

CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Laelia autumnalis* Y *Encyclia cordigera* EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA Y CARBÓN ACTIVADO

GROWTH OF *Laelia autumnalis* AND *Encyclia cordigera* SEEDLINGS AS A FUNCTION OF SUCROSE AND ACTIVATED CHARCOAL CONCENTRATION

Cabañas-Rodríguez, M., Andrade-Rodríguez, M., Villegas-Torres, O.G., Alía-Tejaca, I., Juárez-López, P., Chávez-García, J.A.

CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Laelia autumnalis* Y *Encyclia cordigera* EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA Y CARBÓN ACTIVADO.

GROWTH OF *Laelia autumnalis* AND *Encyclia cordigera* SEEDLINGS AS A FUNCTION OF SUCROSE AND ACTIVATED CHARCOAL CONCENTRATION



Crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis* y *Encyclia cordigera* en función de la concentración de sacarosa y carbón activado

Growth of *Laelia autumnalis* and *Encyclia cordigera* seedlings as a function of sucrose and activated charcoal concentration

Marcela Cabañas-Rodríguez,
María Andrade-Rodríguez,
Oscar Gabriel Villegas-Torres,
Iran Alia-Tejagal, Porfirio
Juárez-López, José Antonio
Chávez-García

CRECIMIENTO DE
PLÁNTULAS DE *Laelia
autumnalis* Y *Encyclia
cordigera* EN FUNCIÓN DE
LA CONCENTRACIÓN DE
SACAROSA Y CARBÓN
ACTIVADO.

GROWTH OF *Laelia
autumnalis* AND *Encyclia
cordigera* SEEDLINGS AS A
FUNCTION OF SUCROSE
AND ACTIVATED
CHARCOAL
CONCENTRATION

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 61: 221-234. Enero 2026

DOI:

10.18387/polibotanica.61.13

Marcela Cabañas-Rodríguez / marcela.cabanasr@uaem.mx
<http://orcid.org/0009-0004-8405-9233>

Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural. Facultad de Ciencias
Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

María Andrade-Rodríguez / maria.andrade@uaem.mx ✉
<https://orcid.org/0000-0003-0757-742X>

Oscar Gabriel Villegas-Torres / oscar.villegas@uaem.mx <https://orcid.org/0000-0001-9885-3906>

Iran Alia-Tejagal / iran.alia@uaem.mx
<https://orcid.org/0000-0002-2242-2293>

Porfirio Juárez-López / porfirio.juarez@uaem.mx
<https://orcid.org/0000-0002-4241-1110>

José Antonio Chávez-García / jose.chavez@uaem.mx
<https://orcid.org/0000-0002-1480-8401>

Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62209. Cuernavaca, Morelos

RESUMEN: En el cultivo de tejidos vegetales se utilizan diferentes componentes para mejorar el crecimiento de las plantas; entre ellos, la adición de diferentes concentraciones de sacarosa y carbón activado a los medios de cultivo ha favorecido el crecimiento de muchas especies. La mayoría de las orquídeas presentan crecimiento lento y baja capacidad fotosintética; esto ocurre también *in vitro*, aunque de manera menos acentuada; por lo tanto, es necesario investigar los componentes del medio que favorecen el crecimiento de estas plantas. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de tres concentraciones de sacarosa y tres de carbón activado en el crecimiento *in vitro* de plantas de *Laelia autumnalis* y *Encyclia cordigera*. Se utilizaron los macro y micro nutrientes del medio Murashige y Skoog (1962), suplementado con 0.5 mg L⁻¹ de tiamina HCl, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol y tres concentraciones de sacarosa (15, 30 y 45 g L⁻¹) en combinación con carbón activado (0, 1 y 3 g L⁻¹). Se usó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos para cada especie, con 10 repeticiones y 10 plántulas por repetición para cada uno de los 9 tratamientos. En *L. autumnalis*, 45 g de sacarosa y 1 g de carbón activado generaron los mayores resultados para altura de plántula (31.97 mm), longitud de hoja (13.44 mm) y de raíces (8.63 cm), materia seca de planta y de raíces (6.57 y 2.65 mg, respectivamente). En *E. cordigera*, 45 g de sacarosa y 3 g de carbón activado, promovieron la mayor altura de la parte aérea (6.06 mm), número (5.78) y longitud de hoja (21.54 mm), número de raíces (8.02), diámetro de protocormo (3.21 mm), materia seca de plantas y raíces (27.78 y 52.92 mg, respectivamente). A mayor cantidad de sacarosa y carbón activado hubo mayor crecimiento. Se observó una menor longitud en las plantas sin la adición de carbón activado. Por lo que, para tener mayor crecimiento se sugiere cultivar *in vitro* las plántulas de *L. autumnalis* en medio MS con 45 g L⁻¹ de sacarosa en combinación con 1 g L⁻¹ de carbón activado y las de *E. cordigera* en el medio MS suplementado con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado.

Palabras clave: orquídeas, carbohidratos, crecimiento.

ABSTRACT: In plant tissue culture, different components are used to improve plant growth; among them, the addition of different concentrations of sucrose and activated charcoal to the culture media has favored the growth of many species. Most orchids grow slowly and have low photosynthetic capacity; this also occurs *in vitro*, although to a lesser extent; therefore, it is necessary to investigate the environmental components that promote the growth of this plants. The aim of the research was to evaluate the effect of three concentrations of sucrose and three concentrations activated charcoal on the *in vitro* growth of plants of *Laelia autumnalis* and *Encyclia cordigera*. The macro and micronutrients of the medium Murashige and Skoog (1962) were used, supplemented with 0.5 mg L⁻¹ of thiamine HCl, 100 mg L⁻¹ of myo-inositol and three concentration whit activated charcoal (0, 1 and 3 g L⁻¹). A completely randomized, factorial arrangement of treatments was used for each species, with 10 replications and 10 seedlings per replication for each of the 9 treatments. In *L. autumnalis*, 45 g of sucrose and 1 g of activated charcoal generated the highest results for seedling height (31.97 mm), leaf length (13.44 mm) and root length (8.63 cm), plant dry matter and root (6.57 and 2.65 mg, respectively). In *E. cordigera*, 45 g of sucrose and 3 g of activated charcoal promoted the highest height of the aerial part (6.06 mm), number (5.78) and leaf length (21.54 mm), number of roots (8.02), protocorm diameter (3.21 mm), plant dry matter and roots (27.78 and 52.92 mg, respectively). The greater the amount of sucrose and activated charcoal, the greater the growth. Shorter length was observed in the plants without the addition of activated charcoal. Therefore, to have greater growth, it is suggested to *in vitro* culture of *L. autumnalis* seedlings in MS medium with 45 g L⁻¹ of sucrose in combination with 1 g L⁻¹ of activated charcoal, and those of *E. cordigera* in MS medium supplemented with 45 g L⁻¹ of sucrose and 3 g L⁻¹ of activated charcoal.

Key words: orchids, carbohydrates, growth.

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas destacan por la belleza de sus flores (fragantes muchas de ellas), colores vistosos y atractivos, lo que genera su importancia comercial. Lo anterior ha provocado la continua extracción de ejemplares de poblaciones silvestres, sumado al deterioro de su hábitat natural han sido factores que han disminuido las poblaciones de orquídeas (Sedano *et al.*, 2015). Por lo que, en la actualización de la NOM-059-SEMARNAT-2010, se encuentran 197 especies de orquídeas en alguna categoría de riesgo (DOF, 2019); de ahí que, se considera necesario cuidar y proteger las plantas de esta familia botánica tanto *in situ* como *ex situ*.

Laelia autumnalis (La Llave & Lex.) Lindl, es una planta nativa de México de 20 a 40 cm de alto excluyendo la inflorescencia, con flores grandes y vistosas de 6.5 a 11 cm de diámetro, tépalos lila a magenta oscuro, labelo trilobado, los lóbulos laterales de color lila con blanco, con fragancia débil a intensa a la luz del día (Halbinger y Soto, 1997).

Las poblaciones silvestres han estado sujetas al cambio en el uso del suelo y la extracción masiva e ilegal de individuos, para satisfacer la demanda de los mercados; estas actividades ponen en peligro a la especie (Hernández-Muñoz *et al.*, 2013). Esta orquídea está en la categoría de protección especial (Pr) en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2019).

Encyclia cordigera (Kunth) Dressler es una orquídea epífita de hasta 50 cm de alto; con inflorescencia terminal, racemosa, flores simultáneas grandes, vistosas y fragantes, con sépalos y pétalos carnosos, de color marrón rojizo y labelo grande de color blanco a rosa-púrpura. En México, se distribuye en Veracruz, Oaxaca y Chiapas (Hagsater y Salazar, 1990). Esta especie no está en la NOM-059-SEMARNAT-2010; sin embargo, Ramírez *et al.* (2016) señalan que está clasificada como vulnerable en el libro rojo de la Flora de Venezuela y está incluida en el apéndice II de CITES (2025), dado que su población ha sido disminuida debido al deterioro de su hábitat.

El cultivo de tejidos vegetales es una técnica que facilita la germinación, crecimiento y propagación de muchas especies de orquídea, ya que se lleva a cabo en condiciones de asepsia, en presencia de fuentes de nutrimentos y condiciones ambientales controladas (Salazar *et al.*, 2013). Los componentes que se adicionan a los medios de cultivo son sales minerales, compuestos orgánicos, elementos

gelificantes y componentes inertes. Las sales minerales que aportan macronutrientes (N, P, K, S, Ca y Mg) y micronutrientes (Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, Co) deben estar en una concentración que permita el adecuado crecimiento celular. En el grupo de los componentes orgánicos, se incluyen vitaminas, reguladores del crecimiento, azúcares y aminoácidos. Se pueden agregar otros componentes inertes como el carbón activado, que tiene la función de adsorber compuestos no deseados (antioxidante) (Sharry *et al.*, 2015), lo cual dependerá de la especie de estudio, el propósito de la investigación y el criterio del investigador.

La sacarosa es el producto más abundante de la fotosíntesis y la forma mayoritaria de transporte del azúcar en las plantas (Lunn *et al.*, 2014); tiene funciones celulares importantes, producción de energía mediante la respiración, regulación de la estabilidad de membrana y da soporte al proceso de formación de nuevas células en las plantas (Heriansyah, 2019; Karimah *et al.*, 2022). La sacarosa en los medios de cultivo *in vitro* actúa como fuente de energía, dado que se considera que los explantes, brotes y plántulas *in vitro* tienen poca o muy poca capacidad fotosintética para elaborar carbohidratos. Por tanto, es necesario proporcionar una fuente exógena (en forma de azúcares) para soportar la demanda de energía requerida para el crecimiento (Al-Khateeb, 2008).

El efecto de la concentración de sacarosa en *L. autumnalis* y *E. cordigera* no se ha estudiado, razón por la cual se incluyen antecedentes de otras especies. Al respecto, Sasamori *et al.* (2015) describen que las plantas de *Cattleya intermedia* tuvieron mayor crecimiento en medio MS al 50 % con 45 a 60 g L⁻¹ de sacarosa. En tanto que, De Melo Ferreira *et al.* (2017) indican que 30 g L⁻¹ de sacarosa favoreció el crecimiento de plántulas de *Alatioglossum fuscopetalum* de 120 días de edad. Zahara *et al.* (2017) reportan que 20 g L⁻¹ de sacarosa fue mejor para crecimiento de plántulas de *Phalaenopsis* híbrida 'Pink'. Por su parte, Rohmah y Taratima (2021) describen que 20 a 35 g L⁻¹ de sacarosa generó mayor crecimiento en la propagación *in vitro* de protocormos de *Cymbidium aloifolium* de 12 semanas, y observaron que la concentración óptima varió en función del órgano medido. Biswas *et al.* (2021), señalan que se utilizan 20 a 50 g L⁻¹ de sacarosa, como fuente de carbono en los medios de cultivo para multiplicación de orquídeas.

El carbón activado es un material poroso con una gran capacidad de adsorción de compuestos inhibidores en el medio; se ha utilizado para mejorar el crecimiento y el desarrollo celular. Desempeña un papel importante en la micropropagación, la germinación de semillas de orquídeas, la embriogénesis somática, el cultivo de anteras, etc. (Thomas, 2008). El carbón activado puede afectar la absorción de vitaminas, iones metálicos y reguladores del crecimiento; además, tiene la capacidad de retener tanto compuestos inhibidores como promotores del crecimiento y posteriormente liberarlos lentamente; por lo tanto, tiene un efecto positivo o negativo en el desarrollo, dependiendo de la especie (Guson *et al.*, 2012). En este sentido, Corbellini *et al.* (2020) reportan que, en las orquídeas, el carbón activado juega un papel importante en el crecimiento de varias especies por que actúa como antioxidante, adsorbente de auxinas y citocininas, exudados de las plantas y metabolitos tóxicos. La concentración requerida puede variar en función de la especie de orquídea y es necesario determinarla.

Baltazar-Bernal *et al.* (2022), evaluaron plántulas de *E. cordigera* en medio MS al 25, 50% y sales completas con (1.5 g) o sin carbón activado y reportaron que las plántulas tuvieron mayor altura (1.47 a 1.53 cm), así como más hojas por brote (0.75 a 1.30), cuando crecieron con carbón activado. No se tienen más antecedentes donde se haya evaluado el efecto del carbón activado en las especies estudiadas en este trabajo de investigación, razón por la cual se incluye información de otras orquídeas. Mercado y Jaimes (2022) usaron 1 g de carbón activado para cultivar *in vitro* *Cattleya gaskelliana* y *C. warszewiczii*, en tanto que, Sipayung *et al.* (2018) lo estudiaron en concentración de 0, 1.0 y 1.5 g L⁻¹ en plántulas de orquídea *Cattleya* de ocho semanas de edad, e indican que el incremento de carbón activado aumentó el número de hojas, número de brotes, longitud de raíces, así como en la altura.

Koene *et al.* (2019) evaluaron diferentes concentraciones de sacarosa (0, 15, 30 y 60 g L⁻¹) y carbón activado (0, 1, 2 y 3 g L⁻¹) en el crecimiento de protocormos y plántulas de *Acianthera prolifera* y reportaron que el carbón activado en el medio de crecimiento estimuló el desarrollo de plántulas. Mora-Cruz *et al.* (2023) cultivaron brotes de *Prosthechea vitellina* en el medio MS y al 50% de la concentración de sales, con y sin carbón activado (0.5 g L⁻¹) y reportaron que la mejor respuesta en el crecimiento de los brotes (2.16 cm) se obtuvo en el medio MS 50 % con 0.5 g L⁻¹ de carbón activado. De manera similar, Sipayung *et al.* (2018) evaluaron 0, 1.0 y 1.5 g L⁻¹ de carbón activado y BAP en el crecimiento de plántulas de *Cattleya*; e indicaron que con 1.5 g L⁻¹ de carbón activado no hubo efecto

en el número de hojas y brotes, durante las primeras 7 semanas; sin embargo, a las ocho semanas, el efecto fue significativo para el número y longitud de raíces, así como para altura de plántulas. Cid y Teixeira (2014) señalan que, el carbón activado es adicionado al medio de cultivo en concentración de 2 a 30 g L⁻¹, Paiva Neto *et al.* (2013) reportaron que las plántulas de orquídea *Aspasia variegata* cultivadas en medio MS suplementado con 3 y 6 g L⁻¹ de este componente, tuvieron mayor longitud de raíces, parte aérea, número de hojas y raíces.

La mayoría de las orquídeas presentan un periodo juvenil prolongado, una tasa de crecimiento lento y una baja capacidad fotosintética (Zhang *et al.*, 2018). Esto ocurre también *in vitro*, aunque de manera menos acentuada; por lo que, para reducir el tiempo de cultivo en el laboratorio y que las plantas estén aptas para salir a aclimatación, es conveniente evaluar componentes del medio de cultivo que puedan acelerar el crecimiento.

Con base en los antecedentes y la importancia de mejorar el crecimiento de plántulas de orquídeas, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de tres concentraciones de sacarosa en combinación con tres de carbón activado en el crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis* y *Encyclia cordigera*, a fin de determinar la concentración que genere mayor crecimiento para cada especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Propagación Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México; durante los meses de marzo a diciembre del 2024. Se usaron plántulas de *Laelia autumnalis* y *Encyclia cordigera*, con 1.5 cm de altura y dos hojas pequeñas, provenientes de germinación asimbiótica *in vitro*, cultivadas durante tres meses en medio MS (1962).

Medio de cultivo

Se usaron las sales del medio de Murashige y Skoog (1962), en concentración de 50% para *L. autumnalis* y al 75% para *E. cordigera*, dado que fueron las concentraciones donde las plántulas de cada especie crecieron más en el experimento de germinación, previamente estudiada. Los medios se suplementaron con 0.5 mg L⁻¹ de tiamina HCl, 100 mg L⁻¹ de mioinositol y tres concentraciones de sacarosa (15, 30 y 45 g L⁻¹), en combinación con carbón activado (0, 1 y 3 g L⁻¹), para promover el crecimiento de las plántulas. El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.7; y se solidificó con agar agar (Hycel[®], 7 g L⁻¹). El medio se dosificó en frascos de 235 mL de capacidad, colocando 30 mL de medio de cultivo por cada frasco; se esterilizó en autoclave vertical durante 18 min a 121 °C y 15 lb de presión. Posteriormente, en cada frasco se colocaron 10 plántulas y se establecieron en el área de incubación, con fotoperiodo de 16 h luz y 8 de oscuridad, 24 ± 1 °C e intensidad luminosa de 32 μMol m⁻² s⁻¹.

Diseño experimental

En cada especie de orquídea se usó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos, considerando a la sacarosa en tres niveles (15, 30 y 45 g L⁻¹) y cantidades de carbón activado (0, 1 y 3 g L⁻¹) en tres niveles, bajo un diseño experimental completamente al azar.

VARIABLES EVALUADAS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los 46 días (*L. autumnalis*) y 81 días (*E. cordigera*) se evaluó la altura de las plantas (mm), desde la base del tallo hasta el ápice de las hojas; longitud de hoja, se midió desde el inicio de la lámina foliar hasta el ápice; longitud de raíces, se midió cada raíz desde la base del tallo hasta el ápice de la raíz y se determinó la longitud promedio, estas tres variables se midieron en mm, con una regla. El número de hojas y número de raíces, se determinaron mediante conteo. El diámetro de protocormo (mm) fue evaluado con Vernier digital (Stanunless Hardened), dado que este órgano es de menor tamaño. Finalmente, la materia seca de la parte aérea y de la raíz (mg) se obtuvo mediante secado en horno (Luzeren, modelo DHG9070A) a 70 °C durante 72 h, y se pesó en una balanza analítica (Ohaus[®], Pioneer PA214).

Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza, en las variables donde hubo efecto de los tratamientos, se efectuó la prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$), con el paquete estadístico SAS v. 9.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) y altamente significativas ($P \leq 0.01$) de los niveles de los factores estudiados para la mayoría de las variables de crecimiento en plántulas de *L. autumnalis* y *E. cordigera*. También se detectó efecto significativo de la interacción de la concentración de sacarosa en combinación con carbón activado en todas las características evaluadas en las dos especies (Cuadro 1).

Crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis*

Las variables morfológicas mostraron la influencia de las concentraciones de sacarosa y carbón activado en el crecimiento de plántulas de *L. autumnalis*. La mayor altura se registró en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 1 g L⁻¹ de carbón activado, estadísticamente igual con las plántulas cultivadas en el medio con 15 y 30 g L⁻¹ de sacarosa con 0 y 3 g L⁻¹ de carbón activado, respectivamente. En general, se observó que, con 15 g L⁻¹ de sacarosa, las plántulas tuvieron menor altura, en comparación con las de los medios que tenían 30 y 45 g L⁻¹ de sacarosa (Cuadro 2). La cantidad de hojas por plántula varió de 4 a 6; el mayor número de hojas se registró en el medio con 30 g L⁻¹ de sacarosa con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado. Al disminuir la concentración de sacarosa a 15 g L⁻¹, el número de hojas disminuyó significativamente. Por el contrario, la longitud de hoja tuvo mejor resultado en el medio con mayor concentración de sacarosa combinada con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado. Al igual que en número de hojas, al reducir la cantidad de fuente de carbono se observó menor longitud, presentando los valores menores con 15 g L⁻¹ del carbohidrato y 3 g L⁻¹ de carbón activado. En términos generales, el crecimiento en número y longitud de hoja fue menor con 15 g L⁻¹ de sacarosa, con poco efecto de la concentración de carbón activado (Cuadro 2).

El número de raíces promedio por plántula varió de 1.4 a 2.4, el mayor número se obtuvo en los medios que contenían 15 y 45 g L⁻¹ de sacarosa con 0 g L⁻¹ de carbón activado. No hubo una tendencia clara del efecto del hidrato de carbono en el número de estos órganos. Por el contrario, el aumento en el carbón activado generó menos raíces por plántula. El crecimiento en longitud de raíz varió de 5.8 a 8.6 mm; los valores mayores se tuvieron con 30 g L⁻¹ de sacarosa combinada con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado, así como en el medio con 45 g L⁻¹ combinada con 1 g L⁻¹ de carbón activado. En los medios que contenían 15 g L⁻¹ de azúcar con o sin carbón activado, la longitud de raíces fue menor. El crecimiento del sistema radical fue mayor con las dos cantidades más elevadas del azúcar y del carbón activado (Cuadro 2).

Fue evidente el efecto positivo del incremento en la concentración del carbohidrato en el diámetro de protocormo, ya que éste fue superior en el medio con 30 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado; aunque fue estadísticamente similar que cuando se usó 45 g L⁻¹ de este azúcar con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado; por el contrario, cuando se disminuyó la concentración a 15 g L⁻¹ de sacarosa sin carbón activado, esta variable presentó el valor más bajo, evidenciando la necesidad del carbohidrato para mayor crecimiento (Cuadro 2).

La materia seca de plántulas varió de 2.69 a 6.57 mg, en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 1 g L⁻¹ de carbón activado fue donde se presentó el valor más alto, en comparación con los demás tratamientos. Por lo que, los medios que tenían una menor concentración de sacarosa con y sin carbón activado, generaron menor peso de esta parte de la plántula; evidentemente, los menores resultados se tuvieron en las plántulas de los medios con 15 g L⁻¹ de sacarosa independientemente de la cantidad de carbón activado (Cuadro 2). De manera similar, la materia seca de las raíces en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa en combinación con 0 y 1 g L⁻¹ de carbón activado se presentaron los valores más altos, sin diferencias estadísticas. Al usar menor cantidad de sacarosa se observó el menor peso seco de raíces (Cuadro 2).

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza de variables de crecimiento en plántulas de *L. autumnalis* y *E. cordigera*, por efecto de la combinación de tres concentraciones de sacarosa y carbón activado, respectivamente

Table 1. Mean squares of the analysis of variance of growth variables in seedlings of *L. autumnalis* and *E. cordigera*, by the effect of the combination of three concentrations of sucrose and activated charcoal, respectively

Fuente de variación	G. L	Altura (mm)	Hojas (Núm.)	Longitud de hoja (mm)	Raíces (Núm.)	Longitud de Raíz (mm)	Diámetro de Protocormo (mm)	Materia seca de parte aérea (mg)	Materia seca de raíz (mg)
<i>L. autumnalis</i>									
Tratamientos	8	51.690**	1.45**	4.50**	0.63**	7.16**	0.51**	13.13**	1.87**
Sacarosa (S)	2	78.432**	4.16**	3.35**	0.24**	16.52**	0.65**	44.26**	4.98**
Carbón activado (c.a.)	2	11.036**	0.01 ns	0.71*	0.68**	6.64**	0.61**	1.04**	0.05 ns
S * c.a.	4	58.645**	0.81**	6.97**	0.79**	2.74**	0.39**	3.61**	1.2**
Error	44	1.304	0.052	0.194	0.018	0.085	0.019	0.070	0.071
R ²		0.88	0.84	0.81	0.87	0.94	0.83	0.97	0.83
C.V. (%)		4.03	4.31	3.62	7.14	4.08	5.52	5.88	13.51
<i>E. cordigera</i>									
Tratamientos	8	20.464**	3.35**	203.01**	22.94**	2.84**	3.35**	509.94**	2118.23**
Sacarosa (S)	2	5.53**	0.12 ns	19.93**	48.24**	0.19*	0.07*	310.29**	5343.91**
Carbón activado (c.a.)	2	70.59**	12.23**	740.91**	38.83**	4.86**	11.41**	1379.85**	2802.88**
S * c.a.	4	2.87**	0.53**	25.61**	2.33**	3.15**	0.95**	174.81**	163.07**
Error	79	0.046	0.061	0.206	0.060	0.025	0.021	0.363	4.946
R ²		0.98	0.87	0.99	0.97	0.92	0.94	0.99	0.98
C.V. (%)		5.66	4.72	2.95	4.50	6.90	5.78	4.28	8.14

G.L.: grados de libertad, C.V: coeficiente de variación, R²: coeficiente de determinación, **: Efecto altamente significativo ($P \leq 0.01$), *: Efecto significativo ($P \leq 0.05$), ns: Efecto no significativo.

G.L.: degrees of freedom, C. V: coefficient of variation, R²: coefficient of determination, **: Highly significant effect ($P \leq 0.01$), *: Significant effect ($P \leq 0.05$), ns: Not significant effect.

Cuadro 2. Efecto de tres concentraciones de sacarosa y carbón activado, sobre variables de crecimiento en plántulas de *L. autumnalis*

Table 2. Effect of three concentrations of sucrose and activated charcoal on growth variables of *L. autumnalis* seedlings

Sacarosa (g L ⁻¹)	Carbón activado (g L ⁻¹)	Altura (mm)	Hojas (Núm.)	Longitud de hoja (mm)	Raíces (Núm.)	Longitud de raíz (mm)	Diámetro de protocormo (mm)	Materia seca de parte aérea (mg)	Materia seca de raíz (mg)
15	0	30.04 abc	4.97 efg	12.96 ab	2.20 ab	5.81 d	2.08 d	2.81 d	1.74 cde
15	1	25.57 e	4.73 fg	11.43 ef	2.07 bc	5.81 d	2.57 bc	3.14 d	1.71 cde
15	3	22.33 f	4.63 g	10.67 f	1.43 e	6.44 c	2.40 c	2.69 d	1.33 e
30	0	28.23 cd	5.30 cde	12.40 bcd	1.57 e	6.38 c	2.54 c	4.21 c	1.27 e
30	1	29.68 bc	5.80 ab	11.65 cde	1.64 de	8.11 a	2.12 d	3.81 c	1.69 de
30	3	30.53 ab	6.13 a	12.48 bc	1.97 bc	8.50 a	2.90 a	5.83 b	2.25 bc
45	0	27.47 de	5.60 bc	11.56 de	2.40 a	7.11 b	2.53 bc	5.77 b	2.88 a
45	1	31.97 a	5.43 bcd	13.44 a	1.87 cd	8.63 a	2.78 ab	6.57 a	2.65 ab
45	3	29.77 bc	5.10 def	12.62 ab	1.60 e	7.47 b	2.87 a	5.70 b	2.18 bcd
DMSH ($P \leq 0.05$)		2.17	0.43	0.84	0.25	0.55	0.27	0.51	0.51

DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Medias seguidas de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH: Minimum Significant Honest Difference. Means followed with the same letter in each column are statistically equal (Tukey, $P \leq 0.05$).

En este estudio, se encontró que 45 g L⁻¹ de sacarosa fue apropiado para altura, largo de hoja y de raíces, así como para diámetro de protocormo, indicando que el crecimiento ocurre en mayor grado cuando se dispone de más fuente de carbono asimilable para los tejidos. La sacarosa es el principal proveedor de energía de carbono y participa en la regulación del proceso de desarrollo (Huh *et al.*, 2016). Al respecto, Sasamori *et al.* (2015) observaron que en *Cattleya intermedia* la altura de la parte aérea, número de hojas por planta, materia fresca, número de raíces por planta y longitud de la raíz, mostraron mayor desarrollo cuando las plantas estuvieron cultivadas en medio MS al 50 % con 45 a 60 g L⁻¹ de sacarosa. De manera similar, Endres *et al.* (2014) evaluaron 10, 30 y 60 g L⁻¹ de sacarosa, adicionando 10 g L⁻¹ de carbón activado en plántulas de *Anathallis adenochila* y reportaron que la altura de la parte aérea y longitud de raíces fueron mayores en los medios con 30 o 60 g L⁻¹ de sacarosa.

Zahara *et al.* (2017) reportaron que el medio MS al 50 % con 20 g L⁻¹ de sacarosa, fue óptima para mejorar la altura, número, ancho y longitud de hojas, longitud de raíces, peso fresco y seco de plántulas de *Phalaenopsis*, lo que indica que los requerimientos de carbono para el crecimiento de *L. autumnalis* estudiada en esta investigación son diferentes a las orquídeas *Phalaenopsis*. También, De Melo Ferreira *et al.* (2017) evaluaron el efecto de la sacarosa y otros factores sobre la multiplicación y crecimiento de plántulas de 120 días de edad de *Alatiglossum fuscopetalum*, y reportaron la mayor formación de brotes, longitud de raíces y materia seca de raíces con 30 g L⁻¹ de sacarosa, evidenciando que la necesidad de carbohidratos varía según la especie.

En general, la sacarosa se emplea principalmente en el cultivo de tejidos vegetales porque tiene alta solubilidad en agua y puede atravesar fácilmente la membrana plasmática (Baskaran & Jayabalan, 2005; Javed & Ikram, 2008). La sacarosa en los medios de cultivo *in vitro* aporta una fuente de carbono, ya que los explantes no son capaces de realizar la fotosíntesis suficiente para sustentarse por sí mismos. Ésta tiene funciones celulares importantes, como producción de energía mediante la respiración, regulación de la estabilidad de la membrana y soportar el proceso de formación de nuevas células en las plantas (Heriansyah, 2019; Karimah *et al.*, 2022). Por lo tanto, es indispensable para las plántulas cultivadas *in vitro* debido a la reducida capacidad fotosintética que presentan por la dificultad para obtener carbono de la atmósfera. Por lo que, es crucial proporcionar una fuente exógena de carbono para su crecimiento. Sin embargo, es importante usarla en las concentraciones adecuadas, puesto que, dosis excesivas pueden causar estrés osmótico (Reyes-Díaz *et al.*, 2018). Tanto las dosis altas o bajas pueden tener efectos negativos, ocasionando crecimiento deficiente (Zahara *et al.*, 2017). Los resultados mostraron que la adición de carbón activado al medio de cultivo favoreció el crecimiento de materia seca de la parte aérea de plántula, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Lima *et al.* (2024), quienes señalan que en plántulas de *Cyrtopodium cardiochilum*, la curva dosis-respuesta indicó que las concentraciones de 3.0 g L⁻¹ de carbón activado y 33 g L⁻¹ de sacarosa produjeron la mayor cantidad de materia seca en callos y plántulas. El carbón activado favorece los procesos de crecimiento en las orquídeas (Pedroza-Manrique, 2009), porque mejora el crecimiento y la supervivencia de las plantas *in vitro*, dado que disminuye los compuestos fenólicos, además de tener alta afinidad de adsorción por los compuestos inhibidores y sustancias morfo genéticamente activas o tóxicas no identificadas (Hossain *et al.*, 2021).

Crecimiento de plántulas de *Encyclia cordigera*

Los resultados mostraron que las concentraciones de sacarosa y carbón activado afectaron significativamente el crecimiento de plántulas de *E. cordigera*. La mayor altura se obtuvo en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado, 34 a 70% más altura que con 15 g L⁻¹ de sacarosa. La altura fue mayor conforme se incrementó la cantidad del carbohidrato en el medio. Lo mismo ocurrió con la concentración de carbón activado, de tal modo que las plantas de menor altura fueron las cultivadas sin carbón activado y 15 g L⁻¹ de hidratos de carbono (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de tres concentraciones de sacarosa y carbón activado sobre variables de crecimiento en plántulas de *E. cordigera***Table 3.** Effect of three concentrations of sucrose and activated charcoal on growth variables of *E. cordigera* seedlings

Sacarosa (g L ⁻¹)	Carbón activado (g L ⁻¹)	Altura (mm)	Hojas (Núm.)	Longitud de hoja (mm)	Raíces (Núm.)	Longitud de raíz (mm)	Diámetro de protocormo (mm)	Materia seca parte aérea (mg)	Materia seca de raíz (mg)
15	0	1.87 f	4.46 d	9.05 f	3.20 f	1.13 g	1.81 de	4.80 h	5.56 f
15	1	4.02 d	5.96 a	16.09 d	4.42 e	2.95 a	2.87 b	12.63 e	19.51 e
15	3	4.37 c	5.56 bc	18.77 b	4.78 d	2.76 ab	2.89 b	14.75 d	20.45 e
30	0	2.40 e	4.66 d	11.19 e	4.56 de	1.88 f	1.95 d	7.93 f	17.35 e
30	1	4.60 bc	5.52 bc	18.39 b	6.04 c	2.54 bc	3.20 a	19.69 b	28.39 cd
30	3	4.48 bc	5.42 c	17.50 c	6.22 c	2.29 de	2.61 c	16.14 c	29.43 c
45	0	1.98 f	4.42 d	9.20 f	4.76 de	2.50 cd	1.71 e	6.81 g	25.69 d
45	1	4.73 b	5.48 bc	17.56 c	7.20 b	2.26 e	2.57 c	16.50 c	46.15 b
45	3	6.06 a	5.78 a	21.54 a	8.02 a	2.40 cde	3.21 a	27.78 a	52.92 a
DMSH ($P \leq 0.05$)		0.31	0.36	0.66	0.36	0.23	0.21	0.87	3.21

DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Medias seguidas de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH: Minimum Significant Honest Difference. Means followed with the same letter in each column are statistically equal (Tukey, $P \leq 0.05$).

El promedio en número de hojas varió de 4.4 a 5.9, la mayor cantidad se obtuvo en los medios con 15 y 45 g L⁻¹ de sacarosa, con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ambos medios de cultivo. Mientras que, la mayor longitud de estos órganos se observó en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado. Fue evidente que hubo mayor crecimiento al aumentar la cantidad de azúcar y de carbón activado, ya que las hojas más pequeñas fueron las del medio de cultivo con 15 g L⁻¹ de sacarosa, sin carbón activado (Cuadro 3). El promedio de número de raíces por plántula varió de 3.2 a 8.0, la mayor cantidad se obtuvo en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado. La cantidad de estos órganos fue mayor al aumentar el carbohidrato y carbón activado en el medio de cultivo, indicando el efecto benéfico de ambos componentes, razón por la que las plantas con menos raíces fueron las del medio con 15 g L⁻¹ de azúcar sin carbón activado. Con relación a la longitud de raíz, esta varió de 1.13 a 2.95 cm; los valores más altos se registraron en las plantas cultivadas con 15 g L⁻¹ de sacarosa combinada con 1 y 3 g L⁻¹ de carbón activado. En tanto que, en el medio con 15 g L⁻¹ de sacarosa sin carbón activado se observó el menor tamaño (Cuadro 3).

El crecimiento de los protocormos varió de 1.71 a 3.2 mm de diámetro, los de mayor diámetro fueron los de las plantas cultivadas con mayor concentración de sacarosa combinadas con 1 g L⁻¹ de carbón activado. En los medios sin carbón activado las plantas presentaron el menor crecimiento en el diámetro de este tallo (Cuadro 3).

La materia seca de las plántulas tuvo la variación más alta, de 4.8 a 27.7 mg. Las plantas que acumularon la mayor cantidad fueron las que estuvieron en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado, superiores a las de los otros ocho medios. Por el contrario, los medios sin carbón activado, independientemente de la cantidad de sacarosa, generaron menor peso de la parte aérea de la plántula (Cuadro 3). La acumulación de materia seca se incrementó conforme aumentó el azúcar en el medio de cultivo; en el caso del carbón activado ocurrió algo similar. También la materia seca de raíces fue mayor en las plantas cultivadas en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado y las de menor peso fueron las del medio con 15 g L⁻¹ de glúcido y sin carbón activado. La tendencia observada fue que la materia seca de estos órganos aumentó al incrementar la concentración de los dos componentes del medio de cultivo evaluados (Cuadro 3).

Los resultados mostraron que 45 g L⁻¹ de sacarosa favoreció el crecimiento de plántulas de *E. cordigera*. Al respecto, Sasamori *et al.* (2015) observaron que en plantas de *Cattleya intermedia*,

la altura de la parte aérea, número de hojas por planta, materia fresca, raíces por planta y longitud de la raíz, tuvieron mayor desarrollo cuando las plantas se cultivaron en medio MS al 50 % con 45 a 60 g L⁻¹ de sacarosa. De manera similar, Endres *et al.* (2014) evaluaron 10, 30 y 60 g L⁻¹ de sacarosa, adicionando 10 g L⁻¹ de carbón activado en plántulas de *Anathallis adenochila* y reportaron que la altura de la parte aérea y longitud de raíces fueron mayores en los medios con 30 o 60 g de sacarosa.

Los resultados anteriores muestran que altas concentraciones de carbohidratos ejercen un efecto positivo en el crecimiento de plántulas de orquídeas. También Rittirat *et al.* (2012) informaron que después de 5 meses de cultivo en medio New Dogaschima, suplementado con 40 g L⁻¹ de sacarosa y 2 g L⁻¹ de carbón activado se tuvieron los mejores resultados en peso fresco, altura de plántula, longitud de hoja, ancho de hoja, número de raíces y longitud de raíces, en plántulas de *Phalaenopsis*. Los resultados anteriores coinciden con los obtenidos en la presente investigación para *E. cordigera*, en la que los valores más altos para la mayoría de las variables se tuvieron en el medio que contenía 45 g L⁻¹ de sacarosa.

El crecimiento de las plantas de orquídeas varía también en función de la parte de la planta (hojas, raíces, tallos/protocormos o brotes) que se evalúa; Rohmah y Taratima (2021), usaron protocormos de *Cymbidium aloifolium* y evaluaron diferentes concentraciones de sacarosa y reportaron que el mayor número de hojas se obtuvo con 20 g L⁻¹, en tanto que, el número de brotes fue mayor con 25 g L⁻¹ y la longitud de los brotes fue mayor con 35 g L⁻¹ de sacarosa. Lo anterior muestra que el crecimiento de las plantas varía en función de la concentración de sacarosa y de la característica de la orquídea que evalúa. La sacarosa es el producto final de la fotosíntesis y el principal azúcar transportado en el floema, en la mayoría de las plantas; en los tejidos no fotosintéticos, la sacarosa transportada es la materia prima para muchos procesos metabólicos (Stein & Granot, 2019). Los resultados de este estudio mostraron que las concentraciones de sacarosa más altas incrementaron el crecimiento de plantas de ambas especies de orquídeas; dado que los azúcares son sustratos metabólicos que participan en la modulación de varios procesos en las plantas durante diferentes fases del desarrollo (Siddiqui *et al.*, 2020); en esta investigación, los esqueletos de carbono probablemente se usaron para producción de materia orgánica como aminoácidos, nucleótidos, carbohidratos estructurales y energía (Stein & Granot, 2019), para los procesos metabólicos necesarios para el crecimiento.

El efecto del carbón activado fue estudiado por Koene *et al.* (2019) quienes utilizaron medio WPM y MS50% y diferentes concentraciones de carbón activado o sacarosa en plántulas de *Acianthera prolifera* y reportaron que los explantes cultivados con carbón activado presentaron mejores resultados que aquellos cultivados en medio sin este componente; no hubo diferencias por efecto de la concentración de carbón activado; sin embargo, recomiendan 1 g de carbón activado para reducir costos. También reportaron que el medio WPM con 60 g L⁻¹ de sacarosa generó las raíces más largas, mayor longitud de brotes y mayor masa fresca, en tanto que, en el medio MS50% con 15 g L⁻¹ de sacarosa hubo mayor longitud de raíces y masa fresca, estos resultados coinciden con lo obtenido en la longitud de raíces en plántulas de *E. cordigera*, ya que presentaron mayor longitud de órgano con 15 g L⁻¹ de sacarosa.

Los resultados que se obtuvieron en esta investigación, mostraron que la adición de carbón activado en el medio de cultivo favoreció el crecimiento y desarrollo de las plántulas de ambas especies de orquídea. El carbón activado en el medio de cultivo puede promover o inhibir el crecimiento *in vitro*, según la especie y el tejido utilizados. Los efectos promotores del carbón activado sobre la morfogénesis pueden deberse principalmente a la adsorción irreversible de compuestos inhibidores en el medio de cultivo y a la disminución sustancial de metabolitos tóxicos y exudados fenólicos. Así como la liberación de sustancias presentes de forma natural en el carbón activado, que promueven el crecimiento, la alteración y el oscurecimiento de los medios de cultivo, la adsorción de vitaminas, reguladores del crecimiento como el ácido abscísico y el etileno (Thomas, 2008; Morales-Rubio *et al.*, 2016), producidos por los tejidos *in vitro*; así como la sacarosa y mio-inositol (Morales-Rubio *et al.*, 2016), agregados al medio de cultivo.

Se estudio el crecimiento de las plantas de las dos especies, en la etapa previa a la aclimatación; por lo que, es importante señalar que la materia seca acumulada tanto en la parte aérea como en las raíces fueron las características más importantes para definir la combinación de sacarosa y carbón activado que generan mayor crecimiento en cada especie.

CONCLUSIONES

Se concluye que el crecimiento de plántulas de *L. autumnalis*, presentaron los mejores resultados en el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 1 g L⁻¹ de carbón activado, no hubo tendencia clara al aumentar el crecimiento por efecto del incremento de sacarosa y carbón activado. Sin embargo, en plántulas de *E. cordigera* el medio con 45 g L⁻¹ de sacarosa y 3 g L⁻¹ de carbón activado presentó los mejores resultados para el crecimiento; al aumentar la concentración de ambos componentes del medio de cultivo, hubo mayor crecimiento. El efecto de la combinación de sacarosa con carbón activado fue positivo, dado que este último adsorbe impurezas de la sacarosa como pigmentos y proteínas, dando lugar a una sacarosa más pura y de mejor calidad. Los medios que generaron menor desarrollo de plántulas de *L. autumnalis* y *E. cordigera* fueron aquellos que carecieron de carbón activado.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo de beca para estudios de posgrado al primer autor (1318207).

LITERATURA CITADA

- Al-Khateeb, A. A. (2008). Regulation of *in vitro* bud formation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khanezi by different carbon sources. *Bioresource Technology*, 99(14), 6550-6555. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.070>
- Baltazar-Bernal, O., De la Cruz-Martínez, V. M., Ramírez-Mosqueda, M. A., & Zavala-Ruiz, J. (2022). *In vitro* seed germination and acclimatization of *Encyclia cordigera* (Kunth) Dressler. *South African Journal of Botany*, 151, 578-582. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.10.031>
- Baskaran, P., & Jayabalan, N. (2005). Role of basal media, carbon sources and growth regulators in micropropagation of *Eclipta alba* – a valuable medicinal herb. *Cuerrent Applied Science and Technology*, 5(2), 469-482. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.10.031>
- Biswas, S. S., Singh, D. R., De, L. C., Kalaivanan, N. S., Pal, R., & Janakiram, T. (2021). A comprehensive scenario of orchid nutrition—a review. *Journal of Plant Nutrition*, 44(6), 905-917. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1871758>
- Cid, L. P. B. & Teixeira, J. B. (2014). *Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. Cultivo in vitro de plantas 3 a edição ampliada. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.* www.embrapa.br/fale-conosco/sac
- CITES. (2025). Apéndices I, II y III: válidos desde el 7 de febrero de 2025. Disponible en: <https://cites.org/sites/default/files/eng/app/2025/E-Appendices-2025-02-07.pdf> (consultado el 30 de septiembre de 2025).
- Corbellini, J. R., Ribas, L. L. F., de Maia, F. R., Corrêa, D. de O., Nosedá, M. D., Suzuki, R. M., & Amano, É. (2020). Effect of microalgae *Messastrum gracile* and *Chlorella vulgaris* on the *in vitro* propagation of orchid *Cattleya labiata*. *Journal of Applied Phycology*, 32(6), 4013-4027. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02251-9>
- De Melo Ferreira, W., De Vasconcelos, M. C., Silva, C. C. N., De Oliveira, H. R., & Suzuki, R. M. (2017). Asymbiotic germination, multiplication and development of *Alatiglossum*

- fuscopetalum* (Orchidaceae) as affected by culture medium, sucrose and growth regulators. *Iheringia - Serie Botánica*, 72(1), 57-65. <https://doi.org/10.21826/2446-8231201772106>
- DOF. (2019). Diario Oficial de la Federación. Modificación del anexo normativo III, lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-Especies nativas de México de la flora y fauna silvestre-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo, publicada.
- Endres Júnior, D., Sasamori, M. H., & Droste, A. (2014). *In vitro* propagation of *Anathallis adenochila* (Loefgr.) F. Barros (Orchidaceae), a species endemic to southern and southeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 28(4), 489-494. <https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb3158>
- Guson, R. R., De Moraes, C. P., & Ronconi, C. C. (2012). Influência de diferentes concentrações de carvão ativado no crescimento e enraizamento *in vitro* de *Cattleya pumila* Hook. *Revista Em Agronegocio e Meio Ambiente*, 5(3), 551-563.
- Hagsater, E. & Salazar, G. A. (1990). Icones Orchidacearum. *Fascicle I. Orchids of Mexico Part, I*.
- Halbinger, F. & Soto, M. (1997). Laelias of Mexico. Herbario AMO, *Orquídea* (México, DF), 15-160.
- Heriansyah, P. (2019). Multiplikasi embrio somatis tanaman anggrek (*Dendrobium* sp) dengan pemberian kinetin dan sukrosa secara *in-vitro*. *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 15(2), 67-78. <https://doi.org/10.31849/jip.v15i2.1974>
- Hernández-Muñoz, S., Pedraza-Santos, M. E., Morales-García, J. L., Guillén-Andrade, H., López, P. A., & Téllez-Velasco, M. A. A. (2013). Phenotypic characterization of Mexican orchid *Laelia autumnalis*. *Acta Horticulturae*, 977, 254-252. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.977.28>
- Hossain, M. M., Kant, R., & Gupta, A. (2021). SERBD Books *In vitro* culture of commercial flowering Plants: Orchids Chapter 4: Micropropagation of Orchids through leaf culture, 31-65. <https://www.researchgate.net/publication/353013532>
- Huh, Y. S., Lee, J. K., Nam, S. Y., Hong, E. Y., Paek, K. Y., & Son, S. W. (2016). Effects of altering medium strength and sucrose concentration on *in vitro* germination and seedling growth of *Cypripedium macranthos* Sw. *Journal of Plant Biotechnology*, 43(1), 132-137. <https://doi.org/10.5010/JPB.2016.43.1.132>
- Javed, F., & Ikram, S. (2008). Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspects of two wheat genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4), 1487-1495.
- Karimah, N., Kusmiyati, F., & Anwar, S. (2022). Pengaruh penggunaan sukrosa dan iba terhadap induksi akar eksplan tunas anggrek (*Dendrobium* sp.) secara *in vitro*. *AGROTEK: Jurnal Ilmiah Ilmu Pertanian*, 5(1), 34-44. <https://doi.org/10.33096/agrotek.v5i1.157>
- Koene, F. M., Amano, & Ribas, L. L. F. (2019). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Acianthera prolifera* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, 121, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.019>
- Lima, B. V., Santos, A. F., Inokuti, E. M., Guimarães, C. M., Silva, R. V. da, Brito, I. B., & Barreto, R. W. (2024). Cultivo seminífero *in vitro* de *Cyrtopodium cardiochilum*: influência de concentrações de carvão ativado, sacarose e sais do meio Suprimento (S). *Caderno Pedagógico*, 21(5), e4050. <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n5-105>
- Lunn, J. E., Delorge, I., Figueroa, C. M., Van Dijck, P., & Stitt, M. (2014). Trehalose metabolism in plants. *Plant Journal*, 79(4), 544-567. <https://doi.org/10.1111/tpj.12509>
- Mercado, S. A. S., & Jaimes, Y. M. O. (2022). Inclusion of organic components in culture medium to improve the *in vitro* propagation of *Cattleya warscewiczii* and *Cattleya gaskelliana*. *South African Journal of Botany*, 148, 352-359. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.002>
- Mora-Cruz, Y., López-Peralta, M. C. G., Hernández-Meneses, E., & Cruz-Huerta, N. (2023). Regeneración *in vitro* de plantas de *Prosthechea vitellina* (Lindley) W. E. Higgings por

- organogenesis directa. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 46(1), 33-40. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.1.33>
- Morales-Rubio, M. E., Espinosa-Leal, C., & Garza-Padrón, R. A. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. *Investigación en plantas de importancia médica*, 351-410. <https://doi.org/10.3926/oms.315>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Paiva Neto, V. B. de, Campos, G. de O., Boaretto, A. G., Zuffo, M. C. R., Torrezan, M. de A., & Benetão, J. (2013). *In vitro* behaviour of *Aspasia variegata*, an epiphytic orchid from the Brazilian Cerrado. *Ciência Rural*, 43(12), 2178-2184. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782013001200010>
- Pedroza, J. A. (2009). Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 17-32.
- Ramírez, M., Niño, S., & Berrio, T. (2016). Anatomía de la raíz de *Encyclia cordigera* (Kunth) Dressler (Orchidaceae). *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, 34, 58-61.
- Reyes-Díaz, J. I., Arzate-Fernández, A. M., & Piña-Escutia, J. L. (2018). Fuentes de sacarosa y nitrógeno orgánico influyen en la embriogénesis somática de *Agave angustifolia*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(7), 1508-1513. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.1676>
- Rittirat, S., Thammasiri, K., & Te-chato, S. (2012). Effect of media and sucrose concentrations with or without activated charcoal on the plantlet growth of *P. cornu-cervi* (Breda) Blume & Rehb.f. *Journal of Agricultural Technology*, 8(6), 2077-2087.
- Rohmah, K. N., & Taratima, W. (2021). Effective protocol for rapid and mass micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. protocorms using different carbohydrate and plant growth regulator. In *Research Article Science Technology and Engineering Journal* 7(2), 35-46.
- Salazar, M. S. A., Amaya N. A. Z., & Barrientos R. F. (2013). Evaluación de diferentes medios de cultivo *in vitro* en el desarrollo de híbridos de *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(2), 97-105. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41268>
- Sasamori, M. H., Endres Júnior, D., & Droste, A. (2015). Asymbiotic culture of *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae): The influence of macronutrient salts and sucrose concentrations on survival and development of plantlets. *Acta Botanica Brasílica*, 29(3), 292-298. <https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb0054>
- Sedano, G., Manzo, A., Roldán, R., & Castellanos, A. (2015). Propagación *in vitro* de orquídeas y otras ornamentales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 451-456.
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015). Plantas de probeta: Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. Universidad Nacional de la Plata. Editorial de la Universidad de la plata. 240 p.
- Siddiqui, H., Sami, F., & Hayat, S. (2020). Glucose: Sweet or bitter effects in plants-a review on current and future perspective. *Carbohydrate Research*, 487, 107884. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107884>
- Sipayung, P., Matanari, J., Lafau, M. B., Sulastri, Y. S., Ginting, B. B., Sihombing, D. R., Pandiangan, M., & Giawa, T. (2018). The effect of activated charcoal dose and benzyl amino purine concentration on the growth of orchid plantlets in murashige and skoog media *in vitro*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 205(1), 012025. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/205/1/012025>
- Stein, O., & Granot, D. (2019). An overview of sucrose synthases in plants. *Frontiers in Plant Science*, 10(95), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00095>
- Thomas, T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26(6), 618-631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>

Recibido:
14/mayo/2025

Aceptado:
28/noviembre/2025

- Zahara, M., Datta, A., Boonkorkaew, P., & Mishra, A. (2017). The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis hybrid* "pink." *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, 1-5. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160149>
- Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., & Hu, H. (2018). Physiological diversity of orchids. In *Plant Diversity*, 40(4), 196-208. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003>