra Vargas-Mendieta

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238358

CAPÍTULO 9.....82

¿CÓMO VA EL CAMBIO DE ESTATUS DE LOS CULTIVOS/ALIMENTOS NUS EN CULTIVOS/ALIMENTOS NO-NUS?

Ximena Rocío Cadima Fuentes

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3105238359

AMBIENTE E BIORRECURSOS

CAPÍTULO 10..... 93

DECOMPOSITION OF THE INVASIVE ACACIA *LONGIFOLIA* IN A PERI-URBAN STREAM

Manuela Abelho

 https://doi.org/10.37572/EdArt_31052383510

CAPÍTULO 11..... 105

REMOCIÓN DE CINCO PRODUCTOS FARMACÉUTICOS CATALOGADOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO LA ESPECIE VETIVER (*Chrysopogon zizanioides*)

Miriam Checa-Artos
Daynet Sosa del Castillo
Eulalia Vanegas María

Omar Ruiz-Barzola

Milton Barcos-Arias

 https://doi.org/10.37572/EdArt_31052383511

CAPÍTULO 12122

GIBBERELLIC ACID DETERMINATION IN AGRICULTURAL SOILS

Gabriel Hernández-Morales

José Enrique Botello-Álvarez

Marcela Cárdenas-Manríquez

Ricardo Gómez-González

Pasiano Rivas-García

Brenda Ríos-Fuentes

Ramiro Rico-Martínez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_31052383512

SOBRE O ORGANIZADOR.....132

ÍNDICE REMISSIVO133

CAPÍTULO 5

GERMINACIÓN *in vitro* DE TRES ESPECIES DE ORQUÍDEAS ENDÉMICAS DE LA REGIÓN SUROCCIDENTAL DEL ESTADO DE MICHOACÁN, MÉXICO¹

Data de submissão: 30/03/2023

Data de aceite: 18/04/2023

María Guadalupe Mendoza García

Instituto Tecnológico Superior de
Coalcomán (ITSC)
Laboratorio Químico-Biológicas
Academia de Ingeniería en
Desarrollo Comunitario
Coalcomán de Vázquez Pallares
Michoacán, México
ORCID: 0000-0002-6447-8236

Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y
Pecuarias (INIFAP)
Campo Experimental Tecomán
Laboratorio de Biotecnología
Tecomán, Colima, México
ORCID: 0000-0003-1949-1922

Susana de la Torre Zavala

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Biológicas
Instituto de Biotecnología
San Nicolás de los Garza
Nuevo León, México
ORCID: 0000-0002-7109-0467

Esmeralda Judith Cruz Gutiérrez

Centro Nacional de Recursos
Genéticos del INIFAP
Laboratorio Agrícola-Forestal
Sección Conservación *in vitro*
Crioconservación de Tejido Vegetal
Tepatitlán de Morelos
Jalisco, México
ORCID: 0000-0002-2092-5284

RESUMEN: La familia de las orquídeas (Orchidaceae) está representada por aproximadamente 27,800 especies que abarcaba entre 600-800 géneros. Solamente en México se han registrado alrededor de 1,260 especies, donde el 40% de ellas, son endémicas. En un ambiente natural, la germinación de semillas mantiene un porcentaje muy bajo (3%), y solo una semilla germinada tiene la posibilidad de convertirse en planta adulta. En este contexto, se desarrolló el presente estudio, con el objetivo de micropropagar tres especies de orquídeas endémicas y bajo categoría de amenazadas: *Prosthechea citrina*, *Oncidium tigrinum* y *Stanhopea hernandezii* en medio de cultivo *in vitro* MS, enriquecido con dos reguladores de crecimiento Benciladenina (BA) y Ácido Giberélico (GA₃). Los resultados muestran que es posible la germinación *in vitro* de las especies, logrando un 62% a los 25 días para *P. citrina* (BA 0.05 mg/L y 0.5 mg/L GA₃), un 97 % a los 20 días para *O. tigrinum* (BA

¹ Esta información fue generada con recursos propios del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) durante una estancia de investigación de la estudiante María Guadalupe Mendoza García, quien obtuvo el grado de Ingeniería en Desarrollo Comunitario, en el Instituto Tecnológico de Coahuila durante el año 2015 con los datos generados de este trabajo.

0.05 mg/L) y un 27% para *S. hernandezii* (BA 0.5 mg/L y GA₃ 0.05 mg/L). A partir de los resultados, se concluye que la germinación *in vitro* es una alternativa viable para la micropropagación de especies que se encuentran bajo categoría de riesgo, estableciendo bancos de germoplasma *in vitro* que permitan contar con material genético para fines de conservación e investigación.

PALABRAS CLAVE: Germinación. Micropropagación. Orquídeas. Reguladores de crecimiento.

In vitro GERMINATION OF THREE SPECIES OF ORCHIDS ENDEMIC FROM THE SOUTHWESTERN REGION OF THE STATE OF MICHOACAN, MEXICO

ABSTRACT: The orchid family (Orchidaceae) is represented by approximately 27,800 species comprising 600-800 genres. In Mexico alone, about 1,260 species have been recorded, 40% of which are endemic. In a natural environment, seed germination maintains a very low percentage (3%), and only one germinated seed has the possibility of becoming an adult plant. In this context, the present study was developed with the objective of micropropagating three species of endemic orchids and under threatened category: *Prosthechea citrina*, *Oncidium tigrinum* and *Stanhopea hernandezii* in MS *in vitro* culture medium, enriched with two growth regulators Benzyladenine (BA) and Gibberellic Acid (GA₃). The results show that *in vitro* germination of the species is possible, achieving 62% at 25 days for *P. citrina* (BA 0.05 mg/L and 0.5 mg/L GA₃), 97% at 20 days for *O. tigrinum* (BA 0.05 mg/L) and 27% for *S. hernandezii* (BA 0.5 mg/L and GA₃ 0.05 mg/L). From the results, it is concluded that *in vitro* germination is a viable alternative for the micropropagation of species that are under risk category, establishing *in vitro* germplasm banks that allow having genetic material for conservation and research purposes.

KEYWORDS: Germination. Growth regulators. Micropropagation. Orchids.

1 INTRODUCCIÓN

La familia Orchidaceae está formada por plantas herbáceas perennes de la clase Liliopsida (monocotiledóneas) distribuidas en América y Asia y cuenta con aproximadamente 27,800 especies en el mundo (Beltrán, 2018). Por su ubicación geográfica, en el límite norte del trópico americano, México tiene registros alrededor de alrededor 170 géneros y 1,300 especies de orquídeas, de las cuales 585 son endémicas (Garay *et al.*, 2018) y representan casi el 40% (Salazar, 2013); mientras que hay reportes sobre la extinción de cerca de 22 especies (Hágaster *et al.*, 2005). En México, los estados que destacan por su diversidad y endemismo son Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Oaxaca y Veracruz (Garay *et al.*, 2018).

Michoacán tiene un registro de aproximadamente 200 especies, de éstas aproximadamente 25 están en categoría de riesgo. Las orquídeas se pueden encontrar en los bosques de pino-encino, en las copas de los árboles, sobre rocas y otras más creciendo sobre materia orgánica. En los últimos años, algunas especies de la familia

Orchidaceae, se han incluido en normas reguladas por instituciones ambientalistas para su protección, cuidado y conservación dentro y fuera de su hábitat (NOM-059-SEMARNAT, 2010). Lo anterior debido a la difícil germinación y propagación de plantas en sus ambientes naturales, sumándose a esto, el incontrolable saqueo ilegal y venta de las especies, incendios forestales, cambio de uso de suelos (Zhang *et al.*, 2018) y la transformación del ecosistema por la tala inmoderada de los bosques (Meng *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2019).

La germinación *in vitro* representa una técnica eficiente en la producción de orquídeas. Frente a esta alternativa se han desarrollado protocolos de micropropagación en medio MS para la propagación de orquídeas endémicas, las cuales han contribuido positivamente a los bancos de germoplasma para la conservación de la diversidad genética de estas plantas (Flores *et al.*, 2017), que tienen como fin, el resguardo de poblaciones e investigación científica, generando estrategias para almacenar semillas y plántulas de germoplasma que ayudan a incrementar el número de individuos por especies.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto y conscientes de la necesidad de incrementar el número de individuos por especie de orquídeas de la región suroccidental de Michoacán (Coalcomán), en un tiempo relativamente corto y con métodos eficientes, que conduzcan al éxito por el porcentaje de germinación a obtener, se desarrolló la presente investigación, con el objetivo de lograr la germinación *in vitro* de tres especies de la región referida, bajo el efecto de dos reguladores de crecimiento BA (Benciladenina) y GA₃ (Ácido Giberélico). Las especies en estudio son *Prosthechea*, orquídea endémica, considerada en estatus de protección especial (Pr), se conoce también como limoncillo, holoricua y azucena amarilla. *Oncidium tigrinum* y *Stanhopea hernandezii*, ambas consideradas como amenazadas (A) (NOM-059-SEMARNAT, 2010).

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas del Campo Experimental Tecomán del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en el estado de Colima.

2.2 COLECTA DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron semillas provenientes de frutos o cápsulas verdes de tres especies de orquídeas colectadas en la región suroccidental del municipio de Coalcomán en

Michoacán, México (Tabla 1). La transferencia de las cápsulas del campo al laboratorio se realizó a través de una hielera. Las cápsulas fueron cortadas y colocadas en papel periódico, rotulándose con el nombre de la especie, lugar, coordenadas geográficas. En el laboratorio, las cápsulas fueron enjuagadas con agua corriente y almacenadas a 4°C hasta el momento de su uso.

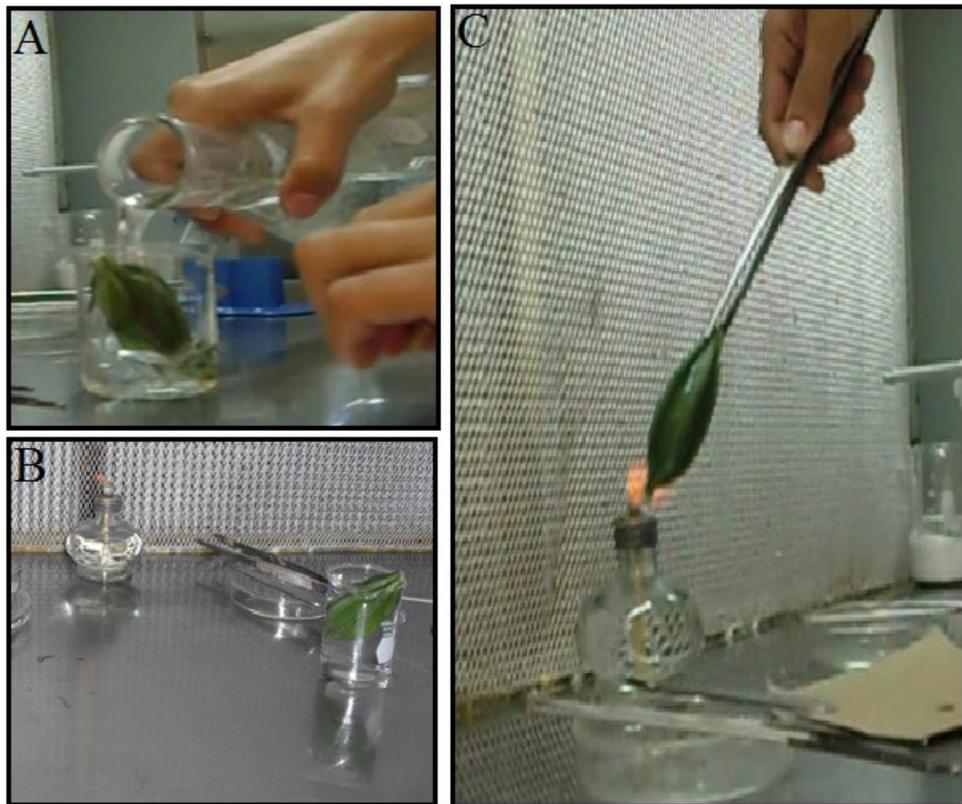
Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de las especies de orquídeas (Orchidaceae) en la Sierra de Coalcomán.

Nombre científico de la especie	Lugar de colecta sitio	Ubicación geográfica		m.s.n.m
		Latitud N	Longitud W	
<i>Prosthechea citrina</i>	La Capilla de Los Desmontes	181°53 ' 18.73"	102°59 ' 08.02"	2,162
<i>Oncidium tigrinum</i>	La Capilla de Los Desmontes	181°53 ' 18.73"	102°59 ' 08.02"	2,162
<i>Stanhopea hernandezii</i>	Desmontes de Buenavista y Cimientos	18°53 ' 09.3"	102°57 ' 51.2"	1,827

2.3 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

El medio de cultivo seleccionado fue el MS al 100% (Murashige y Skoog, 1962) con 30 g/L de sacarosa, 2.5 g/l de fitagel y 2g/L de carbón activado y un pH ajustado de 5.75. Para evaluar el porcentaje de la germinación se adicionó al medio de cultivo los reguladores de crecimiento BA (0, 0.05, 0.1 y 1 mg/L) y GA₃ (0, 0.5, y 1 mg/L). Previo a la siembra, las flores muertas se removieron con un bisturí y las capsulas fueron tratadas con una solución jabonosa de detergente neutro al 15%, se agregaron 3 gotas de tween 20 manteniéndose en agitación durante 15 minutos. Posteriormente, se colocaron las cápsulas en una solución de etanol al 70% durante 15 minutos. Y finalmente se sometieron a una solución de hipoclorito de sodio al 20% por 20 minutos. Bajo condiciones asépticas en la cámara de flujo laminar, las cápsulas fueron enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. Finalmente, fueron sumergidas en alcohol al 75% y flameadas con ayuda de un mechero (Figura 1) cuidando de no exponerse al fuego durante mucho tiempo, esto se repitió tres veces para asegurar su completa esterilización.

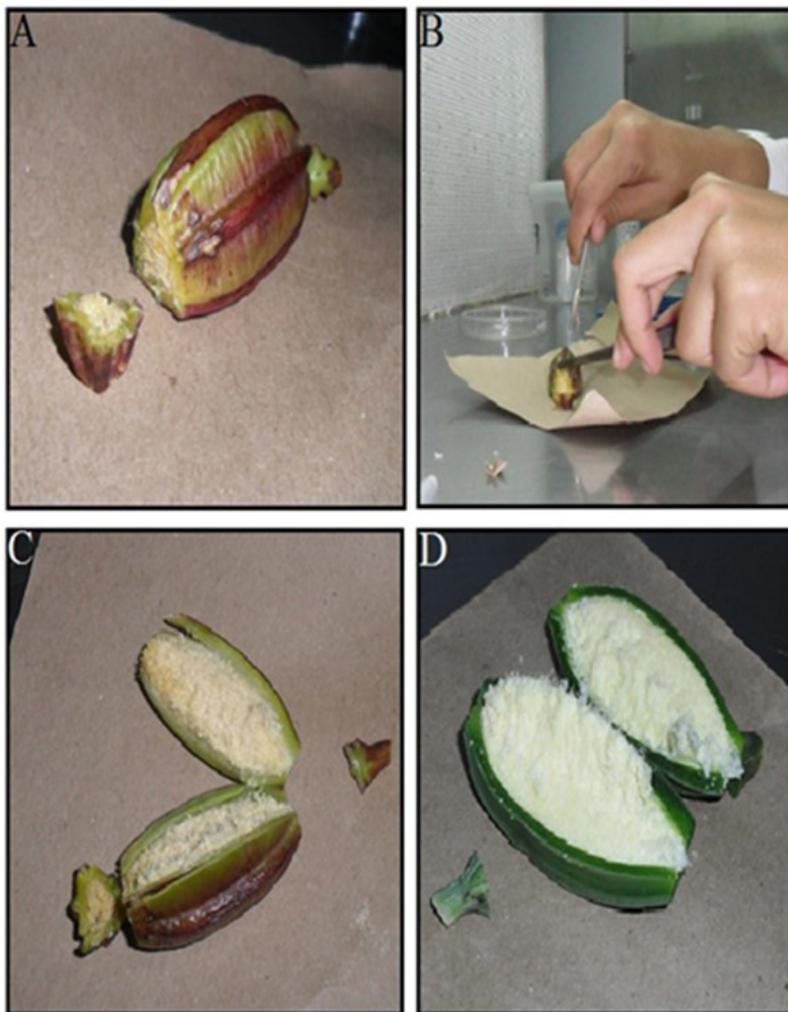
Figura 1. Procedimiento de desinfección de cápsulas dehiscentes en la campana de flujo laminar. A) Enjuagues con agua destilada estéril. B) Inmersión de la cápsula en etanol. C) Flameo de la cápsula.



2.4 SIEMBRA DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Con ayuda de un bisturí se hicieron dos cortes para eliminar los extremos de la cápsula, para después hacer un corte transversal, cuidando de no tocar el interior de la cápsula (Figura 2). Para la distribución de semillas se utilizó una espátula y asa bacteriológica, depositándose las semillas en un tubo falcón. Posteriormente, se agregó 1 ml de agua destilada estéril, se agitaron en un vortex. Finalmente, se tomaron 50 μ l y se depositaron en las cajas Petri de manera uniforme.

Figura 2. Disección de la cápsula. A) Corte de los extremos de la cápsula. B) Corte longitudinal de la cápsula. C) Cápsula de *O. tigrinum*. D) Cápsula de *P. citrina*.



La cuantificación de las semillas por unidad experimental se realizó con un estereoscopio, el número de semillas cuantificado para la especie *O. tigrinum* fue de aproximadamente 800, ya que cuando las semillas se encuentran maduras se desprenden con facilidad y no se agrega tejido del interior de la cápsula. El número cuantificado para las especies *P. citrina* y *S. hernandezii*, fue de 250 aproximadamente. La diferencia en la concentración de semillas por microlitros se debe a la diferente maduración de las cápsulas, ya que las semillas de una cápsula con mayor maduración ocupan un espacio menor y son tomadas con la micropipeta con mayor facilidad, por el contrario, las semillas de cápsulas con menor tiempo de maduración ocupan un espacio mayor, porque tienen

tejido vegetal que se desprende del interior de la cápsula al ser incorporadas al tubo falcón. Se hizo la inoculación en cajas Petri y se transfirieron a un cuarto de crecimiento con temperatura media de 24°C y fotoperíodo de 12 horas luz.

2.5 VARIABLES EVALUADAS

Se determinó la germinación de forma cualitativa, evaluando cambios visibles y al estereoscopio, considerando como semillas germinadas aquellas cuyo embrión emergió de la cubierta seminal y se cuantificó el número de semillas germinadas por centímetro cuadrado (cm²), así como los días en que inicio la germinación. Finalmente se determinó un porcentaje de germinación para cada especie evaluada.

2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

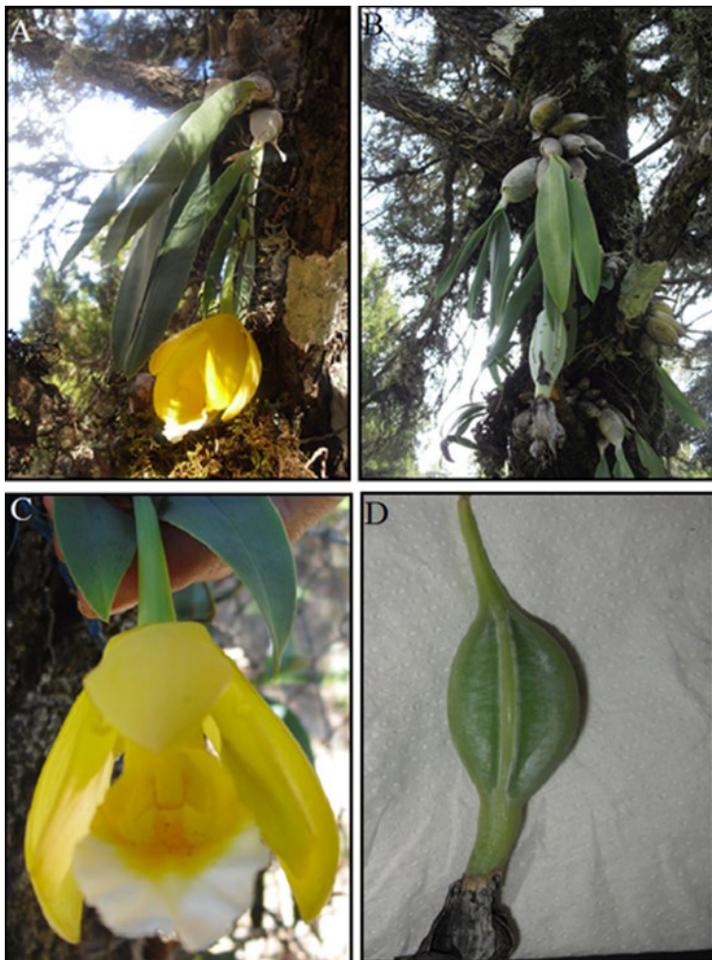
El diseño experimental establecido fue un diseño factorial completamente al azar de 4x3, uno por cada especie. Los factores fueron cuatro concentraciones de BAP (0, 0.05, 0.1 y 1 mg/L) y tres de GA₃ (0, 0.5, y 1 mg/L) con un total de 12 tratamientos por especie. Cada tratamiento se repitió 3 veces para tener un total de 108 unidades experimentales (cajas Petri). Los datos obtenidos de las variables para cada uno de los tratamientos se evaluaron mediante un análisis de varianza. Para los casos que mostraron diferencias significativas, se llevó a cabo una prueba de comparación de medias de acuerdo con la prueba de Tukey al 95% de probabilidad con el paquete estadístico SAS

3 RESULTADOS

3.1 EFECTO DE LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO (BA Y GA₃) SOBRE LA GERMINACIÓN *in vitro* DE *Prosthechea citrina*

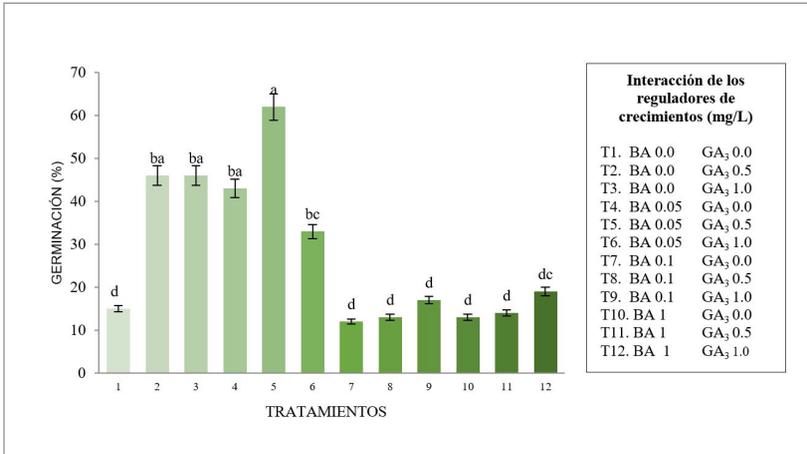
La orquídea *P. citrina* ha sido poco estudiada, existen escasos documentos que describen la morfología y procesos de micropropagación. El interés científico recae en que es una especie endémica de México, considerada de importancia ecológica en su ecosistema por la interacción con hongos micorrícicos y otros microorganismos, e interacciones con otras plantas (Castillo-Pérez *et al.*, 2019). Representa una de las orquídeas más admiradas en México (Figura 3) por su color, belleza y valor comercial en el mercado (Cazarez Favela *et al.*, 2016).

Figura 3. *P. citrina*. A) Planta epífita hospedera colgante con flor antes de la formación de la cápsula. B) Planta con cápsula antes de ser colectadas. C) Flor de color amarillo brillante y aromática. D) Cápsula verde colectada.



La germinación de semillas para la especie *P. citrina* se observó a los 25 días en el tratamiento 5 (BA 0.05 mg/L y GA₃ 0.5 mg/L) con un porcentaje de germinación del 62%, mediante la comparación de medias, existe diferencia significativa (Figura 4) con la combinación de reguladores de crecimiento (BA y GA₃), al igual el efecto por separado de hormonas.

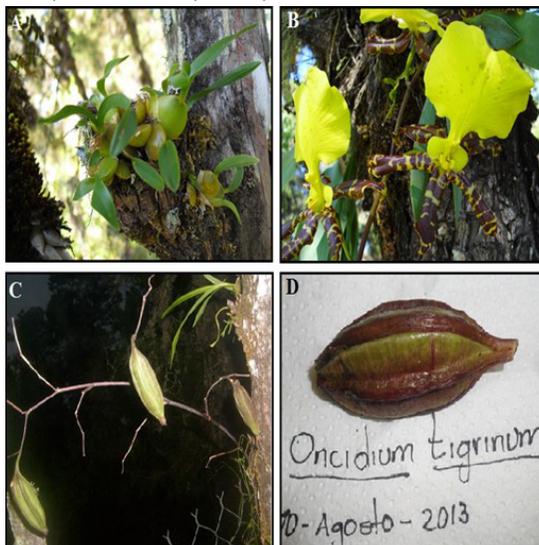
Figura 4. Efecto de los reguladores de crecimiento BA y GA₃ sobre la germinación *in vitro* de *P. citrina*, a los 25 días posteriores a la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



3.2 EFECTO DE LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO (BA Y GA₃) SOBRE LA GERMINACIÓN *in vitro* DE *O. tigrinum*

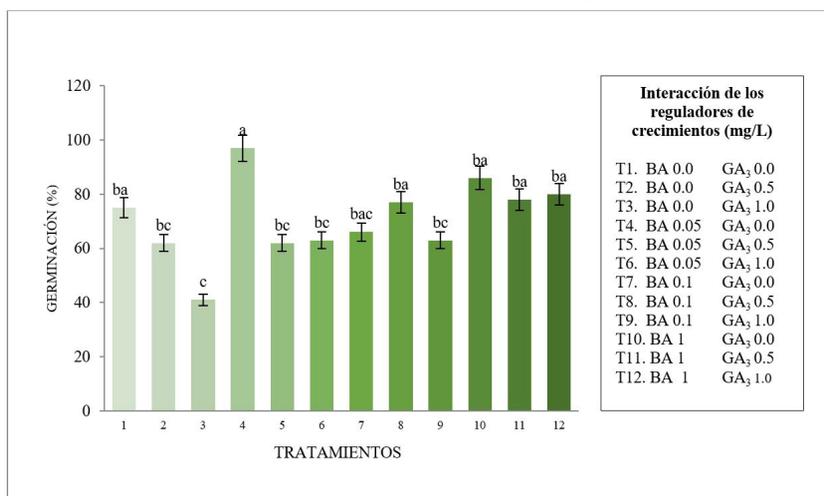
Oncidium tigrinum, es una especie epífita endémica de México. La distribución geográfica es desde Jalisco hasta Michoacán, en el Cinturón Volcánico Trans mexicano y la cordillera de la Sierra Madre del Sur en el sur de México (Mata-Rosas *et al.*, 2011). El hábitat y lugar de crecimiento contempla bosques templados de encino y bosques de pino-encino a una altitud de 2500 m (Jiménez *et al.*, 1998). Por su belleza, forma y colores que van desde amarillo y café (Figura 5), ha sido recolectada en las últimas décadas.

Figura 5. *O. tigrinum* A) Planta hospedadora en un sabino. B) Flores de color amarillo. C) Cápsulas con una maduración de 9 meses. D) Cápsula colectada para su posterior siembra.



Después de realizar la siembra de las semillas, se observaron cambios en la coloración, pasando por diferentes tonalidades; iniciando por el blanco-amarillo, verde-amarillo y verde tenue, apreciándose la hidratación de las semillas y el aumento de tamaño. La coloración de semillas verdes inicia a los 15 días, etapa en la que el embrión adquiere una coloración verde tenue por la absorción de agua y nutrientes. Para la especie *O. tigrinum* se detectaron diferencias significativas, el tiempo de germinación ocurrió a los 20 días en el tratamiento 4 (BA 0.05 mg/L) (Figura 6), con un porcentaje de germinación de 97 %.

Figura 6. Efecto de los reguladores de crecimiento BA y GA₃ sobre la germinación *in vitro* de *O. tigrinum* a los 20 días posteriores a la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



3.3 EFECTO DE LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO (BA Y GA₃) SOBRE LA GERMINACIÓN *in vitro* DE *S. hernandezii*

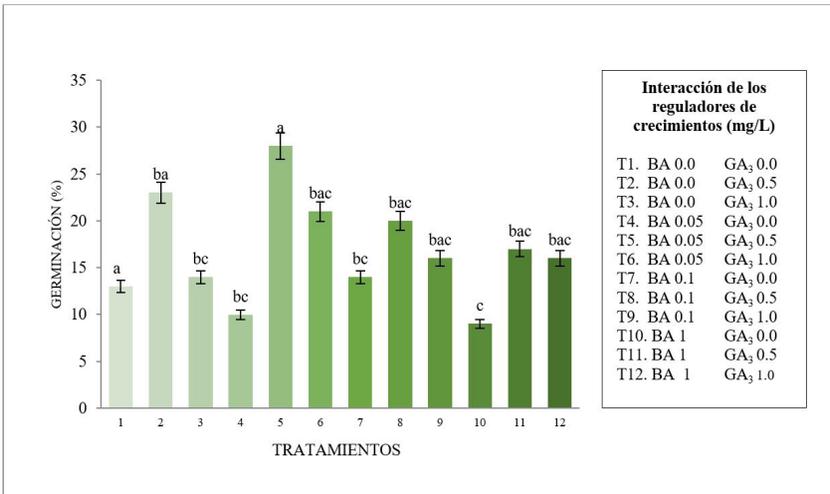
La especie *Stanhopea hernandezii* (Orchidaceae) es una especie vegetal endémica de México, en los últimos años se ha visto amenazada, considerada como vulnerable (Castillo-Pérez *et al.*, 2019) por la belleza y diversidad de sus flores (Figura 7), tamaño y fragancia (Emeterio-Lara *et al.*, 2016).

Durante el proceso de germinación *in vitro*, la especie *S. hernandezii* inicia el rompimiento de la testa y dando lugar a la etapa de germinación a los 20 días, con un porcentaje del 29% para el tratamiento 5 (GA₃ 0.05 mg/L y BA 0.5 mg/L) (Figura 8). Para las diferentes combinaciones de los reguladores de crecimiento, no hay diferencias significativas ni para BA y GA₃ utilizados de forma individual.

Figura 7. *S.hernandezii*. A) Planta completa con inicio de floración creciendo sobre materia orgánica sobre una roca. B) Floración in situ. B) Planta con una cápsula de aproximadamente 5 meses de maduración. C) Cápsula colectada para su posterior siembra.



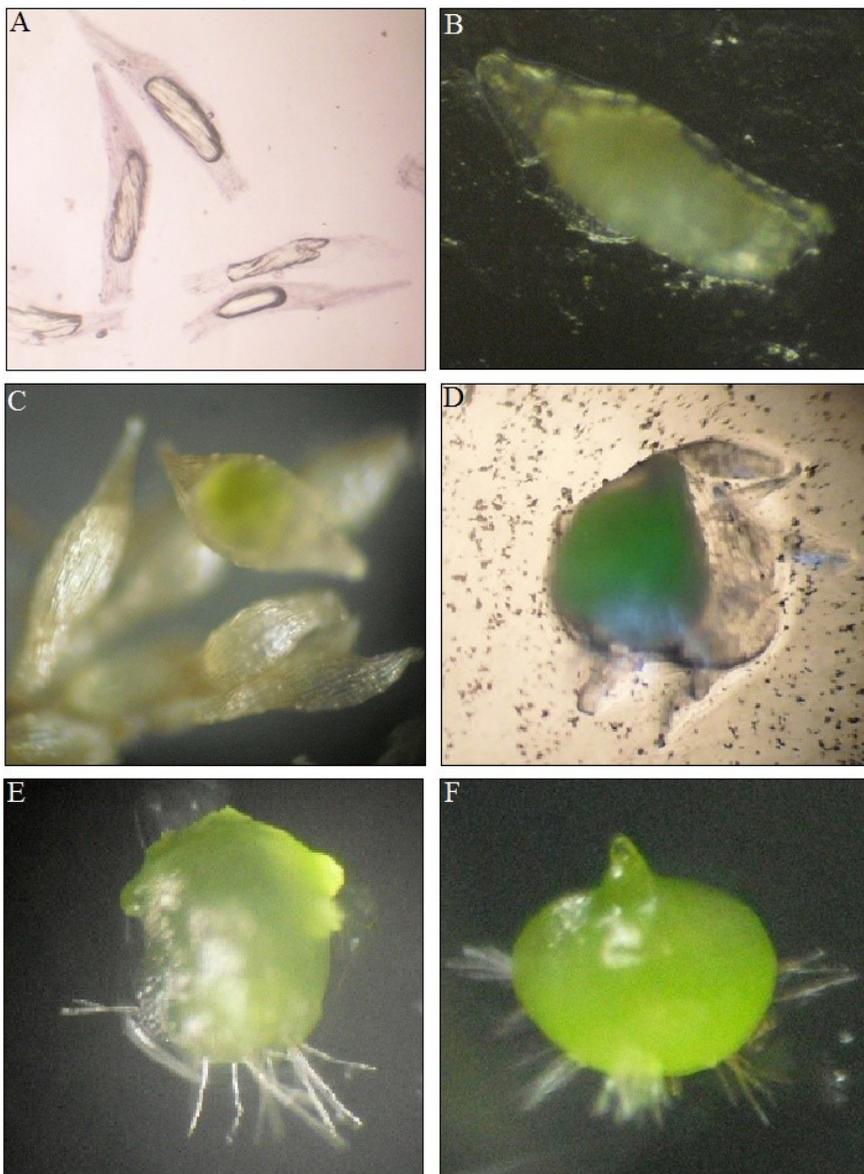
Figura 8. Efecto de los reguladores de crecimiento sobre la germinación *in vitro* de *S. hernandezii*, a los 20 días posteriores a la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



3.4 ETAPAS DE GERMINACIÓN DE LAS ORQUÍDEAS EN ESTUDIO

Durante la imbibición, se presentó un hinchamiento y un aumento en la masa embrionaria de las semillas ocasionado por la absorción de agua (Fig. 9A y 9B). Otras semillas presentaron una coloración verde muy acentuada y el tamaño del embrión incremento su circunferencia y longitud (Fig. 9C).

Figura 9. Microfotografías de las etapas de germinación y desarrollo del protocormo de *O. tigrinum*. A) Semillas con embriones. B) Imbibición de semillas. C) Semilla verde. D) Inicio de la germinación. E) Protocormo con aparición de rizoides F) Protocormo inicial con primer brote.



En la germinación el embrión rompió la testa e inicio la germinación (Fig. 9D); ciertos autores consideran a los embriones como germinados en esta etapa (Flores-Escobar *et al.*, 2007; Aguilar *et al.*, 2013). En el protocormo inicial, se formó un complejo de células de color verde muy tenue que dio lugar a la formación de rizoides (Fig. 9E); el protocormo siguió su crecimiento, apareciendo en el ápice un primordio foliar (Fig. 9F). El desarrollo de hojas continuó creciendo durante el primordio foliar y el cuerpo del protocormo comenzó a disminuir y a diferenciarse las hojas. Las observaciones sobre este proceso coinciden con las reportadas por otros autores (Cazarez Favela *et al.*, 2016; Flores-Escobar *et al.*, 2007).

4 DISCUSIÓN

En cuanto a los procedimientos utilizados para el cultivo *in vitro* de las orquídeas en estudio (*Prosthechea citrina*, *Oncidium tigrinum* y *Stanhopea hernandezii*), es importante mencionar el tiempo de almacenamiento de las cápsulas (25 días) no afectó la viabilidad de las semillas. En la literatura no hay registro sobre el tiempo de almacenamiento que pudiera afectar la calidad de las semillas (Ossebanch *et al.*, 2007; Mayo *et al.*, 2010; Santiago, 2013), pero se recomienda no almacenar las cápsulas por periodos de tiempos largos, debiendo ser sembradas en el menor tiempo posible después de ser colectadas, sobre todo cuando se desconoce el tiempo de crecimiento, desarrollo y maduración del fruto y semillas.

El método de desinfección desarrollado para el establecimiento aséptico logró la desinfección de la cápsula sin contaminación microbiana detectable. La ventaja que presentan los frutos indehiscentes al momento de su desinfección es que el interior de la cápsula esta estéril e intacta, por lo que las semillas no requieren de un método de desinfección. La metodología de desinfección desarrollada por Mayo *et al.* (2010) fue la que se utilizó en esta investigación a diferencia de que en área estéril las cápsulas fueron sumergidas en una solución de alcohol etílico al 75%, método establecido por Ruíz *et al.* (2008) para la germinación *in vitro* de semillas de *Encyclia adenocaula*. De manera similar otros autores (McKendrick, 2000; Rodríguez *et al.*, 2003; Santiago 2013), reportaron exitosamente el proceso de desinfección utilizando alcohol etílico al 70% para la inmersión de la cápsula y posteriormente el flameado de la misma.

En el presente estudio, no se realizó prueba de viabilidad de semilla, sin embargo, es importante que se realice ya que de esto depende el porcentaje de germinación alcanzado, mediante la prueba de coloración de tetrazolio, se conoce el grado de conservación y el desarrollo del embrión (Pérez & Castañeda, 2016). La probabilidad

de que haya bajos porcentajes de germinación en las orquídeas *P. citrina*, *O. tigrinum* y *S. hernandezii* se debe a la viabilidad que presentan las semillas, esto se debe a las características morfológicas que presentan, como su diminuto tamaño, la ausencia de endospermo (Huy *et al.*, 2019; Vecchio *et al.*, 2019), el estado de maduración de la cápsula (Mayo *et al.*, 2010) y el suministro de energía interno limitado (Prasongsom *et al.*, 2022).

La adición de carbón activado al medio de cultivo se ha reportado que contribuye positivamente en la germinación y crecimiento de las orquídeas propensas a la fenolización (Arzate-Fernández *et al.*, 2023). El medio de cultivo para el establecimiento de las tres especies de orquídeas adicionado con 2 mg/L de carbón activado, fue favorable en la absorción de las sustancias fenólicas logrando eliminar la oxidación, además de proporcionar un ambiente oscuro al medio tendiendo a aparentar condiciones naturales en la germinación de las semillas. Rodríguez *et al.* (2003) plantearon que el empleo de carbón activado a una mayor concentración (2 g/L) induce un efecto positivo para la variable (porcentaje de germinación). López-Puc y Herrera-Cool (2022) argumentan que el efecto que ejerce el carbón activado en el cultivo de tejidos de orquídeas es un aumento de la aireación del medio de cultivo y absorción de etileno causante de inhibir el crecimiento y la diferenciación celular de protocormos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, en el presente estudio, el tiempo de germinación y formación de protocormos para la especie *P. citrina*, ocurrió a los 25 días, posteriores a la siembra, con un porcentaje del 62%, alternativa eficiente y sustentando lo reportado por Cazarez Favela *et al.* (2016) en la emergencia de brotes agregando BA (Benciladenina) al medio de cultivo en concentraciones de 1.0 a 3.0 mg/L, por lo que se recomienda el uso de citocininas para la germinación de la especie y emergencia. En otro estudio, se logró germinar semillas de la orquídea de la especie *Prosthechea vitellina* en medio MS al 50% de la concentración de sales, enriquecido con diferentes concentraciones de BA (0.5 y 1.0 mg/L) con un porcentaje de germinación del 91.8% (Mora, 2021).

Para algunas orquídeas se ha reportado que la concentración y disponibilidad de BA influye en su porcentaje de germinación, de tal forma que, si la concentración es alta, la germinación es mínima. En la naturaleza solamente germina el 5 % de las semillas producidas y de estas solo un porcentaje pequeño logra cumplir su proceso de desarrollo hasta convertirse en plantas adultas (Pierik, 1990).

La especie *O. tigrinum* tiene un porcentaje de germinación de 97%, similar al reportado por otros autores (Mata-Rosas *et al.*, 2011) con un 100% de germinación a los 30 días con protocormos de un diámetro de 2 a 3 mm, en medio MS enriquecido

con BA, considerándose como necesario para la inducción de brotes de protocormos de *O. tigrinum*. Se han reportado porcentajes menores de germinación de 48% y 57% para la especie *O. stramineum* del mismo género (Flores-Escobar *et al.*, 2007). La alta tasa de germinación obtenida en el presente estudio se debe en parte, a que las cápsulas fueron colectadas cuando estas presentaron las condiciones necesarias según lo que reportan Mayo *et al.* (2010) como son la madurez de la cápsula y la presencia de embriones totalmente desarrollados. La formación de protocormos coincide con los reportados (Flores-Escobar *et al.*, 2007) quien al cultivar mitades de protocormos de *O. tigrinum*, encontró que el mejor tratamiento para la formación de rizoides y aparición de los primeros primordios foliares fue el adicionado con 0.05 mg/L de BA, obteniendo el porcentaje más elevado de sobrevivencia de protocormos. Por otra parte, Taiz y Zeiger (1998), establece que la aplicación directa de citocininas al medio de cultivo estimula el crecimiento de yemas laterales en muchas especies de orquídeas específicamente, anulando el efecto inhibitor del meristemo apical, efecto observado también en el desarrollo de las orquídeas reportadas en este trabajo.

Se ha observado que al adicionar BA en una dosis baja (0.05 mg/l), el proceso de germinación en general se acelera y es homogéneo, resultado que coincide con el reportado por Ávila y Salgado (2006). El tiempo de germinación que reportan es de 30 y 45 días después de la siembra. Esta respuesta se ha reportada para diferentes orquídeas cultivadas *in vitro* asimbióticamente, tales como *Bulbophyllum bufo* y *Odontoglossum pulchellum*. En este reporte, los resultados obtenidos para la especie *S. hernandezii* son bajos de apenas 29% a los 20 días para la combinación de reguladores de crecimiento (BA 0.05 y GA₃ 0.5 mg/L). Estos resultados son más bajos que los encontrados por Moreno y Menchaca (2007), quienes reportan un porcentaje de germinación del 90% para *S. tigrina*, especie del mismo género, utilizando el medio MS suplementando con agua de coco y homogeneizado de plátano en diferentes concentraciones.

El efecto del regulador de crecimiento GA₃ no tuvo un efecto significativo según la prueba Tukey (P<0.05), al adicionar 1 mg/L de GA₃ para la especie de *S. hernandezii*. En esta orquídea se logró un porcentaje de 21%, considerado como bajo en relación con los resultados obtenidos por Salazar (2012) donde se obtiene un porcentaje, de 94.1 % de germinación al ser adicionado el MS con 1 mg/L de GA₃. Es de suma importancia señalar que el proceso de la fecundación y maduración de la especie *S. hernandezii* puede verse afectada por ambientes húmedos y cálidos, lo que provoca semillas inviables (Velasco y Beltrán, 2008). Sin embargo, se requiere de estudios más detallados para determinar las causas de la formación de semillas no viables.

5 CONCLUSIONES

Con base en los resultados del presente trabajo, se logró la germinación de tres especies de orquídeas *P. citrina*, *O. tigrinum* y *S. hernandezii*, mediante la combinación de dos reguladores de crecimiento (GA_3 y BA). Alternativa eficiente para incrementar el número de individuos por especie de la familia Orchidaceae y como consecuencia, la disponibilidad de plántulas que conservan características fenotípicas, libres de patógenos, que conforman el banco de germoplasma de la institución, resguardando especies endémicas y en peligro de desaparecer como una herramienta que permita reducir la presión que se ejerce en sus poblaciones silvestres y que a su vez, sirva como modelo para la propagación masiva de otras especies de orquídeas, que se encuentren amenazadas y/o en vías de extinción, contribuyendo a su conservación y aprovechamiento sustentable.

Para la especie *S. hernandezii*, sin embargo, se consigue por primera vez el establecimiento *in vitro* de su germinación y desarrollo, se documentó la descripción de la especie para el Municipio de Coalcomán, Michoacán, y se determina que, para obtenerse un porcentaje de maduración mayor, las cápsulas deben de ser colectadas cuando muestren características morfológicas que permitan verificar la maduración de esta.

BIBLIOGRAFÍA

Arzate-Fernández, A., Rosas-Chávez, R., Norman-Mondragón, T. H., Corona-Rodríguez, M. C., & Piña-Escutia, J. L. (2023). Multiplicación *in vitro* de *Phalaenopsis* sp. usando reguladores de crecimiento vegetal, aguamiel y pulque (complejos orgánicos). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26. <https://doi.org/http://doi.org/10.56369/tsaes.3981>

Ávila Díaz, I., & Garciglia Salgado, R. (2006). Propagación y mantenimiento *in vitro* de orquídeas mexicanas, para colaborar en su conservación. *Biológicas*, 8, 138–149.

Beltrán Nambo, M. D. (2018). Diversidad fúngica en raíces de orquídeas mexicanas y su contribución para la germinación y desarrollo inicial de plántulas *in vitro*. Tesis de Doctorado, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Biología, Morelia Michoacán, México. Recuperado el 05 de 05 de 2022, de http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/3678/FB-R-D-2018-1182.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Castillo-Pérez, L. J., Martínez-Soto, D., Maldonado-Miranda, J. J., Alonso-Castro, A. J., & Carranza-Álvarez, C. (2019). The endemic orchids of Mexico: a review. *Biología* (74), 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.2478/s11756-018-0147-x>

Cazarez Favela, T., Graciano Luna, J. J., Solís González, S., Díaz González, S., Díaz Ramírez, B., Nájera Luna, J. A., & Montoya Ayón, J. B. (2016). Propagación *in vitro* de la orquídea *Prosthechea citrina* (La Llave & Lex.) W. E. Higgins nativa del estado de Durango, México. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* (67), 19-25.

Emeterio-Lara, A., Palma-Linares, V., Vázquez-García, L. M., & Mejía-Carranza, J. (2016). Usos y comercialización de orquídeas silvestres en la Región sur del Estado de México. *Polibotánica* (197-214), 42. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.42.1>

Garay Martínez, E. Z., Treviño Carreón, J., Hernández López, T. J., Mora Olivo, A., & Coronado Blanco, J. M. (2018). Las orquídeas endémicas mexicana en categoría de amenazadas. CIENCIA UANL (91). Obtenido de <https://cienciauanl.uanl.mx/?p=8247>

Hágaster, E., Soto-Arenas, M. Á., Salazar, C. G., Jiménez, M. R., López, R. M., & Dressler, R. L. (2005). Las orquídeas de México. Instituto Chinoín, México D.F.

Huy, N. P., Luan, D. T., Tung, H. T., Hien, V. T., Ngan, H. T., & Nhut, D. T. (2019). In vitro polyploid induction of *Paphiopedilum villosum* using colchicine. *Scientia Horticulturae*, 252, 283-290. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.03.063>

Quiroz, K., Saavedra, J., Vogel, H., Verdugo, G., Caligari, P. D. S., & García-González, R. (2017). In Vitro Asymbiotic Germination for Micropropagation of the Recalcitrant Terrestrial Orchid *Chloraea crispa* (Orchidaceae). *Applications in Plant Sciences*, 5(8), 1600142. <https://doi.org/10.3732/apps.1600142>

Flores Escobar, G., Legaria Solosano, J., & Gil Vásquez, M. (2007). In vitro propagation of *Oncidium stramineum* Lind., an endangered endemic mexican orchid. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, México.

Guo, J.L., Cao, W.J., Li, Z.M., Zhang, Y.H., Volis, S., 2019. Conservation implications of population genetic structure in a threatened orchid *Cypripedium tibeticum*. *Plant Diversity* 22 (1), 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.12.002>

Jiménez, M. R., Sánchez, S. L., & García-Cruz, J. (1988). Familia Orchidaceae. Tribu Maxillarieae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fasc.

López-Puc, G., & Herrera-Cool, G. J. (2022). Asymbiotic germination, *in vitro* conservation and regeneration of *Catasetum integerrimum*. *POLIBOTÁNICA* (45), 135-149. <https://doi.org/https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.9>

Mayo, A., Cázares, J., Cruz, E., & Flores, A. (2010). Germinación *in vitro* de semillas y desarrollo de plántulas de orquídeas silvestres de Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villa Hermosa, Tabasco.

Mata-Rosas, M., Baltazar-García, R. J., & Chávez-Avila, V. M. (2011). In Vitro Regeneration through Direct Organogenesis from Protocorms of *Oncidium tigrinum* Llave & Lex. (Orchidaceae), an Endemic and Threatened Mexican Species, *HortScience horts*, 46(8), 1132-1135. Retrieved Apr 2, 2023, from <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.8.1132>

McKendrick, S. (2000). Manual para la germinación de orquídeas *in vitro*. Foundation for Tropical Conservation. Ceiba.

Meng, Y.Y., Shao, S.C., Liu, S.I., Mgao, J.Y., 2019. Do the fungi associated with roots of adult plants support seed germination? A case study on *Dendrobium exile* (Orchidaceae). *Global Ecology and Conservation* 17. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00582>.

Mora, Y. (2021). Morfogénesis *in vitro* de *Prosthechea vitellina* (Lindley) W.E. Higgins. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. <http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/handle/10521/4619>

Moreno Martínez, D., & Menchaca García, R. A. (2007). Efecto de los compuestos orgánicos en la propagación *in vitro* de *Stanhopea Tigrina* Bateman (Orchidaceae). *Foresta Veracruzana*, 9(2), 27- 32

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 473-479.

NOM-059-SEMARNAT. (2010). Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres de riesgo y especificaciones para su inclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. 78. México D.F, México: Diario Oficial de la Federación.

Ossebanh, C., Arce, J., & Warner. (2007). Almacenamiento de semillas de diferentes especies de orquídeas para su conservación en un banco de germoplasma. *Tierra Tropical*, 3, 85-97.

Pierik, R. (1990). *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers, Netherlands.

Pérez-Martínez, B., & Castañeda-Garzón, S. (2016). Propagación *in vitro* de orquídeas nativas como una contribución para la conservación *ex situ*. *Biotecnología vegetal*, 16(3), 143-151. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/viewFile/519/pdf>

Prasongsom, S., Thammasiri, K., & Pritchard, H. W. (2022). Seed dormancy concepts in orchids: *Dendrobium cruentum* as a model species. *Seed Science Research*, 175-186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0960258522000198>

Rodríguez, L., González, R., Díaz, A., Fajardo, E., Sánchez, E., Hernández, J., et al. (2003). Influencia de diferentes factores en la germinación asimbiótica *in vitro* de semillas de *Cattleya labiata*. *Biotecnología vegetal*, 3(2), 119-121.

Salazar, M. (2013). Orquídeas. Retrieved from, 3(12), 1-18. Recuperado el 05 de 05 de 2022, de http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/s/salazar/orquideas_pedregal.pdf

Santiago Jerónimo, T. (2013). Propagación *in vitro* de *Epidendrum falcatum* Lindl. Tesis, Universidad de la Sierra Juárez, Biología, Ixtlán de Juárez.

Taiz, L. and Zeiger, E. (1998) *Plant Physiology*. 2nd Edition, Sinauer Associates Publishers, Sunderland, Massachusetts. <http://dx.doi.org/10.1071/PP9840361>

Vecchio, S., Pierce, S., Fantinato, E., & Buffa, G. (2019). Increasing the germination percent age of a declining native orchid (*Himantoglossum adriaticum*) by pollen transfer and outbreeding between populations. *Plant Biology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/plb.12986>

Velasco, L. O. y P. B. Beltrán. 2008. Orquídeas del Parque Natural Sierra de Grazalema. Consejería del Medio Ambiente. 2ª. Edición. Sevilla, España pp. 47-86.

Vera-Aguilar, A., Ramírez-Mosqueda, M. A., Lee-Espinosa, H. E., Llarena-Hernández, R. C., Rodríguez-Deméneghi, M. V., & Murguía-González, J. (2022). Efficient protocol for *in vitro* propagation of *Laelia anceps* ssp. *anceps* white variant from asymbiotic seed germination. *South African Journal of Botany*, 149, 376-380. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.06.013>

Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., Hu, H., 2018. Physiological diversity of orchids. *Plant diversity* 40, 196-208. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003>

SOBRE O ORGANIZADOR

Manuel Simões é licenciado em Engenharia Biológica e doutorado em Engenharia Química e Biológica. Atualmente é Professor Associado com Agregação e Pró-Diretor da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP), e investigador sénior do Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE) do Departamento de Engenharia Química da FEUP. Nos últimos anos esteve envolvido em 10 projetos nacionais (5 como investigador principal) e 6 projetos europeus. Foi membro do comité de gestão da ação COST BACFOODNET (Rede Europeia para Mitigação da Colonização e Persistência Bacteriana em Alimentos e Ambientes de Processamento de Alimentos) e esteve envolvido em outras 2 ações: iPROMEDAI e MUTALIG. Manuel Simões tem mais de 190 artigos publicados em revistas indexadas no Journal of Citation Reports, 4 livros (1 como autor e 3 como editor) e mais de 40 capítulos em livros. Ele é Editor Associado para o jornal Biofouling - The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research (o periódico mais antigo sobre pesquisa em biofilme), Editor Associado para o jornal Frontiers in Microbiology e Section Editor-in-Chief para o jornal Antibiotics. Seus principais interesses de pesquisa estão focados nos mecanismos de formação de biofilme e seu controlo com agentes antimicrobianos, particularmente usando novas moléculas antimicrobianas, e no uso de microalgas para tratamento de efluentes. É um dos investigadores mais citados do mundo (top 1%), tendo sido distinguido nos últimos dois anos no índice Essential Science Indicators, um dos mais prestigiados indicadores da qualidade de investigação.

Identificação SCOPUS: 55608338000; Nº orcid: 0000-0002-3355-4398

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acacia 93, 94, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104
Agricultural soil 122, 123, 124, 128, 130
Aguas residuales 105, 106, 107, 108, 109, 110, 117, 118
Alder 93, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102
Apomixis 26, 27, 28

C

Camarón blanco 75, 76
Candidatus Liberibacter spp 63, 64
Carya illinoensis koch 40, 41
Células madre 1, 2, 3, 4
Cítricos 26, 27, 28, 29, 31, 34, 37, 39, 63, 64, 66, 67, 68
Contaminantes emergentes 105, 106, 107, 108, 109, 110, 117
Cultivo intensivo bioseguro 76
Cultivos subutilizados 82

D

dinámica de crecimiento 41, 42, 43
dragón amarillo 29, 63

E

Ecosystem functioning 93, 103
Estrés 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 27

F

Fitorremediación 106, 109, 110, 117
Foto-heterotrófico 75, 76
Frecuencia y formas de consumo 82

G

Germinación 44, 45, 46, 47, 48, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62
Gibberellic acid 46, 122, 123, 125, 128, 129, 130, 131
Grano sano 69

H

HPLC 123, 125

Hsp70 14, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 23, 24

Huanglongbing 26, 29, 63, 64, 67, 68

L

Leaf litter 93, 95, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104

Leucocitos 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23

M

Macroinvertebrates 93, 97, 100, 101, 102

Marcadores moleculares 26, 27, 28, 29, 36, 39

Micropropagación 46, 47, 51

Microsatélites 27

N

Nogal pecanero 40, 41, 42, 44

O

Orquídeas 45, 46, 47, 48, 51, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62

P

Producción agrícola 26, 41, 68, 74

Productos farmacéuticos 105, 106, 107, 110, 118

Pulpa dental 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12

R

Radiación ultravioleta 14, 15, 17, 23, 24

Regeneración 2, 11

Reguladores de crecimiento 45, 46, 47, 48, 51, 52, 53, 54, 55, 59, 60

S

Silicio 69, 70

Sitophilus zeamais 69, 70, 74

Sondeo rápido 82, 84

Superficie de respuesta 106, 112, 113, 118

V

Vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) 105, 106, 107, 109, 110, 111, 117