






## Somatic embryogenesis in fertilized ovules of *Heliconia champneiana* Griggs in different culture media and light conditions

## Embriogénesis somática en óvulos fecundados de *Heliconia champneiana* Griggs en diferentes medios de cultivo y condiciones de luz

Simitrio Ortiz-Curiel<sup>1\*</sup> , Leobardo Iracheta-Donjuan<sup>2</sup> , Alejandra Caravantes-Pérez<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Melchor Ocampo No. 7. Santo Domingo Barrio Bajo, Etlá, 68200, Oaxaca, Mexico.

<sup>2</sup>Campo Experimental Rosario Izapa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Carretera Tapachula-Cacahoatán, 30870, Tuxtla Chico, Chiapas.

<sup>3</sup>Colegio de Posgraduados Campus Puebla, Blvd. Forjadores de Puebla, Santiago Momoxpan, 72760, Puebla, Mexico.

\* Corresponding author

Email address: [ortiz.simitrio@inifap.gob.mx](mailto:ortiz.simitrio@inifap.gob.mx) (S. Ortiz- Curiel)

Article history:

Received: 17 January 2026 / Received in revised form: 15 April 2026 / Accepted: 27 May 2026 / Published online: 10 June 2026.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2026.11.2.48-63>

### ABSTRACT

In order to produce new varieties of *Heliconia*, that stand out for their inflorescence appeal, use genetic improvement techniques such as the recovery of embryos in early stages or fertilized embryos used from intra- and inter-species crossing are required. The main goal of this research was to induce embryogenesis in *Heliconia champneiana* fertilized ovules after six days of pollination. Therefore, the process of planting ovules into semi-solid culture media enriched with amino acids and casein was conducted, and the variables assessed in terms of percentage were contamination, oxidation, reactivity, ovule size, callus induction, embryos proliferation, and seedling height and number. In conditions of luminescence and culture media enriched with amino acids and hydrolyzed casein, embryos proliferation was noticeable after 56 days. This type of morphogenic response was determined by the

composition of the culture media. By day 245, the seed-to-seedling transition occurred in culture media containing activated carbon allowing full-grown seedlings that were later moved to room temperature.

**Key words:** amino acids, activated charcoal, hydrolyzed casein.

## RESUMEN

Generar nuevas variedades de *Heliconia* que destaquen por el atractivo visual de su inflorescencia requiere de la aplicación de técnicas de mejoramiento genético como el rescate de embriones en fases tempranas u óvulos fecundados, los cuales pueden derivarse de cruzamientos intra o interespecíficos. El presente trabajo tuvo el objetivo de inducir la embriogénesis en *Heliconia champneiana* Griggs a partir de óvulos fecundados con seis días posteriores a la polinización. Se realizó el establecimiento de óvulos en medios de cultivo semisólidos complementados con aminoácidos y caseína hidrolizada a los cuales se les evaluaron las variables porcentaje de contaminación, oxidación, reactividad, tamaño de óvulo, formación de callo, formación de embriones, número de plántulas y altura de plántula. Después de 56 días, se observó la formación de embriones en condiciones de 12 h de fotoperiodo y en medios de cultivo adicionados con aminoácidos y caseína hidrolizada. El tipo de respuesta morfogénica estuvo en función de la composición del medio de cultivo. A los 245 días ocurrió la conversión a plántulas en medio de cultivo adicionado con carbón activado y se obtuvieron plantas completas que finalmente se aclimataron a condición *ex vitro*.

**Palabras clave:** aminoácidos, carbón activado, caseína hidrolizada.

## 1. Introducción

La aptitud ornamental del género *Heliconia* es determinada por las características de su inflorescencia; cualidades relacionadas con la diversidad de colores, formas, disposición y tamaño de sus brácteas. En ecosistemas tropicales estas flores desempeñan un rol crucial al interactuar con aves polinizadoras, especialmente colibríes (Méndez-Rojas *et al.*, 2024). En el contexto de uso ornamental, la baja tasa de reproducción por semilla, la susceptibilidad a enfermedades del suelo, así como las barreras fenológicas y fisiológicas, hacen que el mejoramiento genético y su propagación comercial, en grandes cantidades y con alta uniformidad genética, sean complicados (Malakar *et al.*, 2022). El mejoramiento genético de heliconias comúnmente se ha realizado mediante la selección del fenotipo, en el cual la influencia del ambiente puede afectar la expresión genética de las plantas (Marulanda *et al.*, 2018). En consecuencia, a través de caracterizaciones morfológicas en heliconias se ha comprobado variabilidad natural en poblaciones silvestres con potencial ornamental (Rocha *et al.*, 2010; Da Silva *et al.*, 2017) así como en cultivares e híbridos mediante estudios moleculares en el ADN nuclear y en cloroplastos (Ramos-Guimarães *et al.*, 2012). Esta alta variabilidad detectada en poblaciones permite orientar la elección de los métodos de mejoramiento más adecuados (Cruz *et al.*, 2012). Uno de los métodos para generar nuevas

variantes en heliconias es el uso de cruzamientos interespecíficos, donde la distancia genética y diversidad de características entre progenitores asegura una buena tasa de segregantes e incrementa la posibilidad de encontrar individuos sobresalientes para el carácter de interés (Jongkind y Jongkind, 2015). Sin embargo, las barreras de incompatibilidad poscigóticas, entre algunos progenitores son frecuentes, lo que provoca que dichos cruzamientos dirigidos no lleguen a buen término. Por ello, resulta de especial interés desarrollar metodologías biotecnológicas que permitan obtener nuevas variedades con potencial ornamental. Una opción para llevar a término el crecimiento de embriones provenientes de cruzamientos intra o interespecíficos es mediante el rescate y cultivo *in vitro* de óvulos fecundados (Malakar *et al.*, 2022). El cultivo de tejidos es una herramienta que permite controlar condiciones favorables para lograr el desarrollo a término de óvulos fecundados, al modificar los componentes del medio de cultivo y administrar los nutrientes necesarios para el desarrollo de nuevas estructuras (Hernández *et al.*, 2013). Si bien el método más ampliamente utilizado para la inducción de la organogénesis *in vitro* en heliconias es mediante el uso de yemas laterales o ápices, esta ruta morfogénica resulta complicada al utilizar óvulos, los cuales ya tienen una competencia y determinación celular preestablecida. Por lo que, la inducción de la embriogénesis somática sería el método más adecuado para la regeneración en óvulos, toda vez que se reporta dicho método, tanto para la formación de callos embriogénicos a partir de capas finas de explantes de secciones transversales de la base de pseudotallos de vitroplantas (Hernández-Meneses *et al.*, 2022), así como la inducción de callo incipiente en secciones de ovarios de heliconias (Ulisses *et al.*, 2007). Además, la embriogénesis somática no solo ofrece una regeneración masiva y clonal mediante la formación de nuevas estructuras embrionarias a partir de pocos explantes; sino también, permite la aplicación de métodos de transformación genética, hibridación somática, así como el aprovechamiento de la variación somaclonal o la inducción y selección de mutantes (Atehortúa y Valencia, 2002; Naranjo *et al.*, 2002; Ulisses *et al.*, 2007; Hernández-Meneses *et al.*, 2022). La inducción de la embriogénesis somática está influenciada por el tipo de explante, así como por los componentes del medio de cultivo. En este sentido, la caseína hidrolizada y algunos aminoácidos se adicionan a los medios de cultivo como fuente de nitrógeno para promover la inducción de embriones (Castellanos *et al.*, 2011). En este contexto, la caseína hidrolizada ha sido descrita como un componente orgánico complejo que estimula la embriogénesis somática en diversas especies (Al-Khayri, 2011; Daniel *et al.*, 2018), al aumentar la disponibilidad de nitrógeno reducido y aportar calcio, fósforo, microelementos, vitaminas y más de 18 aminoácidos. En conjunto, estos compuestos fortalecen la biosíntesis de proteínas estructurales, nucleótidos y otros reguladores del crecimiento, promoviendo así una mayor competencia y determinación celular que favorece la inducción, proliferación y maduración de embriones somáticos (Daniel *et al.*, 2018). Otro factor importante para inducir la morfogénesis *in vitro* es la presencia o ausencia de luz y la cantidad de luz proporcionada al explante; lo anterior lo reportaron Naranjo *et al.* (2002) en la inducción de embriones somáticos de *Psychotria ipecacuana* en condición de 16 h luz. Por su parte, Dhanya and Sheela (2008), en óvulos de *Heliconia psittacorum* (fecundados *in vitro*), reportaron que con fotoperiodo de 12 h (3000 lux) el 88 % de los óvulos presentó un mejor desarrollo, frente al 15 % de los incubados en oscuridad. En ese sentido, no existen reportes de la conversión de embriones somáticos a plántulas ni información documentada sobre inducción de la embriogénesis somática a partir de óvulos fecundados de heliconia, que, de lograrse, podría replicarse en el rescate de óvulos de cruzamientos intraespecíficos contrastantes, inclusive interespecíficos. Lo anterior podría convertirse en una herramienta no

solo para el rescate de embriones en fases tempranas, sino también para la multiplicación, optimizando así el producto de los complejos procedimientos de hibridación dirigida. El objetivo del presente trabajo fue inducir la embriogénesis *in vitro* en óvulos de *H. champneiana* Griggs con seis días de fecundación, sembrados en diferentes medios de cultivo y condiciones de luz.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Material vegetal y explante

Se seleccionó *Heliconia champneiana*, con clave de colecta RIHEUA-RJ-PAL del banco de germoplasma “ornamentales tropicales” (14.972858, -92.155633), que presenta alta producción de frutos y semillas de manera natural, lo que garantizó la obtención de óvulos suficientes en el mismo estado de desarrollo para establecer el experimento. Se seleccionaron flores en anthesis, las cuales se caracterizan por su posición vertical, con uno de sus tépalos abiertos y sus anteras liberando polen (Fig. 1a). A cada ovario se le colocó un alambre recubierto de plástico para identificarlo y después de seis días colectaron con pedúnculo (Fig. 1b) y fueron trasladados al Laboratorio de Biotecnología perteneciente al Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CERI-INIFAP). Es importante precisar que, cuando no ocurre una adecuada fecundación, los ovarios muestran indicios de abscisión entre el séptimo y el décimo día con cambio de color amarillo a azul en la unión del ovario y el pedúnculo (Fig. 1b); además, en este momento, en el interior, es posible diferenciar por tamaño los óvulos fecundados de los no fecundados (observación personal en campo, datos no publicados).

En condición de laboratorio, los ovarios se lavaron con agua de grifo y detergente líquido, compuesto principalmente por alquil sulfato de sodio, óxido de amina y alquil etoxisulfato de sodio, para eliminar contaminantes de la superficie. Posteriormente, en campana de flujo laminar, se utilizó el protocolo de desinfección para frutos maduros de heliconia citado por Ortiz-Curiel *et al.* (2018). Posterior al proceso de desinfección, los ovarios se colocaron sobre papel filtro en cajas de Petri para eliminar el exceso de humedad. Se realizaron cortes transversales en las zonas apical y basal de los ovarios, seguidos de un corte longitudinal a través de sus tres lóculos para exponer los rudimentos seminales (óvulos). Debido a que los óvulos son de 1 a 3 mm de longitud, aproximadamente, se extrajeron los de 3 mm por considerarse de mayor desarrollo producto de la fecundación, con cigotos en etapa proembrionaria temprana (Fig. 1c); en ese sentido, se descartaron los más pequeños, que, además, se diferenciaban de su forma globular (Fig. 1d). Los óvulos se extrajeron con parte de la placenta para asegurar que éstos estuvieran completos, sin daño, y la presencia del funículo fue el indicador para todos; posteriormente fueron colocados en el medio de cultivo.

### 2.2. Tratamientos y variables

Se evaluaron seis tratamientos bajo un diseño completamente al azar, donde los factores de estudio fueron: a) dos medios de cultivo gelificados con 3 mg/L de Gelzan y ajustados a 5.8 de pH; ambos fueron dispensados a razón de 10 mL por tubo de ensayo y

posteriormente esterilizados por 20 min a 121 °C y, b) tres condiciones de luz led blanca (oscuridad, 12 h con luz y 24 h con luz), con intensidad lumínica de 30  $\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ .

Los tratamientos fueron: sales Murashige y Skoog (1962) adicionadas con 11.09  $\mu\text{M}$  de 6-bencilaminopurina (BAP), 10.74  $\mu\text{M}$  de ácido naftalenacético (ANA), más los aminoácidos 26.64  $\mu\text{M}$  de glicina, 2.73  $\mu\text{M}$  de lisina, 3.04  $\mu\text{M}$  de leucina, 2.29  $\mu\text{M}$  de arginina y 1.95  $\mu\text{M}$  de triptófano; en combinación con oscuridad (T1) MS+Aa/Osc con 12 h luz, (T2) Ms+Aa/12h con 24 h luz, (T3) Ms+Aa/24h con Sales Murashige y Skoog (1962) adicionadas con 11.09  $\mu\text{M}$  de BAP, 10.74  $\mu\text{M}$  de ácido naftalenacético ANA y 500 mg/L de caseína hidrolizada (CH) en combinación con oscuridad, (T4) MS+CH/Osc con 12 h luz, (T5) Ms+CH/12h) con 24 h luz y (T6) Ms+CH/24h. De cada tratamiento se sembraron al menos doce repeticiones, en las que un óvulo se consideró la unidad experimental.

Las variables de respuesta fueron evaluadas cada siete días, estas correspondieron al porcentaje de contaminación, determinado por presencia o ausencia de bacterias y hongos; porcentaje de reactividad, evaluado como cualquier cambio del óvulo o cualquier tipo de morfogénesis; tamaño del óvulo, medida en milímetros; coloración del óvulo, se midió en escalas de blanco a oscuro (indicador de sobrevivencia), además se registró la presencia de callos, presencia de embriones, etapa fenológica de los embriones, explantes con plantas expresado en porcentaje y número de plantas por explante. Para los tratamientos y variables, se compararon medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 % y realizó un análisis descriptivo. El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SAS-system versión 9.0 para Windows.

### **2.3. Subcultivo y aclimatación *ex vitro***

Después de 24 días, cuando la mayoría de óvulos presentó características de oscurecimiento intenso, fueron subcultivados al medio para germinación de embriones cigóticos maduros citado por Ortiz-Curiel *et al.* (2018), consistente en las sales minerales Murashige y Skoog (1962) con 2  $\text{g/L}^{-1}$  de carbón activado. Una vez que se indujo la formación de embriones y la germinación, se continuó con el mantenimiento de estos en el mismo medio de cultivo, renovándolo cada 45 días.

Una vez inducida la formación de embriones en los diferentes tratamientos, se dio seguimiento a la germinación y formación de plantas en el medio descrito por Ortiz-Curiel *et al.* (2018) hasta la evaluación final a los 372 días, en la que se contabilizaron las plántulas regeneradas y se midió la altura en centímetros. Las plántulas a aclimatar fueron aquellas que presentaron hojas, raíces y altura igual o mayor a cuatro centímetros; previo al trasplante, se retiraron las hojas oxidadas y el exceso de raíces para proceder a la siembra en sustrato compuesto por turba de *Sphagnum* (Peat moss) y perlita expandida (Agrolita) en una relación 90% -10%, respectivamente.

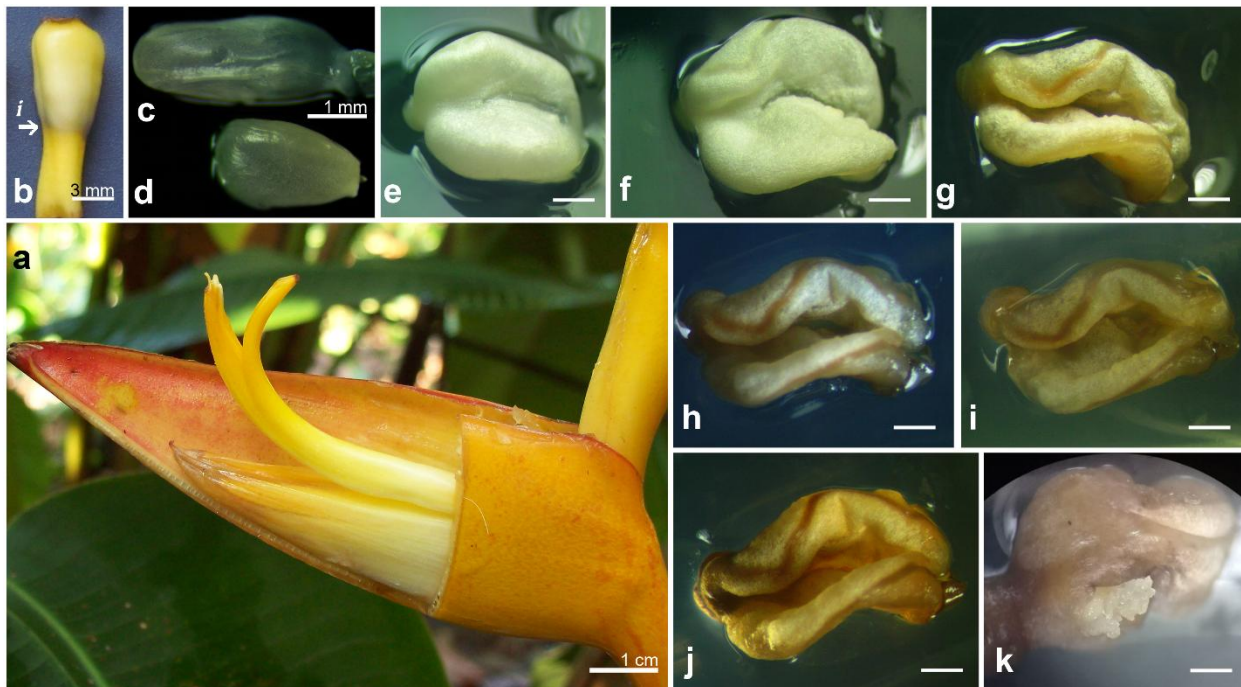
Se usaron charolas germinadoras de 36 cavidades cuadradas, con tapa. A la base y tapa se hicieron ocho perforaciones de 5 mm de diámetro, para un adecuado drenaje y transpiración, respectivamente. Estas se colocaron en sombra al 50 % y regaron con agua

de grifo a capacidad de campo cada 5 días. Las plantas se descubrieron totalmente cuando presentaron sus dos primeras hojas nuevas.

### 3. Resultados

Durante los primeros 14 días de incubación, los óvulos mostraron hidratación, algunos crecieron hasta alcanzar 5 mm y pasaron del color traslúcido a color blanco opaco (Fig. 1e, 1f), se ensancharon y adoptaron la forma de una semilla natural; sin embargo, al final de este periodo de tiempo se fueron deformando y plegando longitudinalmente. A partir de la tercera semana adoptaron un color café claro (Fig. 1g); a partir de la cuarta semana el color café se intensificó en la mayoría de los óvulos adquiriendo una aparente oxidación, deshidratación y deformación en la mayoría de los óvulos, pese a que ya se encontraban en el medio de germinación que contenía carbón activado (Fig. 1h). Estas características fueron evidentes en el resto de óvulos durante la quinta y sexta semana (Figs. 1i, 1j).

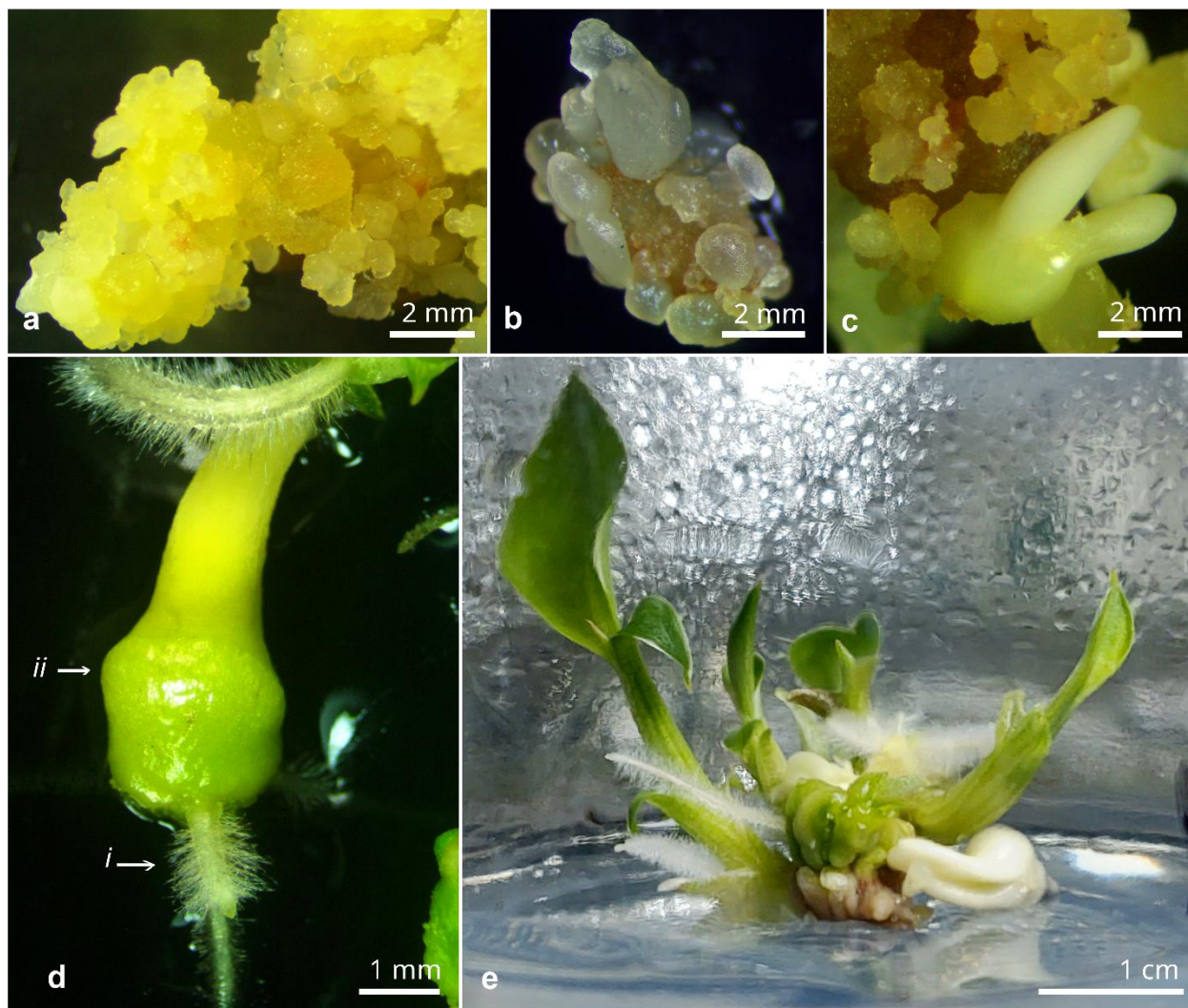
A los 56 días de incubación (octava semana), periodo en el que todos los óvulos presentaron las mismas características visibles, las variables respuesta no presentaron diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, en el tratamiento 5 se observó un primer óvulo con callo embriogénico y, además, células globulares (Fig. 1k).



**Fig. 1.** Secuencia de cambios en la morfología de un óvulo de *Heliconia champneiana*. Antesis de la primera flor (a), ovario con seis días posterior a la antesis (b), zona de abscisión (bi), óvulo fecundado con seis días después de antesis (c), óvulo no fecundado (d), desarrollo durante las primeras seis semanas (e-j), respectivamente y óvulo a los 56 días con emisión de callos embriogénicos (k). Esc. c-k = 1 mm.

**Fig. 1.** Sequential changes in the ovule morphology of the *Heliconia champneiana*. Anthesis of the first flower (a), ovary after six days of anthesis (b), abscission zone (bi), fertilized ovule after six days of anthesis (c), ovule unfertilized (d), growth during the first six weeks (e-j), by day 56 and ovule with embryogenic callus (k). Esc. c-k =1 mm.

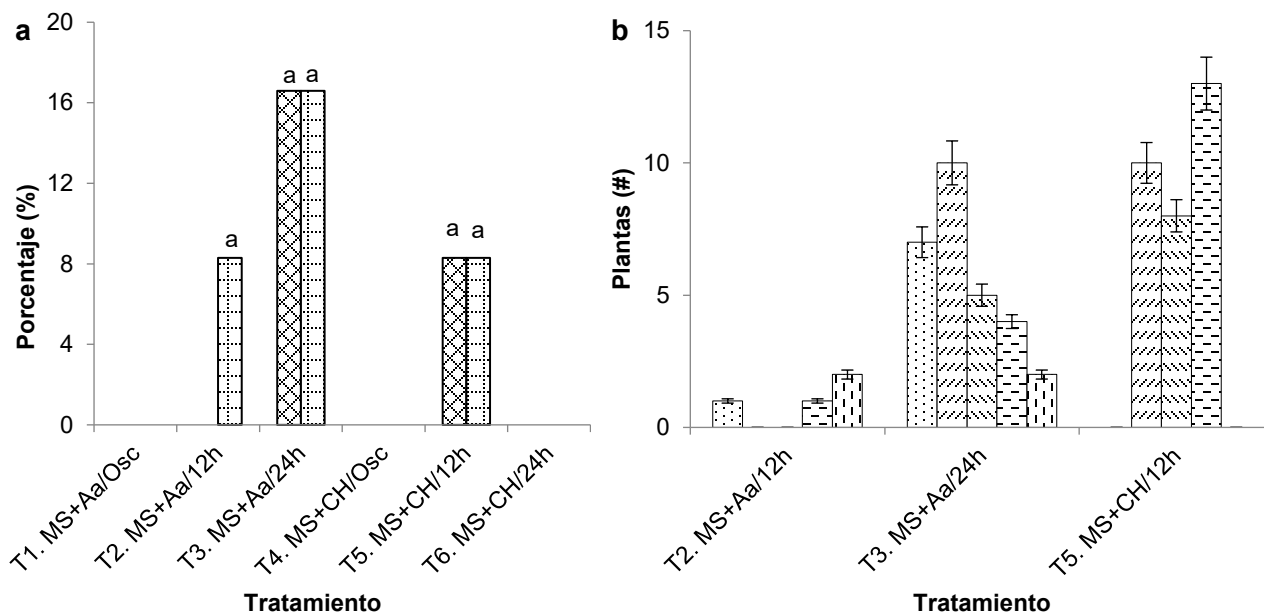
A los 64 días, el porcentaje de contaminación osciló entre 30.7 % y 40.6 %; bacterias de apariencia blanquecina emergían del explante (89 %) y hongos (11 %) empezaron a expresarse a partir de los tres días del establecimiento. La reactividad varió entre 15 % y 50 %, toda vez que permitieron el incremento en el tamaño de los óvulos en la fase inicial y mostraron reactividad aun hasta la cuarta semana; sin embargo, solo algunos desencadenaron en respuesta morfogénica (Fig. 2a). Se observaron dos tipos de respuesta: a) óvulos que indujeron callos (Fig. 2a) y que posteriormente dieron lugar a la formación de embriones somáticos globulares (Fig. 2b) y; b) óvulos que de forma directa generaron estructuras globulares y posteriormente convirtieron en embriones somáticos (Fig. 2c). Los embriones maduraron e iniciaron su proceso de germinación, emitieron la radícula (Fig. 2 di) y, posteriormente, mostraron meristemas de la plúmula (Fig. dii). Estos se convirtieron en plantas completas y, a su vez, emitieron nuevos tallos (Fig. 2e).



**Fig. 2.** Conversión de callos embriogénicos en plantas. Callos embriogénicos (a), embriones en fase globular (b), embriones maduros (c), embriones en proceso de germinación (d), raíces (di), meristemo apical (dii) y plantas completas (e).

**Fig. 2.** Transition of embryogenic callus to plants. Embryogenic callus (a), embryos in globular state (b), mature embryos (c), embryos in germination process (d), roots (di) apical meristem (dii) and full-grown seedling (e).

A los 98 días, tanto en el T2 (MS+Aa/12h luz) como en el T5 (MS+CH/12h luz) el 8.3 % de los óvulos presentó callos embriogénicos. Por su parte, el T3 (MS+Aa/24h luz) fue el 16.6 % (Fig. 3a) y, además, presentó la mayor cantidad de embriones por unidad. Los óvulos del T1, T4 y T6 adoptaron un color oscuro y finalmente murieron.



**Fig. 3.** Respuesta morfogénica y conversión de plantas a partir de óvulos fecundados de *H. champneiana*. Porcentaje de óvulos con callos (rombos) y embriones (cuadrados) 98 días después del establecimiento *in vitro* (a) y número de plantas por tamaño 372 días después del establecimiento (b). (puntos) >1 cm, (diagonal derecha) 1-2 cm, (diagonal izquierda) 2-3 cm, (línea horizontal) 3-4 cm, (línea vertical) <4 cm.

**Fig. 3.** Morphogenic response and plant conversion from fertilized ovules of *H. champneiana*. (a) percentage of ovules with callus (diamonds) and embryos (squares) after 98 days of *in vitro* planting. (b) number of plants by size after 372 days of planting. (dots) >1 cm, (slash) 1-2 cm, (backslash) 2-3 cm, (horizontal line) 3-4 cm, (vertical line) <4 cm.

A los 245 días del establecimiento (8 meses), se obtuvieron plántulas *in vitro* completas y, al mismo tiempo, abundante callo y embriones en fases tempranas, que se siguieron subcultivando. De esta manera, durante los cuatro meses siguientes se obtuvieron nuevas plántulas.

Se determinó que las líneas embriogénicas del T5 presentaron una tasa de generación de plántulas de 2.3, la cual se mantuvo estable a través del tiempo. En el caso de las líneas embriogénicas generadas en el T3, estas tuvieron una tasa de diferenciación igual a 1. En contraste, las líneas del T2 presentaron la tasa más baja de obtención de plántulas (Fig. 3b). Los resultados anteriores están vinculados a la capacidad de conversión, es decir, la capacidad de los embriones para transformarse en plantas completas mediante la activación de los meristemos radicular y caulinar.

A los 372 días, después de extraer las plantas de *in vitro* y clasificar por tamaño (Fig. 4a), se encontró que el T5 presentó mayor número de plantas (31 en total) y de mayor altura; por su parte, el T3 tuvo mayor variedad en tamaño. Por su parte el T2 generó el menor número de plantas y de menor altura.



**Fig. 4.** Plántulas de *Heliconia champneiana*. Después de su extracción *in vitro* (a), establecimiento en charolas con domo (b), plantas con hojas funcionales (c) y plantas listas para vivero (d).

**Fig. 4.** Plants of *Heliconia champneiana*. After their extraction *in vitro* (a), planting into seeding germination trays (b), plants with functional leaves (c) and plants ready for nursery (d).

Con dos semanas de aclimatación, las plantas presentaron hojas y raíces funcionales (Figs. 4b y 4c); sin embargo, permanecieron en charolas hasta que alcanzaron una altura de 12 a 15 cm (Fig. 4d). Se transfirieron a bolsas con tierra franca previo a su trasplante en campo.

#### 4. Discusión

El seguimiento a la secuencia de desarrollo y crecimiento de los óvulos fecundados del presente estudio permitió observar cambios morfológicos en el explante. Los principales cambios físicos coinciden con lo que describieron Dhanya y Sheela (2008) en óvulos de *Heliconia psittacorum* (fertilizados *in vitro*); por ejemplo, durante las primeras tres semanas, en ambos casos, el crecimiento fue acelerado, los óvulos adoptaron la forma de una semilla natural, cambiaron de color blanco a café y mostraron oscurecimiento cada vez más intenso. Cabe mencionar que, al cambiarlos al inicio de la cuarta semana de incubación a medio MS adicionado con carbón activado que Ortiz-Curiel *et al.* (2018) utilizaron para germinar embriones zigóticos maduros de heliconia, los óvulos no solo sobrevivieron, sino que, cinco semanas después, el primer óvulo generó callos embriogénicos. Este resultado contrasta con los de Dhanya and Sheela (2008), quienes reportaron que la ruta morfogénica en *H. psittacorum* fue hacia la emisión de la radícula, pero en la semana 13 los óvulos finalmente murieron.

Respecto a la exposición lumínica durante las tres primeras semanas de incubación, los resultados del presente estudio mostraron que 12 a 24 h fueron favorables. Nuestros resultados se ajustan a lo que mencionaron Naranjo *et al.* (2014), que la presencia de luz favoreció la embriogénesis para la especie *Psychotria ipecacuana*. Esto explica que para todas las especies no es indispensable un período de inducción en oscuridad para promover la ruta morfogénica de la embriogénesis. Sobre esto último, Ulisses *et al.* (2007) utilizaron embriones zigóticos inmaduros de *Heliconia chartaceae* cercanos a la madurez fisiológica como explante y ausencia de luz durante los 90 días de incubación y no obtuvieron respuesta morfogénica, al igual que en este estudio, donde los tratamientos con oscuridad no presentaron morfogénesis. La falta de respuesta en condiciones de oscuridad sugiere que, en explantes del género *Heliconia*, la fotomorfogénesis ejerce un papel determinante en la activación de fitocromos y criptocromos, fotorreceptores implicados en la regulación de la inducción embriogénica (Han *et al.*, 2025). Este fenómeno también podría estar relacionado con una señalización hormonal dependiente de la luz, como la redistribución de auxinas endógenas necesarias para la adquisición de competencia y determinación celular, proceso que probablemente no ocurre o se ve limitado en ausencia de iluminación (Hernández-Meneses *et al.*, 2022).

Respecto al balance nutritivo del medio de cultivo, la mayor respuesta morfogénica se obtuvo en el medio complementado con aminoácidos, mientras que la mayor conversión a plantas se obtuvo en presencia de caseína hidrolizada. Este último tratamiento coincide con lo que reportaron Meneses *et al.* (2009), quienes obtuvieron mayor regeneración de plantas en explantes de secciones de tallo sembrados en medio de cultivo adicionado con caseína hidrolizada y carbón activado. Asimismo, Dhanya and Sheela (2008) reportaron que agregar caseína hidrolizada al medio de cultivo favoreció el desarrollo de óvulos fecundados *in vitro*. Al-Khayri (2011), por su parte, señaló que la adición al medio de cultivo de caseína hidrolizada aumenta 2.3 veces la producción de callo y con ello la producción de embriones somáticos de *Phoenix dactylifera*. En el presente trabajo, la presencia de caseína hidrolizada en el medio no solo propició mayor cantidad de plantas, sino también una mayor sincronía en la conversión de embriones. Este efecto de la caseína hidrolizada podría estar asociado a que dicho compuesto orgánico es una fuente de calcio, fósforo, microelementos,

vitaminas y más de 18 aminoácidos, nitrógeno y compuestos diversos que actúan como promotores del crecimiento. Además, al estar compuesta por péptidos cortos y otros compuestos no completamente caracterizados, se considera que estos podrían actuar como factores de crecimiento, promotores de la maduración e incluso como estabilizadores de otras (Daniel *et al.*, 2018).

En otros géneros, se han reportado problemas similares durante la conversión de embriones a plántulas. En *Olea europaea* con la modificación del tipo y concentración de fitohormonas como giberelina, ácido naftalenacético y fotoperiodo de 16 h luz, lograron aumentar a 45 % la conversión de embriones somáticos (Mazri *et al.*, 2020); asimismo, la adición de GA<sub>3</sub> Para el caso de la embriogénesis somática de *Coffea arabica*, Valencia-Lozano *et al.* (2021), consideran que la etapa de conversión es la etapa más complicada para la regeneración de plantas completas por esta ruta morfogénica.

En el presente estudio el 16.6 % fue el valor máximo de óvulos con respuesta morfogénica (T3), sin embargo, es relevante si se toma en cuenta que cada óvulo generó embriones, y éstos, a su vez, generaron plantas completas. Este porcentaje puede incrementar si se toma en cuenta que: 1) la contaminación por bacterias fue de hasta 33. 2 % de los óvulos en los primeros tres días de incubación en el T3, e interfirió negativamente en la respuesta morfogénica; en ese sentido, la extracción del óvulo sin tejido placentario podría disminuir los porcentajes de contaminación debido a que en heliconias la expresión de bacterias endófitas es frecuente en el cultivo *in vitro* (Hilo de Souza y Dos Santos-Serejo, 2007). 2) el medio de cultivo con carbón activado, en el que los óvulos respondieron favorablemente, no requirió modificación alguna para que ocurriera la conversión de embriones a plantas contrario a la disminución de concentración de sales que realizaron Hernández-Meneses *et al.* (2022) al medio de cultivo para embriones somáticos de *H. collinsiana*. No obstante, Falcón-Bautista *et al.* (2018) con 0.5 mg/L GA<sub>3</sub> en combinación con 0.5-1.5 mg/L de BA y 1 a 3 mg/L de ANA obtuvieron el mayor número de plantas completas a partir de callos embriogénicos de *Eustoma grandiflorum*. Enfocar los esfuerzos en la fase de inducción de los óvulos podría elevar la respuesta morfogénica y complementar el medio de germinación con GA<sub>3</sub> posiblemente incremente el número de plantas.

La perspectiva del presente trabajo es maximizar los beneficios de la embriogénesis somática y aplicarlas en cruza intra e interespecíficas en el género *Heliconia*; de esta manera se hará eficiente el producto de cruzamientos dirigidos en los programas de mejoramiento genético.

## 5. Conclusiones

Se indujo la embriogénesis somática a partir de óvulos fecundados de *Heliconia champneiana* establecidos *in vitro*. El tipo de respuesta morfogénica dependió de la presencia de aminoácidos y caseína hidrolizada, mientras que, la presencia de luz favoreció la formación de estructuras embriogénicas. Las plantas que se obtuvieron mediante embriogénesis somática fueron funcionales.

Para incrementar el porcentaje de óvulos con respuesta morfogénica, se sugiere evaluar otras concentraciones del medio de inducción y días de exposición para esquivar el oscurecimiento que muestran los óvulos a partir del inicio de la cuarta semana; asimismo, determinar si la presencia del tejido placentario es fuente de endófitos con la finalidad de disminuir su expresión *in vitro*.

## Agradecimientos

Se agradece al INIFAP el financiamiento con recursos fiscales para el proyecto de investigación: Nuevas variedades de heliconia para uso ornamental en los sistemas agroforestales.

## Contribución de los autores

**Simitrio Ortiz:** Investigación, supervisión, administración del proyecto, toma de datos, análisis de datos, redacción- revisión y edición. **Leobardo Iracheta:** Conceptualización, supervisión, redacción- revisión y edición. **Alejandra Caravantes:** Análisis de datos, curación de datos, redacción- borrador original.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## Referencias

Al-Khayri, J.M., 2011. Influence of yeast extract and casein hydrolysate on callus multiplication and somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Sci. Hortic.* 130: 531-535. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.07.024>

Atehortúa, L. and Valencia, C.I., 2002. Bioconversión de embriones somáticos de *Heliconia stricta* Huber utilizando los sistemas de inmersión temporal "RITA". *Actual. Biol.* 24(76): 23-29. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.329578>

Castellanos, H., Ríos, D., Sánchez, O., Wehenkel, C. and Corral, J., 2011. Proliferación de embriones somáticos de *Nothofagus alpina*: efecto de la fuente de nitrógeno orgánico xógena. *Madera y Bosques.* 17 (2): 35-46.

Cruz, C.D., Regazzi, J.A. and Carneiro, P.C.S., 2012. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Editora UFV, Viçosa, 4ª Ed. v.1, 514p.

Da Silva, C.G., Dalbosco, E.Z., Da Luz, P.B., Krause, W., Loges, V., Silva, C.A., 2017. Genetic divergence of Heliconiaceae species in the Central West Brazil region. *Agron. Colomb.* 35:285-292. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v35n3.67661>

Daniel, M.A., David, R. H.A., Caesar, S.A., Ramakrishnan, M., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S. and Al-Dhabi, N.A., 2018. Effect of l-glutamine and casein hydrolysate in the development of somatic embryos from cotyledonary leaf explants in okra (*Abelmoschus esculentus* L. monech). S. Afr. J. Bot. 114:223-231. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.11.014>

Dhanya, A. and V.L. Sheela, 2008. Standardization of *in vitro* pollination and fertilization technique for *Heliconia*. Bull. Heliconia Soc. Int. 14(2):1–11. Disponible en: <https://www.yumpu.com/en/document/read/35513517/bulletin-heliconia-society-international>

Falcón-Bautista, M., Rodríguez-Domínguez, J.M. y Barba-González, R. 2018. Organogénesis a partir de hojas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) en respuesta a diferentes reguladores de crecimiento. Mex. J. Biotechnol. 3 (2):37-46. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.2.37>

Han J., Li, Y., Zhao, Y., Sun, Y., Li, Y. and Peng, Z., 2025. How does light regulate plant regeneration?. Front. Plant Sci. 15:01-22. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1474431>

Hernández R., C.A., Salazar M. and Restrepo B, L.F., 2013. Rescate de embriones para la obtención de vitroplantas de vid (*Vitis vinifera* L.) Rev. Colomb. Biotecnol. 15 (2):193-201. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77629802022>

Hernández-Meneses, E., López-Peralta, M.C.G., Estrada-Luna, A.A. and Valdovinos-Ponce, G., 2022. Embriogénesis somática en *Heliconia collinsiana* Griggs. Rev. Fitotec. Mex. 45(3):333-340. <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.3.333>

Hilo de Souza, E. and Dos Santos-Serejo, J.A., 2007. Uso de antibióticos no estabelecimento de *Heliconia rostrata* a partir de gema apical. 16° Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais / 3° Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas / 1° Simpósio de Plantas Ornamentais Nativas. Goiânia - Goiás - Brasil. Pp. 644-647. <https://ornamentalhorticulture.com.br/rbho/article/view/1497/1045>

Jongkind Jacob, J. and Herman Jongkind, H., 2015. Hybridizing Heliconias. Bull. Heliconia Soc. Int. 21(4):1-6 Disponible en: [https://www.heliconia.org/files/ugd/ef1aa2\\_4697b71ab50943e6bb802999c29dacc.pdf](https://www.heliconia.org/files/ugd/ef1aa2_4697b71ab50943e6bb802999c29dacc.pdf)

Malakar, M., Beruto, M. and Barba-González R., 2022. Biotechnological approaches to overcome hybridization barriers and use of micropropagation tool for further improvement in *Heliconia*: a review. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 149:503–522. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02300-w>

Marulanda M.L., Isaza, L. and López, P.A., 2018. Caracterización de la diversidad genética de cultivares comerciales de heliconias en el centro occidente de Colombia. Agron. Costarric. 42: 7-20.

Mazri, M.A., Naciri R. and Belkoura, I., 2020. Maturation and conversion of somatic embryos derived from seeds of olive (*Olea europaea* L.) cv. Dahbia: Occurrence of secondary embryogenesis and adventitious bud formation. *Plants*. 9(11): 1489. <https://doi.org/10.3390/plants9111489>

Méndez-Rojas, D.M., Lobato-García, J.M. and Benítez-Malvido, J., 2024. Heliconias: de plantas ornamentales a pequeños microhábitats dentro de las selvas tropicales. *RDU*. 25(2):1-10. <http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2024.25.2.2>

Meneses, A. J., Martínez, N.R. and Atehortúa, L., 2009. Regeneración *in vitro* de *Heliconia psittacorum*, variedad choconiana, usando el sistema de sección transversal delgada "Tcls" (thin cells layer). *UDO Ag*. 9 (3): 547-555.

Murashige, T. and Skoog, F., (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15:473-497. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Naranjo, E.J., Urrea, A.I. and Atehortúa, L., 2014. Avances en la propagación vía embriogénesis somática de *Psychotria ipecacuana* (Brot.) Stokes, planta medicinal en peligro crítico. *Rev Colomb Biotecnol*. 16 (1): 86-92.

Naranjo, E.J., Chavarriaga, P. and Atehortúa, L., 2002. Expresión transiente del gen Reportero  $\beta$  glucuronidasa en embriones somáticos de *Heliconia stricta* transformados con *Agrobacterium tumefaciens*. *Actual. Biol*. 24(77):5-12. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.329509>

Ortiz-Curiel, S., Iracheta-Donjuan, L., Carrillo-Castañeda, G., Avendaño-Arrazate, C.H. and Gálvez-Marroquín, L.A., 2018. Sacarosa y carbón activado *in vitro* determinan la germinación de embriones cigóticos de *Heliconia* L. *Agro Productividad*. 11 (12): 109-115. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i12.1316>

Ramos-Guimarães, W.N., Guerra Ferraz, G. de M., Semen Martins, L.S, Vilela Resende, L., Almeida Burity, H. and Loges, V., 2012. Genetic diversity analysis of *Heliconia psittacorum* cultivars and interspecific hybrids using nuclear and chloroplast DNA regions. *Agric. Sci*. ISBN: 978-953-51-0567-1. <https://doi.org/10.5772/48815>

Rocha, F.H.A., Loges V., Costa, A.S., Aragão, F.A.Z, and Santos V.F., 2010. Genetic study with *Heliconia psittacorum* and interspecific hybrids. *Crop Breed. Appl. Biotechnol*. 10, 282-288. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332010000400001>

SAS Institute Inc., 2013. Base SAS®9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures, Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Ulisses, C., Camara, T., Willadino, L. and Albuquerque, C., 2007. Induction of somatic embryogenesis in *Heliconia chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy pink and cv. Sexy scarlet from sections of ovaries. *Rev. bras. cienc. Agrar*. 2(4):281-284. Consultado en: <chrome->

[extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/1190/119017380006.pdf](https://www.redalyc.org/pdf/1190/119017380006.pdf)

Valencia-Lozano, E., Ibarra, J.E., Herrera-Ubaldo, H., Folter, S.d. and Cabrera-Ponce, J.L., 2021. Osmotic stress-induced somatic embryo maturation of coffee *Coffea arabica* L., shoot and root apical meristems development and robustness. *Sci. Rep.* 11, 9661. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88834-z>