

Evaluación del efecto de reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)

Fernando Andrés Gavica Ayala

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación del efecto de reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Fernando Andrés Gavica Ayala

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Evaluación del efecto de reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)

Fernando Andrés Gavica Ayala

Resumen. El camote es un cultivo de alto valor en los trópicos y subtrópicos como fuente principal de calorías y por su alto contenido de vitaminas y minerales. La propagación de camote a través de cultivo *in vitro* se ha convertido en una herramienta indispensable por la demanda de plantas libres de patógenos. Debido a que los fertilizantes son similares en composición a los reactivos químicos usados en los medios de cultivo para tejidos vegetales, se pueden usar como alternativa de bajo costo y disponibilidad local. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de reemplazar los cinco reactivos químicos por fertilizantes en los macroelementos del medio de cultivo Murashige y Skoog modificado para la micropropagación de camote. Los explantes se establecieron en cuatro tratamientos donde los macroelementos se aportaron como: 1. reactivos químicos (testigo); 2. fertilizantes; 3. nitratos como fertilizantes y tres reactivos químicos y 4. nitratos como reactivos químicos y tres fertilizantes. Se realizó la equiparación molar de los reactivos químicos y fertilizantes. Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y cincuenta repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron porcentaje de sobrevivencia, número de meristemos y raíces a los 7, 14 y 21 días. Se determinó que el reemplazar reactivos químicos por fertilizantes en los macroelementos es factible en la formación *in vitro* de meristemos y raíces en etapa de multiplicación de subcultivos dos y tres de camote.

Palabras clave: Fertilizante, micropropagación de batata, reactivo químico.

Abstract. Sweet potato is a high-value crop in the tropics and subtropics as the main source of calories and its good content of vitamins and minerals. The propagation of sweet potato through *in vitro* culture has become an indispensable tool for the demand of pathogen-free plants. Since fertilizers are similar in composition to chemical reagents used in tissue culture, these substances can be used as a low-cost alternative and local availability. The purpose of the study was to evaluate the effect of replacing five chemical reagents for fertilizers in the macro elements of the basal medium Murashige and Skoog modified for the micropropagation of sweet potato during the multiplication stage. The explants were established in four treatments, the control treatment consisted of the use of chemical reagents, in another treatment fertilizers were used, in the third one nitrates were used as fertilizers plus three chemical reagents and the last treatment had nitrates as chemical reagents plus three fertilizers. A completely randomized design with four treatments and fifty repetitions per treatment was used. The variables evaluated were percentage of survival, contamination of the *in vitro*-cuttings, number of meristems and roots at 7, 14 and 21 days. It was determined that the replacement of chemical reagents for fertilizers in the macro elements is feasible for the *in vitro* formation of meristems and roots in subculture multiplication stage two and three of sweet potato.

Key words: Chemical reagent, fertilizer, sweet potato micropropagation.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4. CONCLUSIÓN	11
5. RECOMENDACIONES	12
6. LITERATURA CITADA	13

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado para la multiplicación <i>in vitro</i> de camote	4
2. Fertilizantes usados para reemplazar cinco reactivos químicos de los macroelementos de Murashige y Skoog para multiplicación <i>in vitro</i> de camote	5
3. Tratamientos evaluados y su composición química para reemplazar cinco reactivos químicos de los macroelementos de Murashige y Skoog para multiplicación <i>in vitro</i> de camote	5
4. Diferencia de nutrientes aplicados en el medio de multiplicación <i>in vitro</i> de camote al reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes	6
5. Meristemos por <i>vitro</i> -esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo dos a los 7, 14, 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes	8
6. Meristemos por <i>vitro</i> -esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo tres a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes	9
7. Raíces por <i>vitro</i> -esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo dos a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes	9
8. Raíces por <i>vitro</i> -esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo tres a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes	10
Figura	Página
1. Multiplicación <i>in vitro</i> de camote. A- Plántulas en etapa de multiplicación. B- Corte de hojas en los <i>vitro</i> esquejes. C- Vitro esquejes sin hojas. D- Segmentos nodales de camote	3

1. INTRODUCCIÓN

El camote es una de las plantas alimenticias de mayor valor en los trópicos y subtropicos como fuente principal de calorías y por su buen contenido de vitaminas y minerales (León 1987). El camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), fue domesticado en Sudamérica alrededor de los años 8000-6000 AC. Colombia, Ecuador, Guatemala y el norte de Perú son los países con la mayor diversidad en germoplasma de camote (FAO 2013). A causa del cambio climático se pronostica que el camote presentará una reducción en el rendimiento entre 1% y 30% en América Latina y el Caribe, esto representa un gran efecto en reducción empleos, seguridad alimentaria y aumento de precios (Samariego 2015).

La producción de camote en Honduras ha incrementado según las estadísticas de los años 2005 fue de 3400 t y 2014 fue de 7280 t (FAOSTAT 2014). La exportación también ha incrementado, en el año 2005 fue de 1425 t y en el año 2016 fue de 11104 t (BCH 2017). Las plagas más importantes son: gallina ciega (*Phyllophaga spp.*), gusano de alambre (*Agriotes sp.*) y roedores. Las enfermedades que afectan este cultivo son mildiu blanco (*Albugo ipomoeae-panduratae*), pudrición de la raíz (*Fusarium solani*), pudrición bacteriana (*Erwinia chrysanthemi*) y complejos virales (León et al. 2013).

El cultivo se propaga asexualmente por esquejes que forman raíces en los nudos, produciendo plantas hijas (FAO 2013). La propagación clonal rápida y masiva mediante el cultivo de tejidos vegetales del camote, es una alternativa que contribuye a incrementar su producción. El camote ha sido micropropagado mediante regeneración organogénica a partir de diferentes tejidos como fuente de explante: hojas, peciolo y peciolo con hojas intactas, embriones a partir de hipocótilos y meristemos (García y Serrano 2010).

La propagación de plantas a través de las técnicas de cultivo *in vitro* se ha convertido en una herramienta indispensable en la agricultura moderna. Gran parte de este éxito se debe al desarrollo de medios de cultivo como el de Murashige y Skoog (MS) publicado en 1962 (Azofeifa et al. 2008). Los ingredientes primordiales en el medio de cultivo son agua, sustancias orgánicas e inorgánicas ya que son esenciales para el desarrollo de la planta. Al hacer modificaciones a la formulación, es importante suministrar nutrientes según las necesidades del cultivo, los fertilizantes pueden ser fuente de estos nutrientes y resultan a menor costo en relación a los reactivos químicos usados en el laboratorio (Sharry et al. 2015). Los reactivos usados para la micropropagación son sustancias inorgánicas como los macro y micro nutrientes, orgánicos como aminoácidos, vitaminas y reguladores de crecimiento como auxinas y citocininas (Sharry et al. 2015). Los insumos agrícolas son parte de las enmiendas que aplican los agricultores para favorecer o mejorar el desarrollo y la producción de los cultivos, entre ellos están fertilizantes, plaguicidas, fungicidas, insecticidas y adecuadores de suelos (García 2009). Debido a que los componentes de algunos de los fertilizantes son similares en composición a los componentes de los reactivos

químicos usados en cultivo de tejidos, se pueden usar estas sustancias en la micropropagación como alternativa de bajo costo (Suárez y Hernández 2008).

El objetivo del estudio fue:

- Evaluar el efecto de reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes en la formulación de macronutrientes del medio de cultivo Murashige y Skoog durante la fase de multiplicación *in vitro* de camote subcultivos uno y dos.

2. METODOLOGÍA

Localización del estudio.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Establecimiento *in vitro* de explantes.

Para el establecimiento del cultivo se usaron domos meristemáticos provenientes de yemas axilares de camote de la variedad Bush Buck. Los *in vitro* – esquejes resultantes de la etapa de establecimiento y multiplicación subcultivo uno se dividieron en segmentos nodales (Figura 1) y posteriormente se colocaron en frascos de vidrio que contenían medio de cultivo con los tratamientos que se evaluaron. Es importante señalar que los cultivos durante las etapas de establecimiento y multiplicación subcultivo uno, permanecieron en medio de cultivo preparado con reactivos químicos.

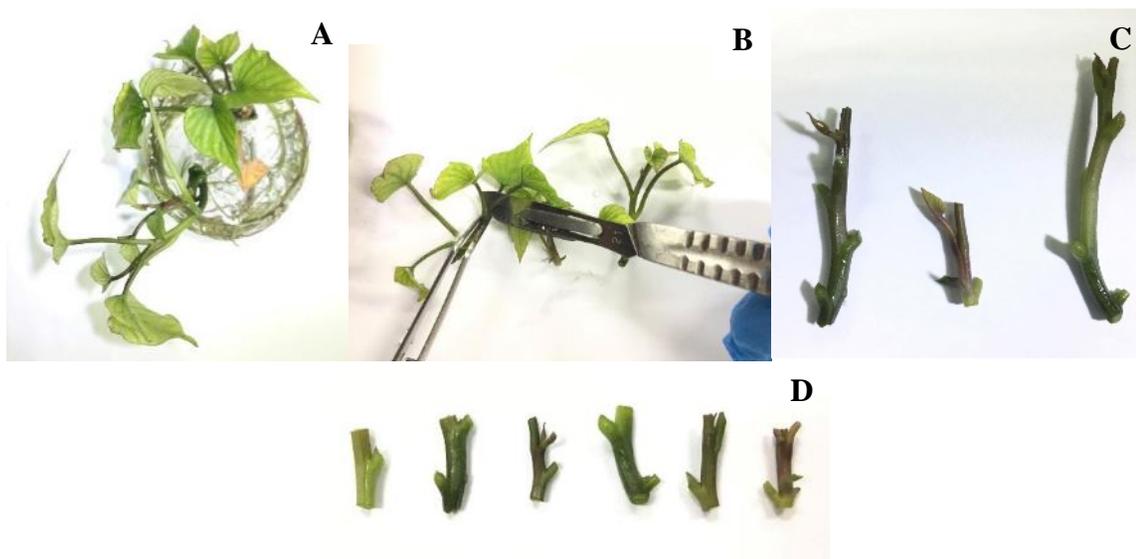


Figura 1. Multiplicación *in vitro* de camote. A- Plántulas en etapa de multiplicación. B- Corte de hojas de los *in vitro* esquejes. C- *In vitro* esquejes sin hojas. D- Segmentos nodales de camote.

Preparación y manejo del material vegetal. La siembra se realizó en condiciones de asepsia dentro de la cámara de flujo laminar horizontal, la cual se encendió con 30 minutos de anticipación y se desinfectó con etanol al 70%. Las pinzas y los bisturís usados fueron previamente lavados con agua y jabón, desinfectados con etanol al 70% y esterilizados durante 15 segundos en esterilizador de calor seco a 250 – 300 °C.

Medio de cultivo.

Se usó la formulación de Jarret (1991) basada en la de Murashige y Skoog (Cuadro 1). Se ajustó el pH a 5.8, los medios fueron solidificados con Phytigel® (agente gelatinizante), y se esterilizaron en autoclave a 150 °C, 15 PSI por 20 minutos. Para el reemplazo de los reactivos químicos por fertilizantes en la fórmula de macroelementos de Murashige y Skoog se hizo equiparación molar.

Cuadro 1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado para la multiplicación *in vitro* de camote.

Componentes	Fórmula	mg/L
Macroelementos	NH ₄ NO ₃	1650.000
	KNO ₃	1900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370.000
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440.000
	KH ₂ PO ₄	170.000
Microelementos	H ₃ BO ₃	6.200
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	KI	0.830
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600
	FeNa EDTA	50.000
Inositol		100.000
Tiamina		0.400
Sacarosa		70000.000

Fuente: (Jarret 1991)

Tratamientos evaluados.

Se reemplazaron las cinco sales minerales de la formulación de macroelementos de Murashige y Skoog por fertilizantes de alta solubilidad usados en hidroponía (Cuadro 2). Se evaluaron cuatro tratamientos, el tratamiento testigo fue preparado usando reactivos químicos y otros tres donde se hizo el reemplazo (Cuadro3). Se realizó la equiparación molar de los reactivos químicos y fertilizantes con el objetivo de proveer la misma cantidad de nutrientes que proveen los reactivos químicos de la fórmula MS (Cuadro 4).

Cuadro 2. Fertilizantes usados para reemplazar cinco reactivos químicos de los macroelementos de Murashige y Skoog para multiplicación *in vitro* de camote.

Fórmula química	Nombre Común	Fórmula (N-P-K-Ca-Mg-S-Cl)	mg/L
NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	34.5-0-0-0-0-0-0	1640
KNO ₃	Nitrato de potasio	13.5-0-36.5-0-0-0-0	2040
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio	0-0-0-0-9.8-13-0	372
CaCl ₂	Cloruro de calcio	0-0-0-93-0-0-93	440
KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	0-52-34-0-0-0-0	170

Cuadro 3. Tratamientos evaluados y su composición química para reemplazar cinco reactivos químicos de los macroelementos de Murashige y Skoog para multiplicación *in vitro* de camote.

Componente	Tratamientos			
	Testigo	Fertilizantes	FertRQ	RQFert
NH ₄ NO ₃	RQ	Fert	Fert	RQ
KNO ₃	RQ	Fert	Fert	RQ
MgSO ₄ .7H ₂ O	RQ	Fert	RQ	Fert
CaCl ₂ .2H ₂ O	RQ	Fert	RQ	Fert
KH ₂ PO ₄	RQ	Fert	RQ	Fert

RQ: reactivos químicos

Fert: fertilizantes

FertRQ: fertilizantes y reactivos químicos

RQFert: reactivos químicos y fertilizantes

Cuadro 4. Diferencia de nutrientes aplicados en el medio de multiplicación *in vitro* de camote al reemplazar cinco reactivos químicos por fertilizantes.

Insumo	Reactivo químico		Fertilizante		Diferencia		Diferencia	
	%	mg	%	mg	mg	%		
NH ₄ NO ₃	N 35.00	577.50	N 34.50	565.80	-11.70		-2.03	
KNO ₃	N 13.90	263.40	N 13.50	275.40	12.03		4.57	
	K 38.60	733.70	K 36.51	744.80	11.15		1.52	
MgSO ₄ .7H ₂ O	Mg 9.80	36.10	Mg 9.80	36.50	0.36		0.99	
	S 13.00	48.10	S 13.00	48.40	0.23		0.48	
CaCl ₂ .2H ₂ O	Ca 26.66	117.30	Ca 33.95	117.10	-0.19		-0.17	
	Cl 46.66	205.30	Cl 59.18	204.20	-1.16		-0.56	
KH ₂ PO ₄	K 28.26	48.00	K 28.21	48.00	-0.08		-0.17	
	P 22.46	38.20	P 22.70	38.60	0.41		1.07	
+5 Fertilizantes								
	N 48.90		N 48.00		0.33		0.04	
	K 66.86		K 64.72		11.07		1.42	
	Mg 9.80		Mg 9.80		0.36		0.99	
	S 13.00		S 13.00		0.23		0.48	
	Ca 26.66		Ca 33.95		-0.19		-0.17	
	Cl 46.66		Cl 59.18		-1.16		-0.56	
	P 22.46		P 22.7		0.40		1.04	

Durante la preparación de medios de cultivo, se observó una alta solubilidad de todos los productos comerciales (fertilizantes) empleados en la formulación. La compra de los productos no requirió permisos, tiempo o trámites como ocurre con productos de grado reactivo que no se encuentran en su mayoría en el país, por lo cual es necesario importarlos. Al día 21 de incubación en los tratamientos, los microesquejes formados fueron extraídos para subcultivo en los mismos tratamientos.

Incubación.

Los cultivos fueron incubados a 24 °C, con una humedad relativa 70%, con intensidad lumínica de 2 klx y un fotoperiodo de 16 horas luz por lámparas fluorescentes.

Variables evaluadas.

Las variables evaluadas fueron supervivencia, número de nudos, número de raíces a los días 7, 14 y 21 para el subcultivo dos y número de nudos, número de raíces a los días 7, 14 y 21 para el subcultivo tres.

Diseño experimental.

Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cinco tratamientos y 50 repeticiones por tratamiento. Cada contenedor contenía dos explantes (unidades observacionales) y cada contenedor fue una repetición.

Análisis estadístico.

Se realizó un Análisis de Varianza con separación de medias con el método de Duncan y nivel de significancia ($P \leq 0.05$). Para el análisis se usó el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS[®] versión 9.4).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobrevivencia y Contaminación.

El experimento presentó 100% de sobrevivencia y 0% de contaminación de los *vitro*-esquejes, debido a la inocuidad que hubo en la multiplicación.

Multiplicación subcultivo dos y tres.

Los tratamientos no presentaron diferencia significativa en la variable número de meristemas formados por esquejes en los días 7, 14 y 21 tanto para el subcultivo dos como para el tres (Cuadros 5 y 6). Estos resultados concuerdan con los de Montenegro et al. (2014) quienes reemplazaron reactivos químicos por fertilizantes en el medio de cultivo *in vitro* de banano e hicieron equiparación molar de los nutrientes y no obtuvieron diferencias significativas en cuanto al número de brotes por explante formados.

Cuadro 5. Meristemas por *vitro*-esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo dos a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes.

Tratamientos	Días		
	7	14	21
Testigo	1.90 [¥]	2.22 [¥]	3.24 [¥]
Fert	1.90	2.22	3.00
FertRQ	1.80	2.28	3.08
RQFert	2.04	2.34	3.38
Prueba F	1.52	0.38	2.00
Coefficiente de variación	29.66	28.98	26.67
Grados de libertad	199.00	199.00	199.00
Probabilidad	0.21	0.76	0.11

[¥]: No hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Cuadro 6. Meristemas por *vitro*-esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo tres a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes.

Tratamientos	Días		
	7	14	21
Testigo	1.64 [¥]	1.92 [¥]	2.88 [¥]
Fert	1.54	1.70	2.84
FertRQ	1.62	1.88	2.82
RQFert	1.60	1.88	2.66
Prueba F	0.38	1.87	0.83
Coefficiente de variación	30.84	27.58	26.83
Grados de libertad	199.00	199.00	199.00
Probabilidad	0.76	0.13	0.48

[¥]: No hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Para la variable número de raíces, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos para los subcultivos dos y tres evaluados (Cuadros 7 y 8). Romero et al. (2007) reemplazaron reactivos químicos por fertilizantes en el cultivo *in vitro* de *Laelia anceps* e hicieron equiparación molar de los nutrientes y no obtuvieron diferencias significativas en cuanto al número de raíces.

Cuadro 7. Raíces por *vitro*-esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo dos a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes.

Tratamientos	Días		
	7	14	21
Testigo	1.86 [¥]	2.00 [¥]	2.14 [¥]
Fert	1.82	1.88	1.96
FertRQ	1.88	1.92	2.06
RQFert	1.66	1.74	1.96
Prueba F	1.81	1.98	1.05
Coefficiente de variación	29.05	29.00	29.58
Grados de libertad	199.00	199.00	199.00
Probabilidad	0.14	0.11	0.36

[¥]: No hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Cuadro 8. Raíces por *vitro*-esquejes de camote en etapa de multiplicación subcultivo tres a los 7, 14 y 21 días después del reemplazo de cinco reactivos químicos por fertilizantes.

Tratamientos	Días		
	7	14	21
Testigo	1.62 [¥]	2.22 [¥]	2.54 [¥]
Fert	1.70	2.02	2.60
FertRQ	1.68	2.12	2.46
RQFert	1.62	2.02	2.32
Prueba F	0.37	1.36	1.44
Coefficiente de variación	28.93	27.66	28.76
Grados de libertad	199.00	199.00	199.00
Probabilidad	0.77	0.25	0.23

[¥]: No hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4. CONCLUSIÓN

- Reemplazar los cinco reactivos químicos por fertilizantes es factible para la formación *in vitro* de meristemas y raíces en el cultivo de camote en etapa de multiplicación subcultivos dos y tres.

5. RECOMENDACIONES

- Continuar la evaluación en los siguientes subcultivos.
- Evaluar en otras variedades de camote para ver el comportamiento en formación de meristemos y raíces.
- Realizar estudio de costos de producción *in vitro* de camote en medio de fertilizantes y reactivos químicos.

6. LITERATURA CITADA

- Azofeifa A, Guevara E, Jiménez VM. 2008. Uso de abonos foliares comerciales en la elaboración de medios de cultivo *in vitro*. Costa Rica: Centro de Investigación de Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. Redalyc. [consultado 2017 jun 12]. http://www.mag.go.cr/rev_agr/v32n02-149.pdf
- BCH (Banco Central de Honduras). 2017. Estadística de comercio, rubros varios. Honduras, Tegucigalpa. [consultado 2017 jul 21]. <http://agronegocios.sag.gob.hn/informacion-de-mercados/estadisticas-de-comercio/>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2013. Material de propagación de calidad declarada: Protocolos y normas para cultivos propagados vegetativamente. Italia. [consultado 2017 jul 22]. <http://www.fao.org/3/a-i1195s.pdf>
- FAOSTAT (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2014. Producción de camote. Honduras. [consultado 2017 jul 13]. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- García M, Serrano H. 2010. Tecno Agro. El camote (*Ipomoea batata*), raíz tuberosa, su micropropagación y algunos aspectos de biotecnología. [consultado 2017 jun 21]. 1–4 p. <https://tecnoagro.com.mx/revista/2010/no-65/el-camote-ipomoea-batata-raiz-tuberosa-su-micro-propagacion-y-algunos-aspectos-de-su-biotecnologia/>
- García N. 2009. Uso de plaguicidas e insumos agrícolas. Reducción del escurrimiento de plaguicidas al mar caribe, 1era ed. Medellín (Colombia): Comunicaciones Augura; [consultado 2017 jul 21]. <http://cep.unep.org/repcar/proyectos-demostrativos/colombia-1/publicaciones-colombia/cartilla-plaguicidas-definitiva.pdf>
- Jarret LR. 1991. Cultivo de tejidos de camote. In: William M. Roca, Luis A. Mroginski editores. Cultivo de tejidos en la Agricultura Fundamentos y aplicaciones. Cali (Colombia). CIAT (Centro Internacional de la Agricultura Tropical). 422–446 p.

- León B, Martínez M, López M, Rodríguez L, Ardón C, Rodríguez I. 2013. Manual de manejo del cultivo de camote. Honduras. [consultado 2017 may 15]. 11–15 p. www.agronegocioshonduras.org/wpcontent/uploads/2014/06/manual_de_cultivo_de_camote_para_exportacion_pdf.
- León J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. [consultado 2017 jun 18]. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A9791E/A9791E.PDF>
- Montenegro JFE, Rojas IC, Quevedo CD, Delgado PGE. 2014. Efecto del SULPOMAG compuestos orgánicos como sustitutos parciales del medio de cultivo de micropropagación de *Musa* sp. CV. Cavendish; [consultado 2017 jun 16]. 147–159.
- Romero R, Luna B, Barba A. 2007. Uso de complejos comerciales como sustitutos de componentes del medio de cultivo en la propagación *in vitro* de *Laelia anceps*. Universidad de Costa Rica. 5 p.
- Samariego J. 2015. La economía del cambio climático en América Latina y el Caribe: Paradojas y desafíos del desarrollo sostenible. Naciones Unidas, Santiago de Chile: Comisión Económica para América Latina y el Caribe. [consultado jul 22]. <http://www.cepal.org/es/publicaciones/37310-la-economia-cambio-climatico-america-latina-caribe-paradojas-desafios-desarrollo>
- Sharry S, Adema M, Abedini W. 2015. Plantas de probeta: Manual de propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. Argentina: Universidad Nacional de La Plata. 241 p.
- Suárez L, Hernández M. 2008. Efecto de una mezcla de Oligogalacturónidos en la propagación *in vitro* de la Yuca (*Manihot esculenta* Crantz), var. CMC-40. Cultivos Tropicales. INCA; [consultado 2017 jul 21]. 29(3): 47–52 p. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000300007.