**Efectividad de la combinación de desinfectantes y ultrasonidos en la desinfección de semillas de *Orobanche ramosa* L. para su cultivo *in vitro*.**

**Effectiveness of the combination of disinfectants and ultrasounds in the disinfection of *Orobanche ramosa* L. seeds for *in vitro* culture.**

Lic. Rosario Domínguez Larrinaga1\*, Dr. Yunior Miguel Morán Gómez2, MsC. Isabel Márquez Leyva*3*

*1Instituto de Investigaciones del Tabaco.* *biologia7@iitabaco.co.cu* *, Carretera a Tumbadero, km 8 y ½, San Antonio de los Baños, Artemisa. Cuba.*

 *2 Instituto de Investigaciones del Tabaco.* *biologia8@iitabaco.co.cu* *, Carretera a Tumbadero, km 8 y ½, San Antonio de los Baños, Artemisa. Cuba.*

*3* *Instituto de Investigaciones del Tabaco.* *quimica@iitabaco.co.cu* *, Carretera a Tumbadero, km 8 y ½, San Antonio de los Baños, Artemisa. Cuba.*

**Resumen**

El estudio *in vitro* de potenciales biocontroles de *O. ramosa* constituye un elemento importante para su control. La desinfección de sus semillas por métodos tradicionales es poco efectiva, pues las irregularidades de la testa impiden la acción de los desinfectantes. Los ultrasonidos junto a soluciones limpiadoras, actualmente se aplican para eliminar contaminantes superficiales. El objetivo del trabajo fue determinar la efectividad de la combinación de desinfectantes y ultrasonidos en la desinfección de semillas de *O. ramosa* para su cultivo *in vitro*. Se determinó el efecto mecánico sobre las semillas de tres tiempos de exposición a los ultrasonidos (3; 5 y 10) min. Se probaron tres desinfectantes, con y sin la aplicación de ultrasonidos: formaldehido (0,5 %); hipoclorito (5 %) e hipoclorito (1 %). Las semillas desinfectadas se sembraron en los medios AN, PDA y MS para comprobar la eficacia de la desinfección. La viabilidad se evaluó con tinciones de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 1 %. Para corroborar la viabilidad se estableció el patosistema Orobanque-tabaco en suelo. Solamente a los tres minutos de exposición no se apreciaron daños mecánicos en las semillas. El método de desinfección que empleó hipoclorito (5 %) y 3 min de ultrasonidos fue el más efectivo. Los ensayos de viabilidad con TTC (para los 3 min de ultrasonidos) revelaron que todos los desinfectantes conservaron la viabilidad de las semillas, lo que se corroboró con los resultados obtenidos en el patosistema en suelo. Se demostró que la utilización de ultrasonidos incrementa la efectividad de la desinfección de semillas de *O. ramosa*.

**Palabras clave:** cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio, hipoclorito, viabilidad de semillas

**Abstract**

The study *in vitro* of potential *O. ramosa* biocontrols constitutes an important element for its control. The disinfection of their seeds, by traditional methods, are not effective, because the irregularities of the testa prevent the action of the disinfectants. Nowadays both, ultrasounds treatment and cleaning solutions are applied to remove superficial contaminants. The aim of this work was to determine the best combination of ultrasounds and disinfectants in the *O. ramosa* seeds disinfection for *in vitro* culture. The mechanical effect of three ultrasounds exposure times (3; 5 and 10) min on the seeds integrity was determined. Three disinfectants were tested, with and without the application of ultrasounds: formaldehyde (0.5 %); hypochlorite (5 %) and hypochlorite (1 %). The disinfected seeds were spread in AN, PDA and MS media to check the disinfection effectiveness. Seeds viability was evaluated with staining of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) at 1 %. To confirm this viability, the Orobanque-tobacco pathosystem was established on soil. Only after three minutes of exposure mechanical damages to the seeds appear. The combination of hypochlorite (5 %) and ultrasounds for three minutes was the most effective, because it did not show contamination in any of the three media proved. The tests with TTC (at 3 min ultrasounds) revealed that all the disinfectants preserved the viability of the seeds. This was corroborated on soil with the pathosystem. Finally, it was demonstrated that the use of ultrasounds increases the effectiveness of the disinfection of *O. ramosa* seeds.

**Key words:** chloride of 2,3,5-tripheniltetrazolium, hypochlorite, seed viability