Evaluación de las condiciones de germinación *in vitro* y generación de callos de *Gymnopodium floribundum* Rolfe (Dzidzilché)

E.C. Chan-Gómez[1], E.I. Hernández-López[2], S.T. Echeverría-Echeverría[1*], J.H. Caamal-Velázquez[2], J.J. Huijara-Vasconselos[2], A.V. Domínguez-May[3], C.M. Pavón-Lanz[2] y S. Zamora-Juárez[4]

[1] CBTA 13 Xmatkuil, Prolongación de calle 50, Ex Hacienda Xmatkuil, C.P. 97139 Mérida, Yuc., México, hsueterech@gmail.com
[2] Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Km 17.5 Carr. Fed. Haltunchen-Edzná. Sihochac, Champotón, Campeche C.P.24450., hcaamal@colpos.mx, huijarajose@gmail.com
[3] Instituto Tecnológico Superior del Sur de Yucatán (ITSY) Km 41 + 400 Muna-Felipe Carrillo Puerto, Oxkutzcab, Yuc. C.P. 97880, adominguez@suryucatan.tecnm.mx
[4] Investigador independiente C.P. 97314 Merida, Yuc., México, sherellzamora22@gmail.com

Resumen

***Gymnopodium floribundum* (Dzidzilché) es una especie endémica de Mesoamérica con alta relevancia para la apicultura en la Península de Yucatán, debido a su aporte de néctar y al potencial de la vitexina como marcador botánico. No obstante, su reproducción silvestre por semilla es sumamente baja debido a una dicogamia protándrica incompleta que favorece la propagación clonal. Este trabajo estableció las bases de su micropropagación como estrategia para su producción masiva y conservación genética. Se evaluaron dos métodos de asepsia en semillas y un protocolo en segmentos foliares. La baja viabilidad de las semillas se atribuyó a que eran vanas, sin endospermo. Para la inducción de callos, se evaluaron 16 tratamientos combinando la auxina 2,4-D y la citocinina 6-BAP en segmentos foliares de 1 cm². El tratamiento T15 demostró ser efectivo para la formación de callos, abriendo la vía para la organogénesis indirecta o embriogénesis somática. Se concluye que el desarrollo de líneas clonales es viable para abastecer la demanda agroindustrial, evitar la erosión genética y potenciar la producción apícola regional.**

***Palabras clave*— Plantas meliferas, Dzidzilché, micropropagación.**

Evaluation of *in vitro* germination conditions and callus generation of *Gymnopodium floribundum* Rolfe (Dzidzilché)

Abstract

***Gymnopodium floribundum* (Dzidzilché) is a species endemic to Mesoamerica that is highly significant for beekeeping in the Yucatán Peninsula, owing to its nectar contribution and the potential of vitexin as a botanical marker. However, its natural reproduction via seed is extremely low due to incomplete protandrous dichogamy, which favors clonal propagation. This study established the foundation for its micropropagation as a strategy for mass production and genetic conservation. Two seed sterilization methods and a protocol for leaf segments were evaluated. Low seed viability was attributed to the seeds being empty (lacking endosperm). To induce callus formation, 16 treatments combining the auxin 2,4-D and the cytokinin 6-BAP were evaluated using 1 cm² leaf segments. Treatment T15 proved effective for callus formation, paving the way for indirect organogenesis or somatic embryogenesis. It is concluded that the development of clonal lines is a viable approach to meet agro-industrial demand, prevent genetic erosion, and boost regional beekeeping production.**

***Keywords*— Honey plants, Dzidzilché, micropropagation.**

I. Introducción

Gymnopodium floribundum, conocido en lengua maya como Dzidzilché o ts'iits'ilche' ("árbol que se pela"), es una especie nativa de Mesoamérica perteneciente a la familia Polygonaceae, es ampliamente distribuida en la Península de Yucatán, donde forma parte esencial de la selva baja caducifolia (Ortíz Campo, et al., 2019; Paquini Rodríguez, et al., 2023). Las plantas son hermafroditas y producen muy pocas semillas viables, su amplia distribución se le atribuye a la reporducción clonal mas que a semillas, presenta una dicogamia protándrica incompleta a nivel individual, reportes como el de Balam-Narvaes (2009) identifican a esta especie de planta con un alto potencial en el ambito ornamental, ademas de la importancia que ya tiene en la apicultura. Por otro lado, su uso como combustible, en construcción, como soporte de plantas epifitas, entre algunos usos medicinales, como son antiinflamatorios (Balam Narvaes, 2009; Villanueva Gutiérrez, et al., 2009; Quiroz Carranza & Orellana, 2010; Ortíz Campo, et al., 2019; Villa de la Torre, et al., 2025).

La península de Yucatán es una región rica en biodiversidad, existen reportes en donde se establece que existen al menos 2329 taxa que se relacionan con la flora melífera, entre ellas *Gymnopodium floribundum*, (Mendoza Osorno, et al., 2023); según el SIAS (Sistema de Información de Acciones Sanitarias) en el año 2025 se produjeron 9,250 ton de miel con un valor en

Recibido: 14 de julio de 2026
Aceptado: 23 de octubre de 2026
Publicado: 10 de noviembre de 2026

la producción de MXN$ 249, 887 miles de pesos, en el año 2023 se reportaron 369, 610 colmenas (SIAS, 2024). Estudios como el de Mendoza Osorno y colaboradores (2023), donde realizan un análisis metabolómico de *G. floribundum*, lograron identificar a la Vitexina, que se sugiere como un marcador para la identificación botanica de mieles, propóleos, polen, entre otros productos de la colmena. La importancia de *G. floribundum* radica en que se ha demostrado que cada flor produce entre 1.28 y 1.64 µl de néctar por día, lo que la convierte en una especie de gran relevancia para la apicultura en la Península de Yucatán y en México (Paquini Rodríguez, et al., 2023).

A pesar de que la micropropagación se ha consolidado como una herramienta clave para la producción masiva de plantas de interés agroindustrial, ornamental y/o condimentos, existe un notable rezago en su aplicación e investigación hacia especies silvestres (Gupta, et al., 2020). El objetivo de este trabajo fue proporcionar las bases de la micropropagación de *G. floribundum*.

II. METODOLOGÍA

Las muestras biológicas fueron semillas y segmentos foliares, las primeras se colectaron verdes y secas, las hojas colectadas fueron colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético y en una hielera, para su transporte al laboratorio. Las colectas se realizaron en dos regiones del estado de Yucatán, Dzán (20° 23’ 38” N, 89° 29’ 2” W y 20° 23’ 27” N, 89° 27’ 20” W) y Homún (20° 44’ 27” N, 89° 15’ 16” W).

Para las semillas se realizaron bajo dos procedimientos, el primero se lavaron las semillas con una solución acuosa al 1% de detergente líquido (Extran®, MERCK Cat. 107555), se realizaron tres enjuagues con agua destilada hasta eliminar el detergente y se dejó en el agua, en este paso se llevó a la campana de flujo laminar y ahí se realizó un lavado con una solución acuosa de etanol al 70%, por un periodo de 5 min., pasado el tiempo se realizó un enjuague con agua destilada estéril y se incubó por 5 min en una solución acuosa de hipoclorito de sodio comercial al 1% (Cloralex®). Por último, se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril, estas se dejaron secar sobre una superficie estéril por un mínimo de 5 min, posteriormente se sembraron en el medio de cultivo. El otro procedimiento fue; un lavado con agua de la llave por 15 minutos, posteriormente se realizó un lavado con plata coloidal comercial (Microdyn®) en solución acuosa al 2% durante 15 minutos, posteriormente un lavado por 15 minutos con una solución acuosa de cloranfenicol al 1% de una solución 5 mg/ml (AMSA®, laboratorios). Finalizado el tiempo se realizaron dos lavados con una solución acuosa de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) al 20% y 30%, respectivamente en ese orden; el proceso concluyó con tres enjuagues con agua destilada estéril.

Se utilizaron dos medios de cultivo para cada uno de los dos métodos de asepsia, para el primero se utilizó el medio MS (Murashige & Skoog, 1962) con sus vitaminas al 70%, suplementado con 3% de sacarosa, 8 mg/L de BAP (Phytotech Labs®, Cat. B800), 0.1 mg/L AIA (Phytotech Labs®, Cat. I885) y 3 g/L de Gellan Gum (Phytotech Labs®, Cat.G434); para el segundo método de asepcia se utilizó un medio MS (Murashige & Skoog, 1962) con sus vitaminas, suplementado con 3% de sacarosa, sin reguladores y 3 g/L Gellan Gum (Phytotech Labs®, Cat.G434).

Para la obtención de callo a partir de segmentos foliares; la asepsia se realizó de la siguiente manera. Un enjuague con agua purificada durante 5 minutos, posteriormente un lavado vigoroso con 0.01% de hipoclorito comercial (Cloralex®) y 100 µL de detergente liquido (Extran®, MERCK Cat. 107555), se enjuagó con agua purificada hasta retirar el detergente y se llevó a la campana de flujo laminar, donde se realizó un lavado con 0.5% de hipoclorito de sodio comercial durante 2 minutos y finalizando con tres enjuagues con agua destilada estéril. Después del lavado se tomaron las hojas y se dejaron secar durante 3 minutos dentro de la campana de flujo laminar sobre un papel adsorbente estéril, estas se cortaron en secciones a modo de rombo, de manera transversal a la nervadura de aproximadamente 1 cm cuadrado. Por último, se sembraron 6 segmentos por caja Petri, se realizaron 3 réplicas con 3 cajas Petri con 6 segmentos foliares por replica. El medio de cultivo utilizado MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado con 3% de sacarosa, 3g/L de gellan Gum y una combinación de reguladores de crecimiento según la tabla 1, la incubación se realizó en un cuarto de cultivo con una combinación de iluminación LED roja y LED blanco en una proporcion 1:1 con una intensidad luminca de 52 PAR (µM/m^{2}s) a una temperatura de 25±2 °C. Las variables evaluadas en este trabajo son semillas contaminadas y semillas germinadas, explantes contaminados, porcentaje de segmentos foliares con formación de callos, el crispado de la hoja (hacia arriba o abajo) y la oxidación (cambio de la coloración de verde a café). Se utilizó un modelo de dos vias (2,4D y 6 BAP) cuatro niveles, 4x4 (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0), se utilizó una prueba de tukey, p≤0.5, con el fin de determinar las diferencias sugnificativas. Se utilizó el sofware estadistico Statgraphics Centurion XVI y las gráficas fueron diseñadas en el software LabPlot.

TABLA I
DOSIS RESPUESTA PARA LA INDUCCIÓN DE CALLOS

		Axina 2,4-D			
	mg/L	0.0	0.5	1.0	2.0
Citocinina 6-BAP	0.0	T1	T2	T3	T4
	0.5	T5	T6	T7	T8
	1.0	T9	T10	T11	T12
	2.0	T13	T14	T15	T16

6-BAP: 6-Bencilaminopurina; 2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético

III. RESULTADOS

A. Germinación de semillas

El protocolo de asepsia número 1, tuvo una eficiencia del 100 %, al no presentar contaminación, este se utilizaron 24 semillas de las cuales ninguna presento contaminación, sin embargo, solo germinó el 8.3 % (2 semillas) en un periodo de 5 días, el resto de las semillas no lograron germinar en un periodo de 30 días, esto sugiere que las semillas eran vanas o por haber sufrido un daño por el proceso de asepsia. Para el caso del segundo protocolo de asepsia, lo primero que se realizó es una somera caracterización de las semillas y se identificó que 95.4%

son semillas vanas (Fig. 1), solo se sembraron el 4.6% lo que corresponde a 15 semillas y después de 30 días de incubación, no hubo germinación, como en el protocolo anterior, esto puede deberse a que la asepsia daño al embrión o a que la viabilidad de las semillas es nula, aun con la identificación del endospermo; nuestros resultados sugieren lo propuesto por Paquini Rodríguez, et al., (2023) quienes reportan la dicogamia intrafloral completa, pero incompleta a nivel intra e interindividual, lo que implica una amplia ventaja de polinización de entrecruza pero no de autocruza, razón por la cual muchos individuos son propagados asexualmente y la viabilidad de las semillas es muy baja en donde los individuos fueron propagados clonalmente.



Fig. 1. Semillas de Dzidzilché (*Gymnopodium floribundum*). 1a) Semillas con endospermo, 1b) Semillas sin endospermo. Las barras corresponden a 1 mm, observadas en un estereoscopio Leica M165C.

B. Inducción de callos de segmentos foliares

Para la inducción de callos se realizaron 16 tratamientos (Tabla 1) con el fin de explorar la mejor combinación para la inducción de células callosas. Se utilizó una combinación de auxinas y citocininas, en segmentos foliares de *G. floribundum*, de 1 cm^2 aproximadamente (Figura 2a).

En la Fig. 2a podemos observar la fuente de los explantes iniciales, que fueron segmentos jóvenes de hojas y de ahí se cortaron aproximadamente segmentos de 1 cm^2 y se sembraron en medio MS. Con respecto a la oxidación los tratamientos T5, T7, T11 y T15 no se observó, mientras que el valor más alto (54.5%) fue en el T6 (Fig. 2e y 3). En el caso de formación de callos, los explantes colocados como control (T1) no presentaron formación de estos (Fig. 2b y Fig. 3). Así mismo, los tratamientos con únicamente un regulador presentaron bajo porcentaje de callos (≤20 %); la interacción que produjo el mayor porcentaje de generación de callos (85.7 %) fue el tratamiento T15 (2mg/L BAP: 1mg/L 2,4-D) (Figura 2d y 3). El tratamiento T11 (1 mg L-1 de BAP con 1 mg L-1 de 2,4-D) tuvo menor porcentaje de crispado (20 %), a diferencia de los tratamientos T14 y T15 que presentaron 100 % (2C y 3). Nuestros resultados sugieren que, en los segmentos foliares sometidos al tratamiento T15, se observa la formación de callos. Este hallazgo evidencia que dicho tratamiento permite la multiplicación por organogénesis indirecta, ya sea mediante la formación de embriones o a través de la regeneración indirecta.

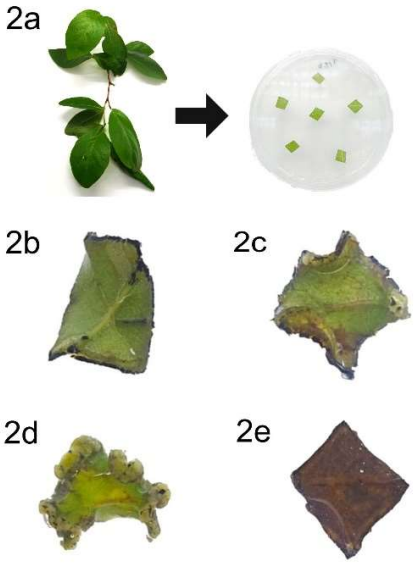


Fig. 2. Proceso general para obtención de callos en segmentos foliares de *G. floribundum*; 2a) Explantes de hoja de *G. floribundum* utilizados y segmentos foliares de 1 cm^2, sembrado en el medio de cultivo. 2b) Crispado de la hoja, 2c) Explantes con formación de callos, 2d) Explante con formación de callo y 2e) Segmento oxidado y muerto.

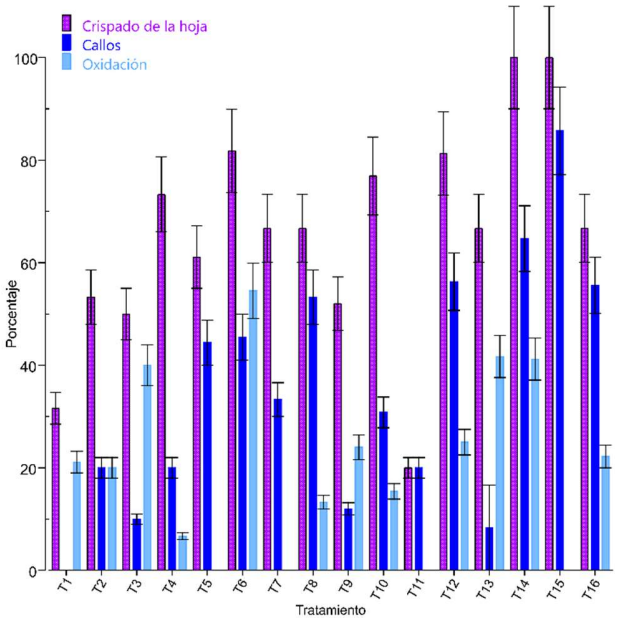


Fig. 3. Respuesta observada en los 16 tratamientos en secciones foliares, crispado de la hoja, oxidación y callos.

Con estos resultados preliminares demuestra la viabilidad de aplicar la biotecnología, en particular la micropropagación vegetal, para atender la demanda de estas especies y generar distintas líneas clonales. Existen reportes de otras especies de plantas de la familia Polygonaceae como es *Polygonum multiflorum* que utilizan vías de multiplicación por organogénesis directa, utilizando segmentos nodales como explantes, lo que no es posible en dzidzilche dado que al ser semileñosa se encuentran con complicaciones (Li Chang, et al., 2003)

IV. Conclusión

El trabajo de investigación presentado es el primer reporte sobre el intento utilizar la micropropagación de plantas en *G. floribundum*, derivado de los resultados de este trabajo y de los reportes sobre la dicogamia de la especie, se concluye que para evitar la erosión genetica de la especie, la estrategia de propagación es generar lineas clonales provenientes de individuos de colectas de diferentes regiones, debido a la poca viabilidad de las semillas se propone el uso de las vías de multiplicación por organogénesis indirecta o la generación de embriones somáticos con fines de reproducción masiva. Este trabajo sienta las bases para la propagación de *G. floribundum.* Es importante dar seguimiento a este trabajo de tal forma de no solo se induzca la generacion de callos, si no que se pueda regenerar el explante hasta la obtención de plantas completas y con esto poder establecer plantaciones de Dzidzilche.

Referencias

Balam Narvaes, R.; 2009. Una planta común com varias funciones… ¡Aunque usted no lo crea!. Desde el Herbario CICY, 1(1), pp. 30-31.

Gupta, N., Jain, V., Rosy Joseph, M. & Devi, . S., 2020. A Review on Micropropagation Culture Method. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development, 8(1), pp. 86-93.

Li Chang, L. y otros, 2003. Miropropagation of Polygonum multiflorum thunb and quantitative analysis of the anthraquinones emodin and physcion formed in invtiro propagated shoots and plants. Biol Pharm Bull, 26(10), pp. 1467-1471.

Mendoza Osorno, A. E. y otros, 2023. Metabolomic Profiling (LC–MS2) of Flowers and Bee Honey of Dzidzilche (Gymnopodium floribundum Rolfe) and Jabin (Piscidia piscipula L. Sarg.) from Yucatán,México. Processes, Volumen 11, p. 3028.

Murashige, T. & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3), pp. 473-497.

Ortíz Campo, G., Tun Garrido, J., Sandoval Castro, C. & Torres Acosta, F., 2019. El Dzidzilché (Gymnopodium floribundum): una planta con varios servicios ecosistémicos en la península de Yucatán. Bioagrociencias, 12(1), pp. 27-33.

Paquini Rodríguez, S. L., Meléndez Ramírez, V., Tun GarriDo, J. & Parra Tabla, V., 2023. Dicogamia y sistema De compatibiliDaD en el árbol tropical Gymnopodium floribundum (polygonaceae). Botanical Sciences, 102(1), pp. 54-67.

Quiroz Carranza, J. & Orellana, R., 2010. Uso y manejo de leña combustible en viviendas de seis localidades de Yucatán, México. Maderas y Bosques, 16(2), pp. 47-67.

SIAS (Sistema de Información de Acciones Sanitarias), 2024. Panorama del Sector Pecuario, Mexico: s.n.

Villa de la Torre, F. y otros, 2025. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of the methanolic leaves extract of Gymnopodium floribundum Rolfe. Journal of Ethnopharmacology, Volumen 347, p. 119743.

Villanueva Gutiérrez, R., Moguel Ordóñez, Y. B., Echazarreta González, C. M. & Arana López, G., 2009. Monofloral honeys in the Yucatán Peninsula, Mexico. *bgrana,* 48(3), pp. 214-223.