

## Conservación *in vitro* de *Cyrtopodium schargellii* mediante la técnica de crecimiento mínimo

### *In vitro* preservation of *Cyrtopodium schargellii* using the minimal growth technique

Daniel José Hernández-Rosales<sup>1\*</sup>;

Luis Carlos Rodrigo Ortega-Macareno, PhD<sup>2</sup>; <https://orcid.org/0000-0002-1253-489X>;

Javier Darío Beltrán-Herrera, PhD<sup>1</sup>; <https://orcid.org/0000-0002-2366-9335>;

Luisa Marcela Martínez-Oviedo<sup>1</sup>; <https://orcid.org/0000-0002-6933-045X>

<sup>1</sup>. Programa de Biología, Departamento de Biología y Química, Facultad de Educación y Ciencias, Universidad de Sucre, Sincelejo-Sucre, Colombia.

<sup>2</sup>. Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA), Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

Recibido: Agosto 30 de 2025

Aceptado: Noviembre 10 de 2025

\*Correspondencia del autor: Daniel José Hernández-Rosales

E-mail: [dhernandezrosales@hotmail.com](mailto:dhernandezrosales@hotmail.com)

<https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i37.331>

#### Resumen

**Introducción:** *Cyrtopodium schargellii*, conocida en ciertas zonas como “lluvia dorada”, es una orquídea nativa de América Central, distribuida en países como Venezuela y Colombia. Es posible encontrar esta orquídea en Colombia en el departamento de Córdoba y demás zonas aledañas. **Objetivo:** El objetivo de esta investigación fue establecer un protocolo viable y efectivo de conservación *in vitro* de la orquídea *C. schargellii*; **Materiales y métodos:** para ello, se hizo uso de plántulas de dicha especie previamente germinadas *in vitro*, para posteriormente tomar explantes y sembrarlos en medios de cultivo suplementados con sales (MS) al 100% y dos osmorreguladores (manitol y sorbitol) en cuatro tratamientos para cada sustancia: T1 (0,5%), T2 (1%), T3 (1,5%) y T4 (2%). Además, se preparó un control (T0, sin osmorreguladores y con sales MS al 100%). **Resultados:** En el caso del manitol, se observa formación de brotes y raíces, acompañado de clorosis y muerte de algunos explantes, mientras que en el caso del sorbitol, se observa poca formación de brotes y raíces, y supervivencia de todos los explantes. **Conclusión:** En conclusión, el protocolo de conservación *in vitro* dado por sorbitol al 0,5% fue el mejor tratamiento para la conservación de esta orquídea.

**Palabras clave:** Biotecnología, bosque seco tropical, explantes, medios de cultivo, orquídea, osmorreguladores.

## Abstract

**Introduction:** *Cyrtopodium schargellii*, known in certain areas as ‘lluvia dorada’, is an orchid native to Central America, distributed in countries such as Venezuela and Colombia. It is possible to find this orchid in Colombia in the department of Córdoba and other surrounding areas. **Objective:** The objective of this research was to establish a viable and effective protocol for the *in vitro* conservation of the orchid *C. schargellii*; **Materials and methods:** for this purpose, seedlings of this species previously germinated *in vitro* were used, and then explants were taken and sown in culture media supplemented with 100% MS salts and two osmoregulators (mannitol and sorbitol) in four treatments for each substance: T1 (0.5%), T2 (1%), T3 (1.5%) and T4 (2%). In addition, a control was prepared (T0, without osmoregulators and with 100% MS salts). **Results:** In the case of mannitol, shoot and root formation was observed, accompanied by chlorosis and death of some explants, while in the case of sorbitol, little shoot and root formation was observed, but all explants survive. **Conclusion:** In conclusion, the *in vitro* preservation protocol given by 0.5% sorbitol was the best treatment for the preservation of this orchid.

**Keywords:** Biotechnology, tropical dry forest, explants, growing media, orchid, osmoregulators.

## Introducción

*C. schargellii* es una planta epífita perteneciente a la familia Orchidaceae, nativa de América Central y distribuida en países tales como el oeste-noroeste de Venezuela y Colombia, siendo posible encontrarla en ecosistemas tales como el bosque seco tropical, propio de los departamentos de Córdoba y Sucre de este último (1). A diferencia de otras especies del género, *C. schargellii* es una especie que únicamente presente hábito de crecimiento de tipo epífita, con raíces aéreas que forman

"cestas de basura" y con grandes pseudobulbos (hasta 60 cm de altura) (2). Sus hojas son articuladas, con espinas afiladas a lo largo de la articulación en pseudobulbos jóvenes sin hojas. La inflorescencia es de tipo panícula, de hasta 80 cm de altura, las brácteas pedunculares más grandes visiblemente infladas; brácteas florales y sépalos y pétalos anchamente ovoides, de color marrón amarillento (Figura 1 y 2) (2).



**Figura 1 y 2.** Planta completa y flor de la especie *C. schargellii*. Fuente: Autoría propia.

A distintas especies de esta familia, así como a un gran número de otras especies, se les ha sometido a procedimientos de conservación *in vitro*, utilizando ciertas técnicas, tales como la denominada crecimiento mínimo. Con esta técnica, se logra disminuir de forma directa el crecimiento y desarrollo de una planta mediante la inducción del estrés osmótico controlado que generan algunos componentes del medio de cultivo, tales como los osmorreguladores en combinación con parámetros ambientales controlados (3). Para ello, se emplean comúnmente reguladores osmóticos como manitol y sorbitol. Estos compuestos contribuyen a reducir el potencial osmótico del medio de cultivo y, por ende, la disponibilidad de agua para los tejidos (4).

El efecto de los reguladores osmóticos en cultivos de tejidos vegetales *in vitro* está estrechamente relacionado con el movimiento del agua dentro y fuera de las células de las plantas, el cual está determinado por las concentraciones relativas de las sustancias disueltas en las soluciones interna y externa, y por la presión ejercida por las paredes celulares. Estas sustancias ejercen un potencial osmótico, el cual está determinado por la concentración molar de las soluciones y también por la temperatura. Además, se debe tener especial consideración en la osmolaridad que presentan los medios de cultivo, puesto que las células de las plantas responden de maneras distintas ante los cambios osmóticos del medio en donde se encuentren, por lo que los cambios en la concentración de las soluciones dentro y fuera de las células compromete el transporte de nutrientes, y por consiguiente, el metabolismo de las mismas; de esta manera, por ejemplo, cambios presentados en la osmolaridad afectan el transporte de azúcares, aminoácidos y demás componentes necesarios para el metabolismo de la planta, los cuales permitirán que esta crezca y se desarrolle adecuadamente (5).

De esta manera, se ha registrado que una reducción en el potencial osmótico del agua es un factor clave que induce un período de retraso en ápices de cultivos tales como la papa, lo que se ve reflejado en una disminución en el crecimiento (6). En ese orden de ideas, hoy en día existen diversos estudios de conservación de cultivo de tejidos *in vitro* que han demostrado el efecto de osmorreguladores tales como el ácido salicílico, manitol, sorbitol, entre otros, las cuales presentan la capacidad de reducir el ritmo del crecimiento de los explantes en condiciones *in vitro*. El efecto de cada una de los reactivos dependerá de la concentración que sea empleada, así como el genotipo del explante que se esté utilizando.

Es requerido determinar el reactivo y su concentración para conservar el material vegetal sin afectar su fisiología hasta el punto de llevar a la muerte celular (7).

Existen diversos reportes de conservación de orquídeas bajo crecimiento mínimo, tales como el realizado en el año 2020, en el cual Ruíz (8) estableció un protocolo de germinación asimbiótica *in vitro* de *Sobralia macrantha* Lindl., comparando el efecto de distintos complejos orgánicos, fuentes de carbono, formulaciones de medio y concentraciones de sales basales. En el año 2022, López y Herrera (9) describieron la germinación asimbiótica de *Catasetum integerrimum*, su conservación en un medio de crecimiento lento y la regeneración por organogénesis adventicia directa e indirecta. Además, cabe aclarar que la conservación de los recursos fitogenéticos garantiza su posible utilización como fuente de variación genética potencialmente útil, a la vez que evita la pérdida de diversidad genética en la agricultura, con la consiguiente reducción del material vegetal disponible para el uso de las generaciones presentes y futuras (10).

La conservación *in vitro* de *C. schargellii* es esencial para resguardar su variabilidad genética y mitigar los riesgos derivados de su distribución restringida, la fragmentación y pérdida de su hábitat debido acción antropogénica a la cual se ha visto sometida. Una perspectiva prometedora de esta técnica es la reducción de la tasa metabólica y la consecuente prolongación de la viabilidad de los explantes, permitiendo almacenar germoplasma de forma segura y eficiente, por prolongados periodos de tiempo. Esto garantiza la disponibilidad de material vegetal para futuros programas de propagación y restauración, fortaleciendo la conservación a largo plazo de la especie.

Según lo anterior, el objetivo de esta investigación fue establecer un protocolo viable de conservación *in vitro* para la orquídea *C. schargellii*.

## **Materiales y métodos**

**Ubicación geográfica.** La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad de Sucre, sede Puerta Roja. Esta se ubica en la ciudad de Sincelejo, cuya posición geográfica en Colombia es 9° 18' de latitud norte y 75° 23' de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

**Obtención del material vegetal.** Los explantes utilizados en esta investigación provenían de plantas previa-



mente germinadas *in vitro*, las cuales tenían un tiempo de germinación de aproximadamente 5 meses (Figura 3).



**Figura 3.** Plántulas usadas como fuente de explantes. Fuente: Autoría propia.

**Medios de cultivo.** Se realizó un total de 120 medios de cultivo, distribuidos en 4 tratamientos para cada uno de los dos osmorreguladores (T1, T2, T3 y T4, junto con el control T0); cada tratamiento estuvo conformado por 12 réplicas. Los tratamientos estuvieron compuestos de la siguiente manera: Manitol, T1 (sales MS al 100%, 5 gr/L de manitol (para una concentración del 0,5%), Myo-inositol, tiamina HCl, se ajustó el pH a  $5,7 \pm 5,8$  y se agregó Gelrite al 0,2%; T2 estuvo compuesto por sales MS (1962) al 100%, 10 gr/L de manitol (para una concentración del 1%), Myo-inositol, tiamina HCl, se ajustó el pH a  $5,7 \pm 5,8$  y se agregó Gelrite al 0,2%; T3 estuvo compuesto por sales MS (1962) al 100%, 15 gr/L de manitol (para una concentración del 1,5%), Myo-inositol, tiamina HCl, se ajustó el pH a  $5,7 \pm 5,8$

y se agregó Gelrite al 0,2% y T4 estuvo compuesto por sales MS (1962) al 100%, 20 gr/L de manitol (para una concentración del 2%), Myo-inositol, tiamina HCl, se ajustó el pH a  $5,7 \pm 5,8$  y se agregó Gelrite al 0,2%. Para el caso del sorbitol, los medios estuvieron compuestos por exactamente los mismos componentes en las mismas cantidades, con la única diferencia de que en este caso, la sustancia empleada fue sorbitol y no manitol. Por otro lado, en el caso de las 24 réplicas control, 12 para el manitol y otras 12 para el sorbitol, estuvieron compuestas por sales MS (1962) al 100%, sacarosa al 3%, Myo-inositol, tiamina HCl, se ajustó el pH a  $5,7 \pm 5,8$  y se agregó Gelrite al 0,2% (Tabla 1).

**Tabla 1.** Medios de cultivo implementados.

| Osmolito | Tratamientos | Demás componentes       | Numero de réplicas          |
|----------|--------------|-------------------------|-----------------------------|
| Sorbitol | T0 (Control) | Sales MS (1962)         | 12 réplicas por tratamiento |
|          | T1 (0.5%)    | al 100%                 |                             |
|          | T2 (1%)      | 0,05 gr de Myo-inositol |                             |
|          | T3 (1.5%)    |                         |                             |
|          | T4 (2%)      |                         |                             |
| Manitol  | T0 (Control) | 500 µl de Tiamina HCl   | 120 unidades experimentales |
|          | T1 (0.5%)    |                         |                             |
|          | T2 (1%)      | Gelrite al 0.2%         |                             |
|          | T3 (1.5%)    |                         |                             |
|          | T4 (2%)      | pH a 5.7 o 5.8          |                             |

**Siembra del material vegetal y condiciones del medio.** Se sembraron las vitroplántulas que presentaron una longitud de 1 a 4 cm (procurando que todas presentaran el mismo tamaño) a razón de una planta por medio (Figura 4A-C), y se incubaron en cuarto de crecimiento bajo las siguientes condiciones controladas: temperatura de  $28 \pm 5^\circ \text{C}$ , humedad relativa de 65 % y un fotoperiodo de 12 horas luz con una intensidad lumínica de  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .



**Figuras 4.** A. Siembra de los explantes en los medios de cultivo. B. Explantes utilizados. C. Explantes en los medios de cultivo. Fuente: Autoría propia.

**Evaluación del material vegetal.** Se evaluó el estado de los explantes por un tiempo total de tres meses, realizando controles aproximadamente cada 10 días, donde se evaluaron parámetros cuantitativos y cualitativos, tales como el número de brotes formados en cada medio, la longitud de dichos brotes, el número de raíces formadas, la longitud de dichas raíces y, finalmente, se evaluó la supervivencia de cada uno de los explantes por tratamiento.

**Diseño y análisis estadístico.** Esta investigación se realizó bajo un diseño completamente al azar (DCA). A los datos que se obtuvieron se les aplicaron las pruebas de normalidad (ShapiroWilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett), tras lo cual, aquellas variables distribuidas de forma normal y homogénea fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba de comparación múltiples de medias Tukey ( $\alpha$ : 0.05), mientras que en caso contrario se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Todos los análisis estadísticos se procesaron en los programas Excel, R Project y R Studio para Windows.

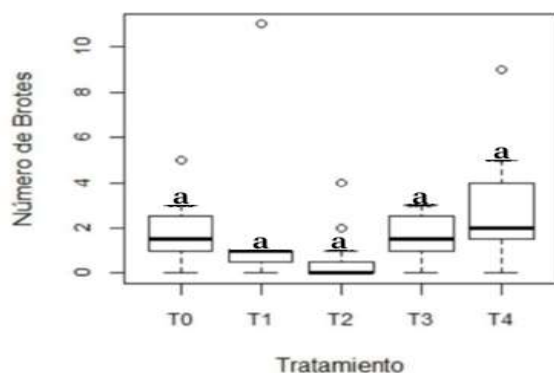
## Resultados

Transcurridos los 90 días de control en la etapa de crecimiento mínimo, se observaron los siguientes resultados para cada uno de los tratamientos implementados:

### Tratamientos con el osmorregulador manitol

El ANOVA para el número de brotes demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 2.144,  $p > 0.05$ ) (Figura 5)

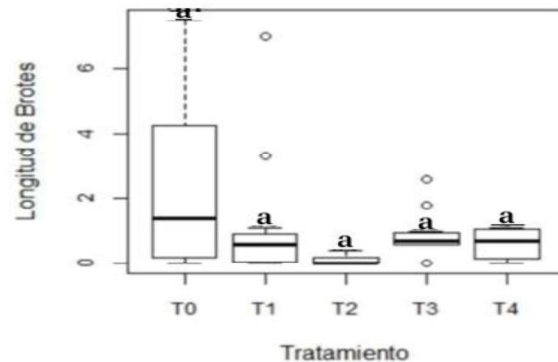
oxplot de Número de Brotes - Manitol (Cyrto



**Figura 5.** Relación entre el número de brotes con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

El ANOVA para la longitud de brotes demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 2.909,  $p > 0.05$ ) (Figura 6)

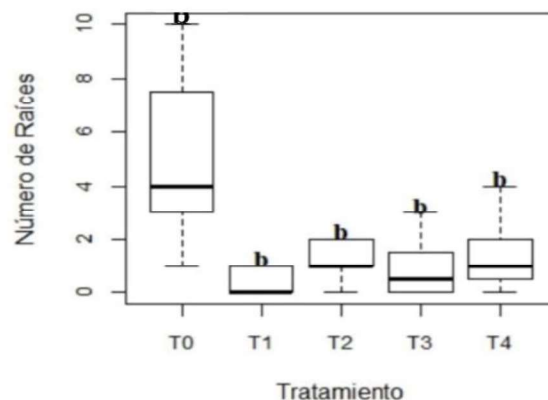
oxplot de Longitud de Brotes - Manitol (Cyrto



**Figura 6.** Relación entre la longitud de brotes con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

El ANOVA para el número de raíces demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 15.95,  $p > 0.05$ ) (Figura 7)

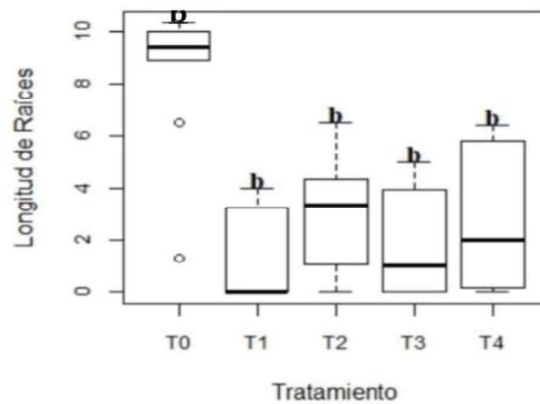
oxplot de Número de Raíces - Manitol (Cyrto



**Figura 7.** Relación entre el número de raíces con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

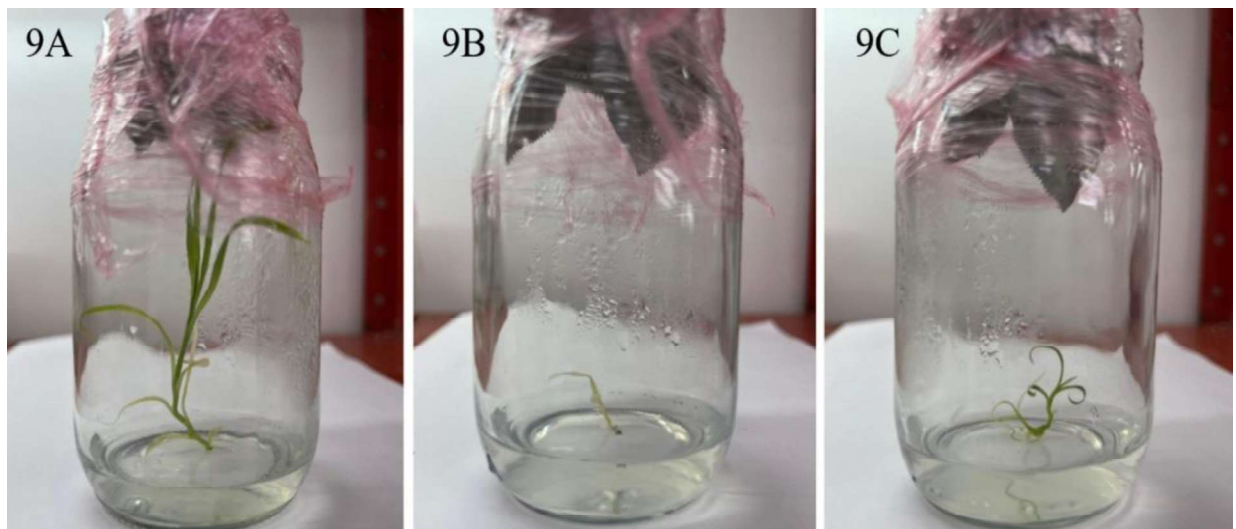
El ANOVA para la longitud de raíces demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 21.54,  $p > 0.05$ ) (Figura 8).

Boxplot de Longitud de Raíces - Manitol (Cyrt)



**Figura 8.** Relación entre la longitud de raíces con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

Además del análisis estadístico realizado, en las siguientes imágenes es posible evidenciar el estado en el que se encontraban las plantas al momento de realizar el último control de dicho osmorregulador (90 días) (Figuras de la 9 a la 13):



**Figura 9.** Vitroplantas en T1 de manitol (0,5%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 9A, 9B y 9C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



**Figura 10.** Vitroplantas en T2 de manitol (1%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 10A, 10B y 10C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.

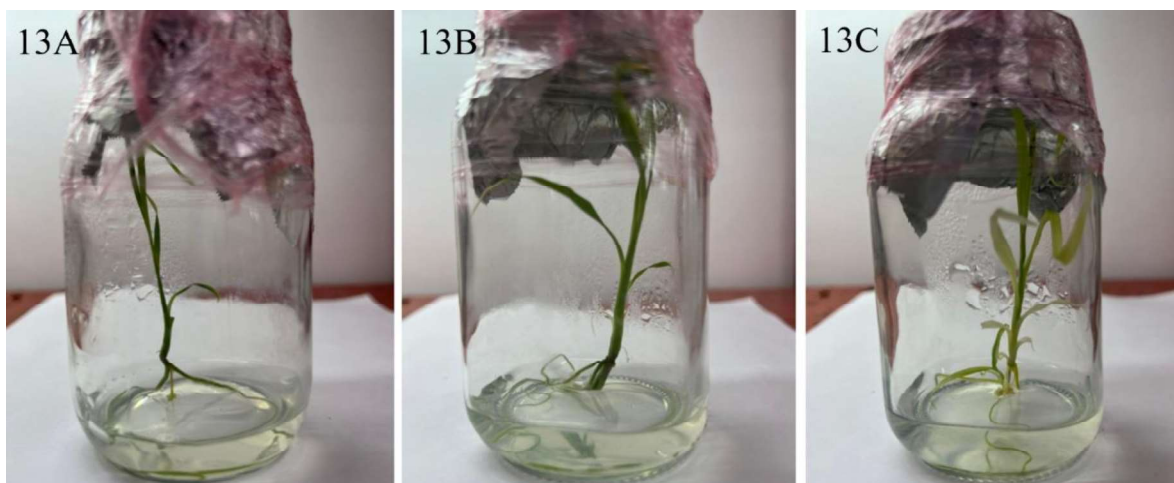




**Figura 11.** Vitroplantas en T3 de manitol (1,5%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 11A, 11B y 11C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



**Figura 12.** Vitroplantas en T4 de manitol (2%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 12A, 12B y 12C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



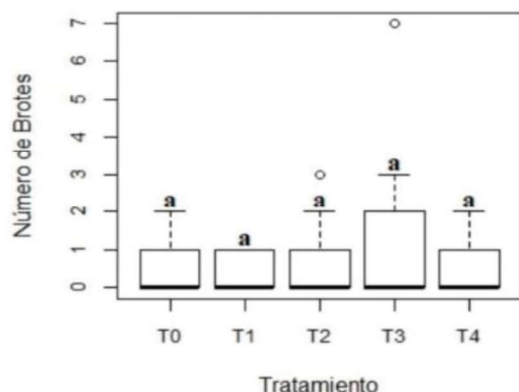
**Figura 13.** Las figuras muestran el estado en que se encontraban las plantas en T0 de manitol (control) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 13A, 13B y 13C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.

### Tratamientos con el osmorregulador sorbitol

En cuanto a los tratamientos con sorbitol, se encontraron los siguientes resultados:

El ANOVA para el número de brotes demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 0.896,  $p > 0.05$ ) (Figura 14).

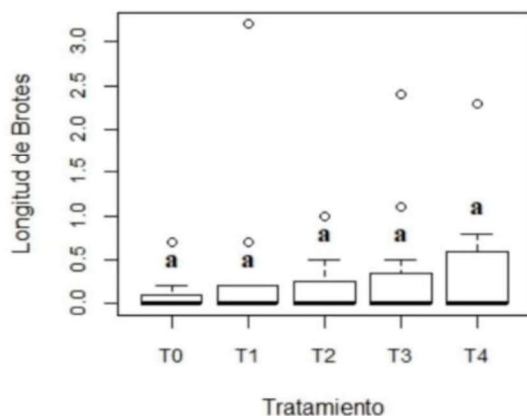
oxplot de Número de Brotes - Sorbitol (Cyrt)



**Figura 14.** Relación entre el número de brotes con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

El ANOVA para la longitud de brotes demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos, ( $p$ -valor = 0.495,  $p > 0.05$ ) (Figura 15).

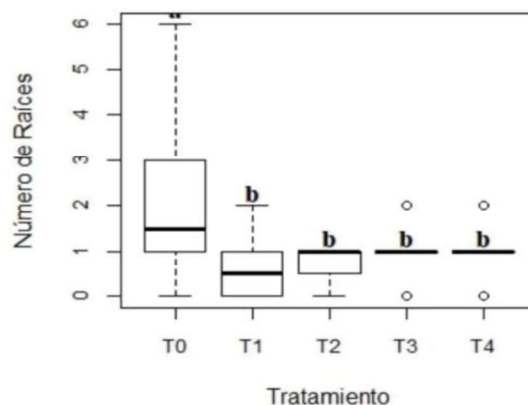
oxplot de Longitud de Brotes - Sorbitol (Cyrt)



**Figura 15.** Relación entre la longitud de brotes con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

El ANOVA para el número de raíces demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 5.022,  $p > 0.05$ ) (Figura 16).

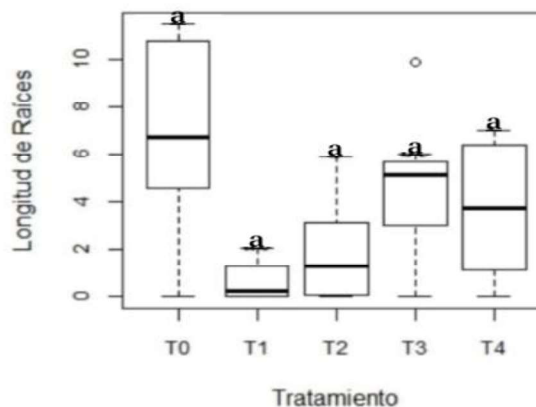
oxplot de Número de Raíces - Sorbitol (Cyrt)



**Figura 16.** Relación entre el número de raíces con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

El ANOVA para la longitud de raíces demostró que no hubo diferencias significativas entre dicha variable y los tratamientos ( $p$ -valor = 10.72,  $p > 0.05$ ) (Figura 17).

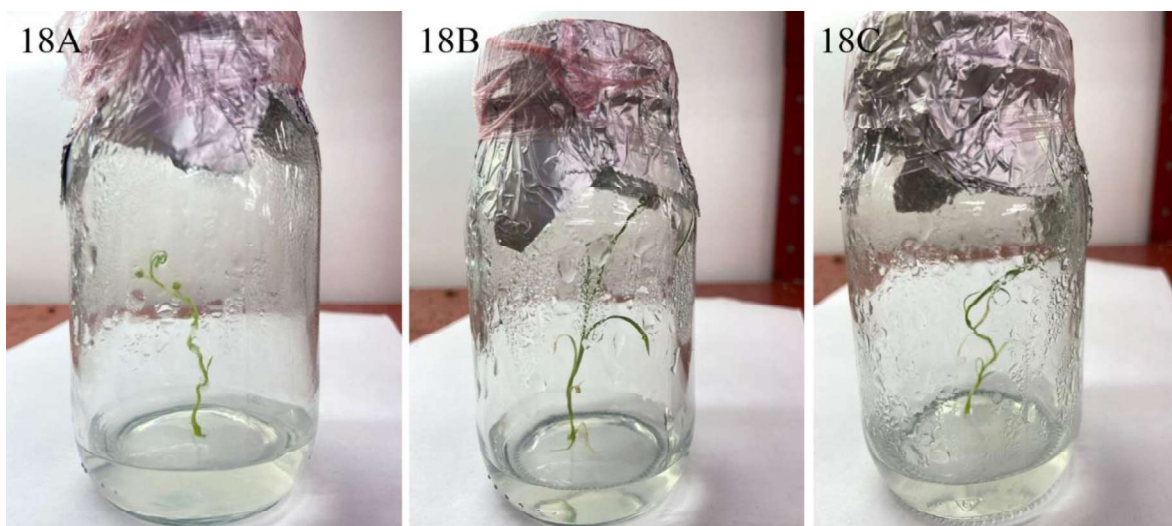
oxplot de Longitud de Raíces - Sorbitol (Cyrt)



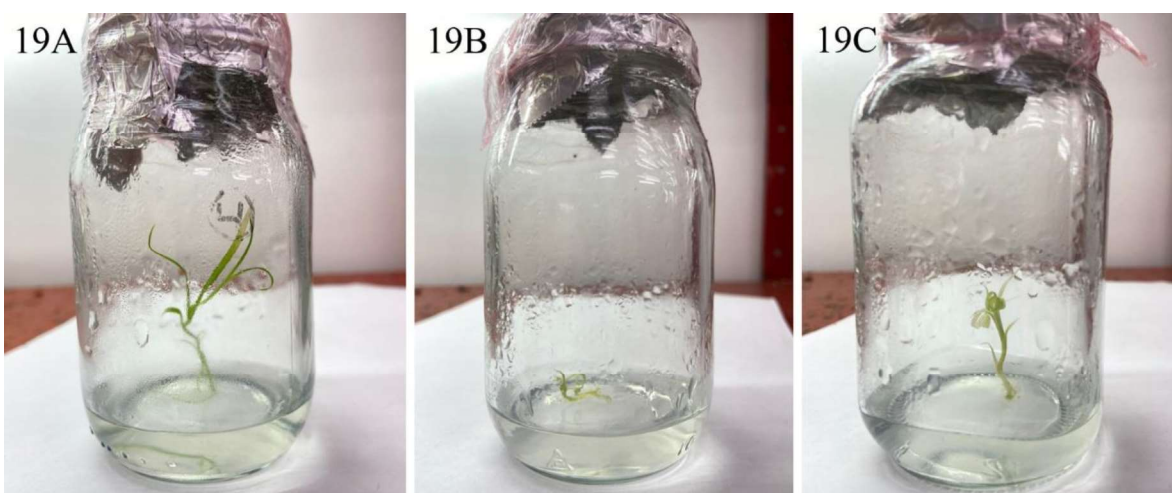
**Figura 17.** Relación entre la longitud de raíces con respecto a los tratamientos de crecimiento mínimo para *C. schargellii*.

Además del análisis estadístico realizado, en las siguientes imágenes es posible evidenciar el estado en el que se encontraban las plantas al momento de realizar el último control de dicho osmorregulador (90 días) (Figuras de la 18 a la 22):





**Figura 18.** Vitroplantas en T1 de sorbitol (0,5%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 18A, 18B y 18C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



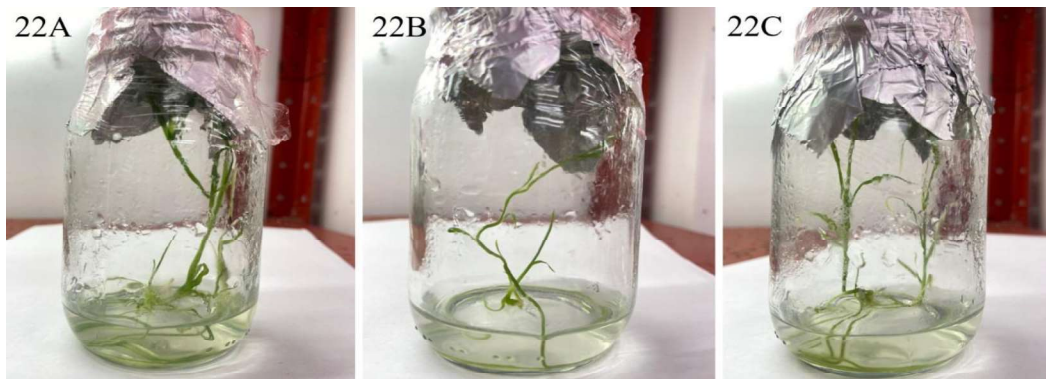
**Figura 19.** Vitroplantas en T2 de sorbitol (1%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 19A, 19B y 19C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



**Figura 20.** Vitroplantas en T3 de sorbitol (1,5%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 20A, 20B y 20C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.



**Figura 21.** Las figuras muestran el estado en que se encontraban las plantas en T4 de sorbitol (2%) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 21A, 21B y 21C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.

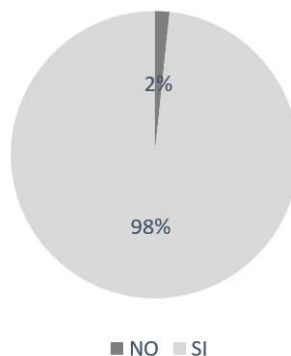


**Figura 22.** Vitropantas en T0 de sorbitol (control) en la etapa de crecimiento mínimo al realizar el último control. Las imágenes 22A, 22B y 22C corresponden a réplicas del mismo tratamiento.

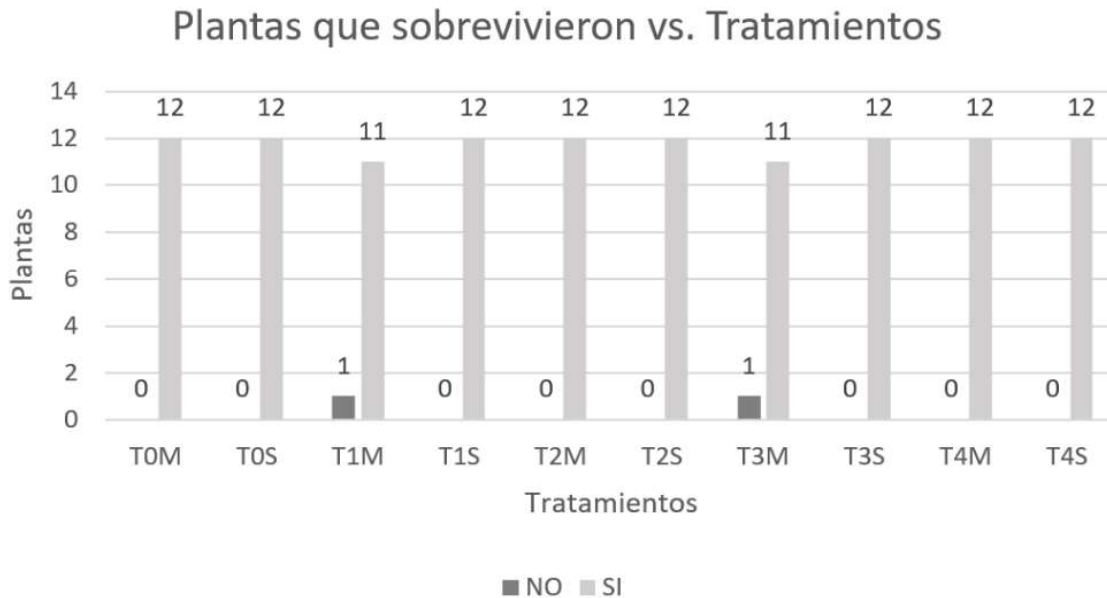
### Supervivencia

Para la variable en cuestión, se realizó una prueba de proporción en Excel, la cual, al graficarla, se obtuvo como resultados lo observado en los siguientes diagramas (Figura 23 y 24):

Diagrama circular de la prueba de proporción



**Figura 23.** Diagrama circular de la prueba de proporción. La figura muestra la proporción de explantes vivos post siembra en medios de crecimiento mínimo para *C. schargellii* cultivados *in vitro*. El diagrama evidencia una marcada diferencia entre las categorías evaluadas: un 98% de los explantes correspondió a la categoría “Sí”, indicando supervivencia, mientras que solo un 2% se clasificó como “No”, reflejando una mortalidad mínima. Este resultado sugiere una alta eficiencia del cultivo *in vitro* empleado para la conservación de la especie.



**Figura 24.** Diagrama de la supervivencia vs. cada uno de los tratamientos. La figura presenta la relación entre los tratamientos evaluados y la supervivencia de los explantes de *C. schargellii* cultivados *in vitro*. En todos los tratamientos se observa una altísima supervivencia, con 11 o 12 explantes vivos, mientras que la mortalidad fue prácticamente nula, registrándose solo un explante no sobreviviente en los tratamientos T1M y T3M. Estos resultados sugieren que los diferentes tratamientos aplicados mantuvieron condiciones adecuadas para la viabilidad de los explantes, evidenciando la efectividad general del protocolo empleado.

## Discusión

Después de haber analizado los resultados obtenidos, se observa que la adición de osmolitos como el manitol y el sorbitol, se ha utilizado para reducir la tasa de crecimiento para la conservación de genotipos valiosos *in vitro* de diversas especies de plantas, donde resaltan *Solanum tuberosum* (papa), *Dioscorea alata* (ñame) y *Sechium edule* (chayote), ya que las plantas no tienen una ruta nativa para la biosíntesis de los alcoholes de azúcar (manitol y sorbitol) por lo que es difícil asimilarlos. Sin embargo una vez traslocados, pueden ser metabolizados y utilizados, reduciendo el metabolismo y crecimiento de la planta *in vitro* (11). Para la especie *C. schargellii*, los resultados obtenidos en la presente investigación permiten afirmar que no es aconsejable el uso de manitol en el medio de cultivo de esta especie, ya que no evita la formación de estructuras vegetativas y además, ocasiona la muerte de algunos de los explantes, tal como se observa en T4 con el número de brotes, T2 con el número de raíces y supervivencia en T1 y T3, respectivamente.

Posiblemente esto se deba a una baja disponibilidad de nutrientes y de carbono, debido a la poca absorción de agua por parte del explante por la reducción del potencial hídrico del medio de cultivo, producto de la adición de dicho osmorregulador. Este suceso ha sido observado

por Cárdenas y Villegas (2002) (12), quienes encontraron que el uso de manitol como osmorregulador genera potenciales osmóticos más negativos en comparación al sorbitol; estos resultados son muy parecidos a los obtenidos por Díaz et al (2014) (3), en su estudio de conservación *in vitro* de *Dioscorea* spp. por crecimiento mínimo. Según lo anterior, Bello et al (2015) (13) afirma que el uso de manitol no es recomendable para la conservación *in vitro* de germoplasma de la orquídea *Vanilla planifolia*, puesto que este osmorregulador de crecimiento utilizado en este estudio tuvo un efecto negativo sobre las variables de supervivencia y crecimiento evaluadas, o al menos, según las concentraciones implementadas (10, 20 y 30 g L<sup>-1</sup> de manitol). Otros estudios realizados en orquídeas, tal como el de López (2013) (14) en la especie *Epidendrum chlorocorymbos*, afirma que la reducción del crecimiento se consiguió modificando la composición del medio de cultivo mediante la adición del regulador osmótico sorbitol. Las condiciones óptimas de condiciones óptimas para un crecimiento lento fueron 1% de sorbitol y 50% de fuerza iónica MS.

En ese orden de ideas, otros trabajos tales como el de López y Herrera (2022) (9), en donde se estableció un protocolo de conservación en crecimiento mínimo a la especie *Catasetum integerrimum*, afirman que el medio



basal MS con 2% de sorbitol es un tratamiento efectivo para conservar esta orquídea *in vitro*.

En cuanto a estudios realizados a otras plantas, como por ejemplo, *Smallanthus sonchifolius* (yacón), Skalo-va *et al* (2012) (15) afirman que medios suplementados con osmolitos (10 o 20 g L<sup>-1</sup> de manitol o sorbitol) pueden utilizarse con éxito como tratamiento de crecimiento mínimo de plántulas de dicha especie, manteniendo una alta tasa de supervivencia y baja altura de la planta después de los 60 días de conservación. También, Srivastava *et al* (2013) (16), en su estudio de crecimiento mínimo para la especie *Glycyrrhiza glabra* (regaliz), encontró que el uso de sorbitol como agente osmótico redujo significativamente el número de microbrotes y la altura de los brotes. El número máximo ( $4,00 \pm 0,471$ ) de microbrotes se obtuvo con 20 g L<sup>-1</sup> de sorbitol, mientras que el número más bajo de microbrotes ( $1,33 \pm 0,272$ ) se obtuvo con un medio suplementado con 40 g L<sup>-1</sup> de sorbitol. De igual manera, González (2007) (17) desarrolló un protocolo de crecimiento mínimo para la especie *Capsicum chinense* Jack. (chile habanero), donde encontró que a los 100 días de cultivo en medio MS y MS a la mitad de su fuerza iónica con la adición de osmoreguladores como el manitol o sorbitol redujeron el crecimiento de las plántulas, utilizando como explante yemas apicales con las 22 hojas cotiledonares reducidas a la mitad y el mejor tratamiento es el que estuvo compuesto por el medio de cultivo MS, suplementado con manitol o sorbitol al 1.5%. Todos estos resultados se relacionan con los obtenidos por da Costa *et al* (2011) (18), quienes evaluaron el efecto del sorbitol y la sacarosa en la conservación *in vitro* de segmentos nodales de *Hancornia speciosa* (mangabeira), encontrando así que la conservación *in vitro* de segmentos nodales de mangabeira en ausencia de sacarosa y en presencia de 10 o 20 g L<sup>-1</sup> de sorbitol es viable en condiciones de crecimiento lento durante 120 días, y que los explantes mantenidos en ausencia de sacarosa o en presencia de 10 g L<sup>-1</sup> de sorbitol durante la fase de conservación

muestran mayor viabilidad para reanudar el crecimiento hasta los 60 días de cultivo. Finalmente, se afirma que para la orquídea *C. schargellii* el tratamiento de crecimiento mínimo que mejores resultados arrojó fue el T1 (medio MS con sorbitol al 0,5%), puesto que a estas concentraciones de dicho osmorregulador, se obtiene una baja formación de estructuras vegetativas tales como raíces y brotes, se observa buena supervivencia de los explantes utilizados y las plantas conservan una apariencia verde, vigorosa y saludable.

Los resultados de esta investigación permiten concluir que el manitol no es un osmorregulador recomendable para trabajar en la conservación *in vitro* de la especie *C. schargellii*, puesto que afecta la supervivencia de los explantes y no evita la formación de estructuras vegetativas, tales como brotes y raíces. A diferencia de este osmolito, el sorbitol sí puede ser utilizado para dicho fin, pero solo a bajas concentraciones, donde se observaron mejores resultados en comparación con las altas concentraciones implementadas.

Se recomienda realizar más investigaciones al respecto, como por ejemplo, dejando por un período de tiempo más prolongado dichos explantes en los medios de cultivo, con el objetivo de evidenciar qué otras respuestas tienen los mismos ante dichas condiciones. Sin embargo, se afirma que la conservación *in vitro* de la orquídea *C. schargellii* se puede lograr mediante el uso de sorbitol al 0,5%.

Los autores expresan que no hay conflicto de intereses.

### Agradecimientos

Agradecimientos al laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad de Sucre, donde se realizó el presente trabajo de investigación, y al grupo de Investigación en Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre (BIOVUS) por el acompañamiento y el apoyo para realizar este trabajo.

## Referencias

- Hernández-Rosales, D. & Ortega-Macareno, L. (2025). *Muestreo y recolección de Cyrtopodium schargellii y Trichocentrum nudum, dos orquídeas epífitas presentes en el municipio de Sampués*. Universidad de Sucre. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15472/rix1ig> accessed via GBIF.org on 2025-08-25. <https://gbif.org/occurrence/5219767302>
- Romero, G., Aymard, G. y Carnevali, G. (2005). *Cyrtopodium schargellii* (Cyrtopodiinae, Orchidaceae), a new species from northern south america. *Harv. Pap. Bot.* 10:123-127. DOI:10.3100/1043-4534(2005)10[123:CSCOAN]2.0.CO;2.
- Díaz, L., Carmona, O. y Beltrán, J. (2015). Optimización de la conservación in vitro de germoplasma de *Dioscorea spp.* por crecimiento mínimo. *Rev. Colomb. Biotecnol.* XVII (1): 32-39. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50842.
- Montalvo, M., Iglesias, L., Mijangos, J., Nahuat, S., Barahona, F., Canto, A. y Santana, N. (2007). In vitro germoplasm conservation of *Habanero Pepper* (*Capsicum chinense* Jacq.). *Hortscie.* 42(5):1247-1252. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1247>.
- Suárez, I. (2020). *Cultivo de tejidos vegetales*. Fondo Editorial Universidad de Córdoba, Cra. 6 No. 77 -305 Montería Colombia. ISBN 978-958-5104-09-9. <https://core.ac.uk/download/pdf/288339333.pdf>
- Pineda, A., Hernández, A. y Díaz, H. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento in vitro de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja). *Manglar* 18(2): 123-128, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/manglar.2021.016>.
- García, L., de Feria, M. y Acosta, K. (2007). Aspectos básicos de la conservación in vitro de germoplasma vegetal. *Biotechn. Veg.*, 7(2), 67-79. <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnologiavegetal/2007/vol7/no2/1.pdf>
- Ruiz, A. (2020). *Germinación asimbiótica in vitro de Sobralia macrantha* Lindl., una orquídea terrestre nativa de México. UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000804010/3/0804010.pdf>
- López, G., y Herrera, G. (2022). Asymbiotic germination, in vitro conservation and regeneration of *Catasetum integerrimum*. *Polibot.*, (53), 135-149. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.9>.
- Rayas, A., López, J., Medero, V., Basail, M., Santos, A. y Gutiérrez, Y. (2019). Conservación in vitro de cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam por crecimiento mínimo con el uso de manitol. *Biotechn. Veg.*, 19(1), 43-51. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472019000100043&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472019000100043&script=sci_arttext)
- Montiel, P., Castillo, C., Gómez, L., Valle, M. y Jasso, J. (2015). Conservación in vitro por crecimiento mínimo de *Swietenia macrophylla* King, y *Tectona grandis* L. *Agroproduct*: 9(2):20-25. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/715/584>
- Cárdenas, M. y Villegas, A. (2002). Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación in vitro. *Rev. Fitotec. Mex.* 25(2), 213-217. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/25-2/13a.pdf>
- Bello, J., García, G. y Iglesias, L. (2015). Conservación de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks.) bajo condiciones de lento crecimiento in vitro. *Rev. Fitotec. Mex* 2015, 38 (2):165-171. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802015000200006&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802015000200006&script=sci_arttext)
- López, G. (2013). Un protocolo efectivo de crecimiento in vitro para la conservación de la orquídea *Epidendrum chlorocorymbos* SCHLTR. *Trop. Subtrop. Agroecosyst*, 16 (2013): 61 – 68. DOI:10.56369/tsaes.1360
- Skalova, I., Viehmannova, I. y Vitamvas, J. (2012). In vitro conservation of *Smallanthus sonchifolius* under slow-growth conditions. *Agric. Trop. Et Subtrop.*, 45/3, 147-150, 2012. DOI: 10.2478/v10295-012-0024-5
- Srivastava, M., Purshottam, D., Srivastava, A. y Misra, P. (2013). In vitro conservation of *Glycyrrhiza glabra* by slow growth culture. *Intern. J. Biotechn. Res.* 3 (1): 49-58.
- González, E. (2007). *Establecimiento de las condiciones de crecimiento mínimo para la conservación in vitro de germoplasma de chile habanero* (*Capsicum chinense* Jacq.). Tesis. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Yucatán.
- da Costa, M., da Silva, A., da Silva, C. Duarte, F. y da Silva, J. (2011). Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação in vitro de segmentos nodais de mangabeira. *Rev. Ciên. Agron.*, 42 (3) 735-741,