

## EFFECTO DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN EL CULTIVO *IN VITRO* DE SEMILLAS DE *Erythrina crista-galli*

Quintana S.A.<sup>1\*</sup>, Mereles Y.<sup>2</sup>, Rojas J.<sup>3</sup>, McGahan S.<sup>4</sup>, Escurra J.<sup>5</sup> y Reyes, M.<sup>6</sup>

[squintana@facen.una.py](mailto:squintana@facen.una.py)<sup>1</sup>, [yhemilemereles@gmail.com](mailto:yhemilemereles@gmail.com)<sup>2</sup>, [jorge.rojasd98@gmail.com](mailto:jorge.rojasd98@gmail.com)<sup>3</sup>, [smcgahan@facen.una.py](mailto:smcgahan@facen.una.py)<sup>4</sup>, [joseescurra7@gmail.com](mailto:joseescurra7@gmail.com)<sup>5</sup>, [magalizrc@gmail.com](mailto:magalizrc@gmail.com)<sup>6</sup>.

<sup>1,2,3,4,5</sup>Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay

<sup>6</sup>Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA)

### RESUMEN

Las técnicas de cultivo *in vitro* son estrategias empleadas para la propagación de material vegetal. Este procedimiento debe ser llevado a cabo en condiciones asépticas a modo de permitir tener cultivos sin contaminación. Mediante la realización de este ensayo se observó que las semillas de *Erythrina crista-galli* presentaban inhibición en su crecimiento debido a la presencia del agente contaminante identificado luego por visualización en el microscopio como *Penicillium* sp, por lo cual se establece como necesidad extremar las condiciones de esterilidad en el proceso de cultivo para garantizar el desarrollo vegetal.

### INTRODUCCIÓN

Existe una variedad de medios (nutritivo o selectivo) que permiten al material vegetal su adecuado desarrollo. La condición de esterilidad es esencial para garantizar el éxito del cultivo. Sin embargo, en ocasiones durante un ensayo en laboratorio se puede presentar contaminación con microorganismos, ya sean hongos filamentosos, levaduras, bacterias, virus y viroides, patógenos o no de las plantas cultivadas en condiciones naturales. Los mismos pueden ser introducidos con el explante inicial, durante las manipulaciones en el laboratorio o por microartrópodos generando grandes pérdidas en laboratorios comerciales y de investigación de cultivos de células y tejidos vegetales<sup>1,2</sup>. El objetivo del ensayo consistió en evaluar el efecto de contaminantes microbianos en el desarrollo de semillas de *Erythrina crista-galli* en condición *in vitro*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Desinfección de semillas

Semillas de *Erythrina crista-galli* fueron lavadas y esterilizadas con una mezcla de alcohol:peróxido de hidrógeno 1:1, y posteriormente se las depositó en placas de petri con algodón previamente esterilizados y se las llevó a incubación en oscuridad durante 3 días.

#### Germinación de semillas

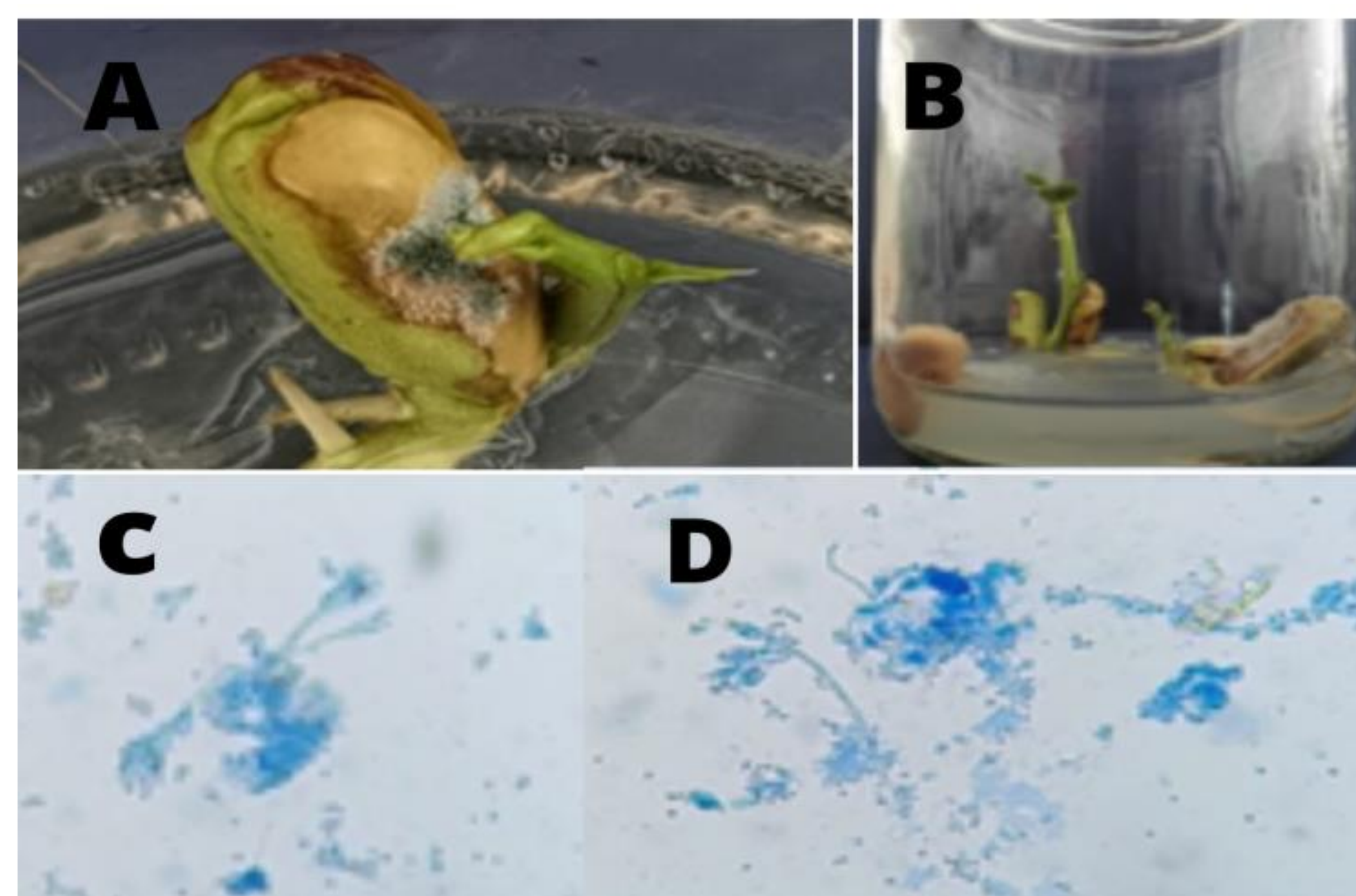
Luego las semillas pre-germinadas fueron transferidas a frascos con medio Murashige & Skoog agarizado al 0.5X de su concentración.

#### Identificación de agentes contaminantes

La identificación de los microorganismos contaminantes se realizó mediante microscopía utilizando azul de lactofenol para la tinción.

### RESULTADOS

Como se observa en la Fig. 1A las semillas contaminadas presentan un desarrollo pobre del vástago y de la zona radicular en comparación a la semilla sin contaminarse que presenta un crecimiento. En la Fig. 1B se observa la contaminación desde la propia semilla. En las figuras 1C y 1D se observan los conidios que forman la estructura de pincel, característico del género *Penicillium*.



**Fig1. A:** Comparación entre semillas contaminadas y libres de contaminación en un mismo medio de cultivo.

**Fig1. B:** Semilla con desarrollo inhibido por la contaminación.

**Fig1. C y D:** Visualización del agente contaminante en microscopio (A: 40X)

### CONCLUSIONES

Se observó una inhibición en el desarrollo del vástago y la raíz de las semillas de *Erythrina crista-galli* por la presencia del hongo *Penicillium* sp. en el medio de cultivo.

### REFERENCIAS

- Espinosa-Leal CA, Puente-Garza CA, García-Lara S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta*. 2018, 248(1):1–18.
- Leifert, C & Cassells, AC. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In vitro CellDev. Biol. Plant*, 2001, 37(2): 133-138