

**Establecimiento *in vitro* de
Alocasia cucullata y *Alocasia longiloba*
-watsoniana- a partir de yemas axilares**

Elmer Edgardo Ruano Delgado

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

**Establecimiento *in vitro* de
Alocasia cucullata y *Alocasia longiloba*
-watsoniana- a partir de yemas axilares**

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

Presentado por

Elmer Edgardo Ruano Delgado

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2015

**Establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata*
y *Alocasia longiloba -watsoniana-*
a partir de yemas axilares**

Presentado por:

Elmer Edgardo Ruano Delgado

Aprobado:

María Alexandra Bravo, M.Sc.
Asesora Principal

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Cinthya Martínez, M.B.A.
Asesora

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba -watsoniana-* a partir de yemas axilares

Elmer Edgardo Ruano Delgado

Resumen: *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba -watsoniana-* son ornamentales de importancia comercial por lo que la micropropagación es una herramienta eficiente para su propagación masiva. Los objetivos de estudio fueron evaluar el efecto de medio líquido con puente de papel filtro y medio semisólido en el establecimiento *A. cucullata* y evaluar el efecto de dos medios de cultivo en el establecimiento de *A. longiloba -watsoniana-*. Para el establecimiento de *A. cucullata*, se usó el medio MS modificado y suplementado con 0.2 mg/L ANA (Ácido naftalenacético) + 2 mg/L de Kinetina (6-fufurilaminopurina) y se probó medios semisólido (con Phytigel®) y líquido (con puente de papel filtro). Para el establecimiento de *A. longiloba -watsoniana-* se usó el medio MS modificado y suplementado con 0.2 mg/L ANA + 2 mg/L BAP (6-bencilaminopurina) 2 mg/L BAP. En ambos experimentos se usó un DCA y una prueba *t* para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Las variables a medir fueron porcentaje de explantes con brote y raíz. En el establecimiento de *A. cucullata* no hubo diferencias significativas entre los tratamientos se observó 52% de explantes con brote en medio líquido y 46% en medio semisólido. En *A. longiloba -watsoniana-* el mejor medio para su establecimiento fue el suplementado 0.2 mg/L ANA+2 mg/L BAP con un 22% de explantes con brote. Para la variable raíces no hubo diferencia significativa en ningún experimento. Se logró establecer ambas especies y lograr la formación de brotes a partir de yemas axilares. *A. cucullata* se logró establecer en medio semisólido y medio líquido con puente. *A. longiloba -watsoniana-* se estableció mejor con 0.2 mg/L ANA+2 mg/L BAP.

Palabras clave: ANA, BAP, brotes, Kinetina.

Abstract: *Alocasia cucullata* and *Alocasia longiloba -watsoniana-* are commercially important ornamental, consequently the micropropagation is an efficient tool for mass propagation. These study objectives were to establish *in vitro* both species. For the establishment of *A. cucullata*, the modified MS medium was used and supplemented with 0.2 mg /L naphthaleneacetic acid (NAA) + 2 mg /L kinetin (6- fufurilaminopurine) and semisolid medium were tested (with Phytigel®) and liquid (with filter paper bridge). For the establishment phase of *Alocasia longiloba -watsoniana-* the modified MS medium was used and tested with two treatments supplementing the medium with 0.2 mg/L (NAA) + 2 mg/L BAP (6-benzylaminopurine) 2 mg /L BAP. In both experiments a completely randomized design was used. The variable measured was percentage of explants with shoot and root formation. In the establishment of *A. cucullata* there were no significant differences between the liquid or semisolid treatments for any of the variables evaluated with a 56% of explantes with shoot development in the liquid and 46% in the semisolid medium. For *A. longiloba -watsoniana-* the best treatment for its establishment was the medium supplemented with 0.2 mg /L NAA + 2 mg /L BAP with 22% of explants with shoot. For the roots variable no significant difference was observed in both experiments.

Keywords: ANA, BAP, Kinetin, shoots.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	v
Índice de cuadros y figuras.....	vi
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4 CONCLUSIONES.....	11
5 RECOMENDACIONES.....	12
6 LITERATURA CITADA.....	13

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Medio basal MS modificado para el establecimiento de yemas axilares de <i>Alocasia cucullata</i> y <i>Alocasia longiloba</i>	4
2. Porcentaje de explantes con formación de brotes y raíces de <i>Alocasia cucullata</i> y <i>Alocasia longiloba</i> – <i>watsoniana</i> - como respuesta a medio semisólido, líquido y la suplementación de ANA y BAP en el medio de cultivo MS modificado.....	10
Figuras	Página
1. Plantación madre de <i>Alocasia cucullata</i> y <i>Alocasia longiloba</i> – <i>watsoniana</i> -.....	3
2. Yemas axilares de <i>Alocasia cucullata</i> y <i>Alocasia longiloba</i> – <i>watsoniana</i> -.....	5
3. Extracción de escamas y remoción del exceso de material vegetal. Cormo con yemas cubiertas, yemas de <i>Alocasia cucullata</i> y <i>Alocasia longiloba</i> – <i>watsoniana</i> - descubiertas.....	6
4. Siembra de yemas axilares de <i>Alocasia cucullata</i> en medio semisólido y medio líquido con puente de papel filtro.....	6
5. Siembra de yemas axilares de <i>Alocasia cucullata</i> - <i>watsoniana</i> - en medio semisólido.....	7
6. Yema axilar de <i>Alocasia cucullata</i> a los siete, 15 y 21, días después de su siembra.....	8
7. Yema axilar de <i>Alocasia longiloba</i> - <i>watsoniana</i> - a los siete, 15 y 21 días después de su siembra.....	9

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos se practica con mucho éxito en especies ornamentales, en algunos casos esta técnica ha demostrado importantes ventajas en comparación con los sistemas convencionales de propagación. Entre las ventajas más importantes están la obtención de gran cantidad de plantas libres de enfermedades en corto tiempo y área reducida (Bhatt *et al.* 2013).

El género *Alocasia* pertenece a la familia *Araceae* y contiene alrededor de 120 géneros, y 2000 especies, es un género grande y morfológicamente muy diverso (Walters *et al.* 2003). Se encuentran principalmente en los bosques tropicales de Asia meridional y sudoriental (Paek 2001). *Alocasia* es monocotiledónea herbácea, terrestre, hoja perenne y rizomatosa. Las características extravagantes y exóticas del follaje la hacen apta para el cultivo como planta ornamental de interior (Adelberg y Toler 2004).

Muchas especies de *Alocasia* son endémicas (Boyce *et al.* 2008). Según la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), *Alocasia* se encuentra entre las especies endémicas en peligro de extinción (UICN, 2010). Las especies de *Alocasia* se propagan convencionalmente a través de semillas y bulbos (Geier 1986), sin embargo, estos métodos convencionales de propagación consumen tiempo y restringen su propagación masiva (Jo *et al.* 2008).

Por lo tanto es necesario desarrollar protocolos de micropropagación para garantizar la conservación y cumplir con la demanda comercial de especies *Alocasias* (Jo *et al.* 2008). A través de la propagación *in vitro* se pueden producir plantas durante todo el año (Sanatombi y Sharma 2008).

Estudios como Jackson *et al.* (1997), los cuales demostraban que la organogénesis a partir de callos formados por partes vegetativas de la planta no generaban brotes. Años más tarde Yam *et al.* (1999) y Lin *et al.* (2000) brindaron importante información que a partir del uso de la combinación del BAP (6-Bencilaminopurina) en el medio MS (Murashige y Skoog 1962), permitía la inducción de callos, lo cuales formaban brotes y raíces en mayor cantidad.

Desde que se demostró que el medio MS (Murashige y Skoog 1962), complementado con la fitohormona BAP, era óptimo para la proliferación de brotes y raíces en especies de *Alocasias*, la propagación *in vitro* ha tenido mayor importancia (Bhatt *et al.* 2013). Esto ha permitido el desarrollo de protocolos efectivos para el establecimiento y

multiplicación de muchas especies vegetales de importancia económica (Sato y Mori 2001).

El estudio publicado por Jo *et al.* (2008), describe un protocolo eficiente de multiplicación masiva de *Alocasia amazonia*, este demostró que la combinación citocininas suplementadas en el medio MS, permitía obtener buenos resultados en la formación de brotes y raíces a las cuatro semanas de haberse establecido los explantes. Aunque la demanda comercial de *Alocasias* es alta, existe poca información de su propagación *in vitro* y especialmente para *Alocasia cucullata* (Thao *et al.* 2003).

Los objetivos de estudio fueron:

- Establecer *in vitro* *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba -watsoniana-* a partir de yema axilares.
- Evaluar el efecto de medio líquido con puente de papel filtro y medio semisólido en el establecimiento *in vitro* *Alocasia cucullata* a partir de yema axilares.
- Evaluar el efecto de dos medios de cultivo en el establecimiento *in vitro* de *Alocasia longiloba -watsoniana-* a partir de yema axilares.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. El estudio fue realizado durante los meses de mayo a octubre de 2015 en el laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales de la Carrera de Ingeniería Agronómica, perteneciente al Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Ubicada en el Valle de Yegüare, departamento Francisco Morazán a 30 km de Tegucigalpa.

Para la etapa inicial del establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba* se siguió un procedimiento general detallado a continuación:

Medio de cultivo. Se utilizó las sales minerales de Murashige y Skoog (MS) suplementadas con myo-Inositol 100 mg/L, tiamina 0.4 mg/L y sacarosa a 30 g/L (Cuadro 1) (Salazar 1991). El pH del medio se ajustó a 5.8 con ácido clorhídrico (HCL) o hidróxido de potasio (KOH) usando el pH Meter S20 Seven Easy™. Se dispensó 20 ml de medio de cultivo en frascos y 10 ml tubos de ensayo, luego el medio de cultivo fue esterilizado en autoclave Market Forge Sterilmatic STM-E™ a 15 PSI y 120 °C por 20 minutos.

Obtención del Material Vegetal. El material vegetal fue obtenido de la plantación madre de la Unidad Empresarial de Ornamentales y Propagación, de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano (Figura 1).



Figura 1. Plantación madre de *Alocasia cucullata* (A) y *Alocasia longiloba* –*watsoniana*– (B), Unidad Empresarial de Ornamentales y Propagación Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Cuadro 1. Medio Basal Murashige y Skoog, modificado para el establecimiento de yemas axilares de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba* –*watsoniana*–.

Componentes	Fórmula	Nombre Común	mg/L
Macroelementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650.000
Microelementos	H ₃ BO ₃	Ácido bórico	6.200
	CoCl ₂ .6H ₂ O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	MnSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido Etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes Orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Tiamina	0.400
		Sacarosa	30000.000

Fuente: Salazar (1991)

Desinfección del Material Vegetal. Las yemas axilares (Figura 2) se lavaron con agua potable y jabón líquido, luego se les sumergió en etanol al 70% por 20 segundos. A continuación se les sumergió por 30 minutos en una solución desinfectante de NaClO 30% (v/v) (cloro líquido comercial con hipoclorito de sodio al 4.72% de ingrediente activo).

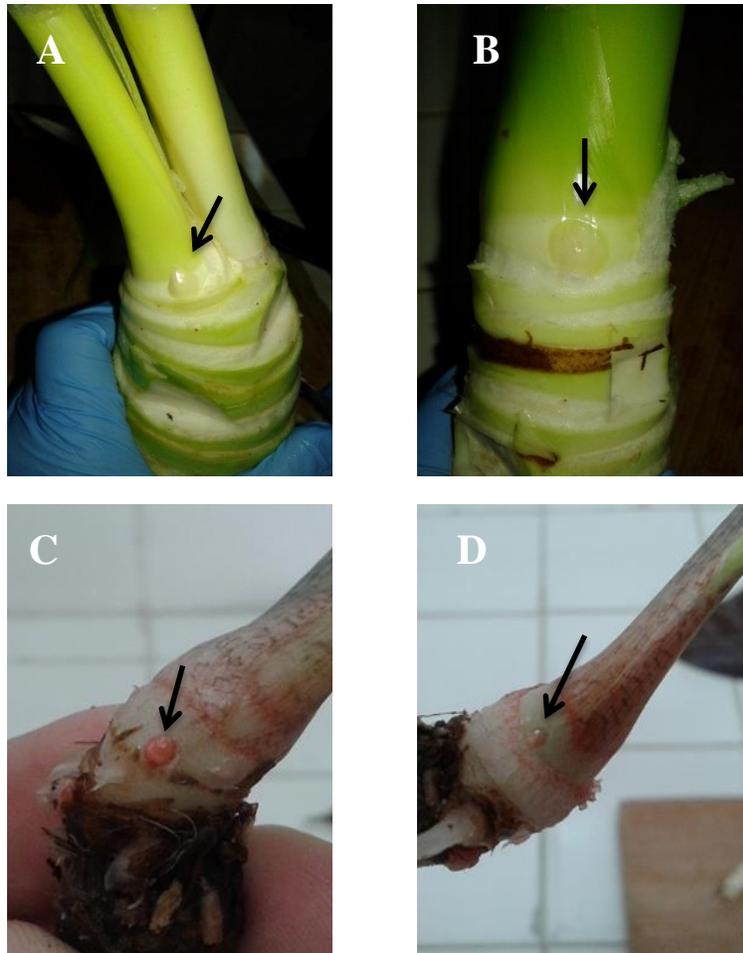


Figura 2. Yemas axilares de *Alocasia cucullata* (A y B) y de *Alocasia longiloba* –*watsoniana*- (C y D) ↓ Indica yema axilar.

Siembra de yemas axilares. La siembra se realizó dentro de una cámara de flujo laminar horizontal, desinfectada con alcohol al 70%, las pinzas y bisturíes se esterilizaron a 250°C por 15 segundos en el esterilizador de calor seco Z3378550-Steri 250™, AC input 120 V.

Los explantes se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se extrajo las escamas (capa protectora) de cada yema, se removió todo el material vegetal extra para reducir la contaminación (Figura 3). Se sembró una yema por cada contenedor con medio estéril. Finalmente los contenedores, se taparon y sellaron, y fueron trasladados al cuarto de crecimiento para su incubación a 24°C, 70% de humedad relativa, 2000 Lux y 16 horas de luz (lámparas fluorescentes Philips twister 23 W CDL™ 110 - 127 V).

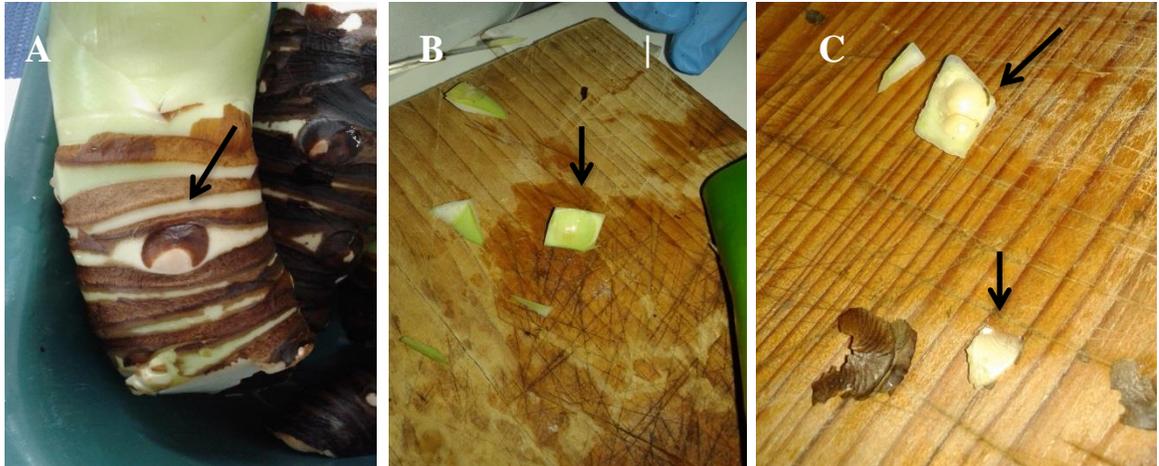


Figura 3. Extracción de escamas y remoción del exceso de material vegetal. Cormo con yemas cubiertas (A), yemas de *Alocasia culcullata* y *Alocasia longiloba* –*watsoniana*– descubiertas (B y C). ↓ Indica yema axilar.

Experimento 1. Establecimiento *in vitro* de *Alocasia culcullata*. Se evaluó el establecimiento de los explantes en medios semisólido (solificado con Phytigel® 2gr/L) y líquido con puente de papel filtro (Figura 4). La formulación usada fue la del MS (Cuadro 1), suplementado con 0.2 mg/L ANA (Ácido naftalenacético) y 2 mg/L de Kinetina (6-fufurilaminopurina) según lo publicado por Bhatt *et al.* (2013) y Jo *et al.* (2008).



Figura 4. Siembra de yemas axilares de *Alocasia culcullata* en medio semisólido (A) y medio líquido con puente de papel filtro (B).

Variables a medir. Los explantes se observaron por 21 días, evaluando contaminación y formación de brotes y raíces.

Diseño experimental. Para la evaluación estadística se usó un diseño completamente al azar (DCA), teniendo dos tratamientos (medio semisólido y líquido con puente), con tres repeticiones y cada repetición con 30 unidades experimentales.

Análisis estadístico. Se usó una prueba t para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

Experimento 2. Establecimiento *in vitro* de *Alocasia longiloba*. Se evaluó el establecimiento de los explantes en la formulación MS (Cuadro 1), usando dos tratamientos, el primero suplementado con 0.2 mg/L ANA (Ácido naftalenacético) + 2 mg/L BAP (6- bencilaminopurina), el segundo suplementado con 2 mg/L BAP según lo publicado por Bhatt *et al.* (2013).

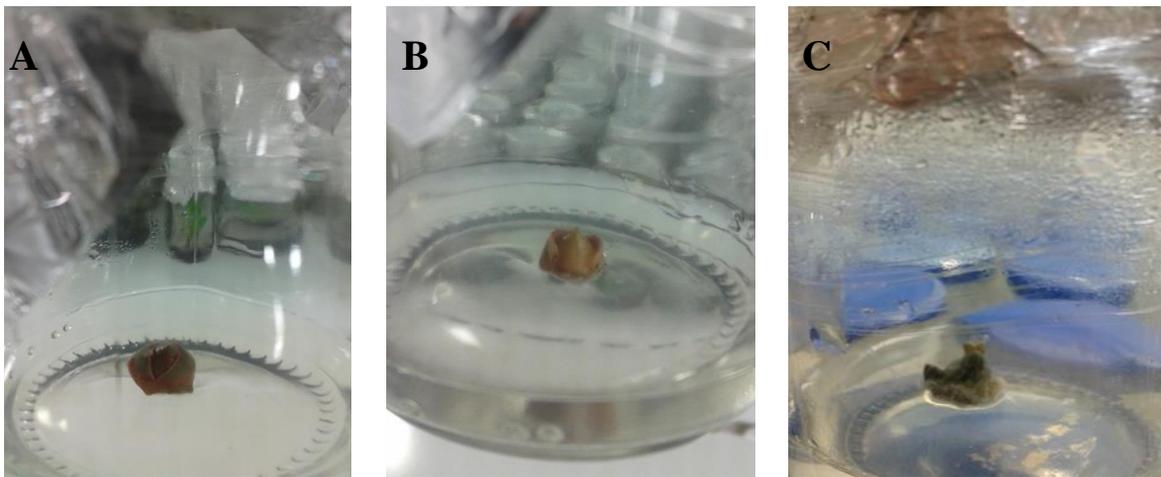


Figura 5. Siembra de yemas axilares de *Alocasia longiloba* –watsoniana- en medio semisólido (A-C).

Variables a medir. Los explantes se observaron por 21 días, evaluando contaminación y formación de brotes.

Diseño experimental. Para la evaluación estadística se usó DCA, teniendo dos tratamientos con tres repeticiones y cada repetición con 15 unidades experimentales.

Análisis estadístico. Se usó una prueba t para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final de la etapa de establecimiento (28 días) (Figura 6), se obtuvo el 47.5% de contaminación por hongos y bacterias. El crecimiento de las yemas se observó desde los siete días de su siembra se observó formación de brotes.

Experimento 1. Establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata*. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en la variable producción de brotes. Estos resultados concuerdan con la investigación Jo *et al.* (2008) quienes analizaron medios de cultivos semisólidos y líquidos para la etapa de establecimiento y multiplicación de *Alocasia amazónica* en la que concluyeron que entre los medios de cultivo semisólidos y líquidos no presentaron diferencias significativas en cuanto a la producción de brotes.

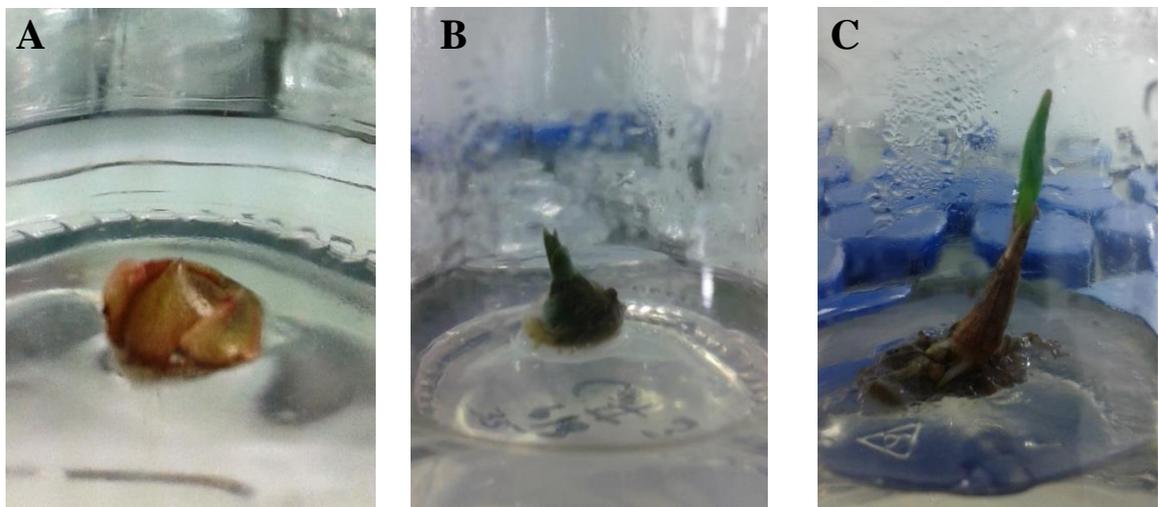


Figura 6. Yema axilar de *Alocasia cucullata* a los siete (A), quince (B) y 21 (C), días después de su siembra.

En el medio de cultivo líquido se observó un 52% (Cuadro 2), de formación de explantes con brotes, estos datos son similares a los obtenidos en la investigación realizada por Jo *et al.* (2008) y Ilan *et al.* (1995). En el medio sólido se obtuvo un 46% (Cuadro 2), de formación de brotes.

Experimento 2. Establecimiento *in vitro* *Alocasia longiloba-watsoniana*. En la etapa de establecimiento *in vitro* de *Alocasia longiloba* (Figura 7), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 2). El mejor resultado en la variable brotes se obtuvo con 0.2 mg/L ANA + 2 mg/L BAP en el cual se obtuvo un 22% de explantes con brotes, con el tratamiento a 2 mg/L de BAP, los resultados fueron de 9% explantes con brotes. (Figura 5).

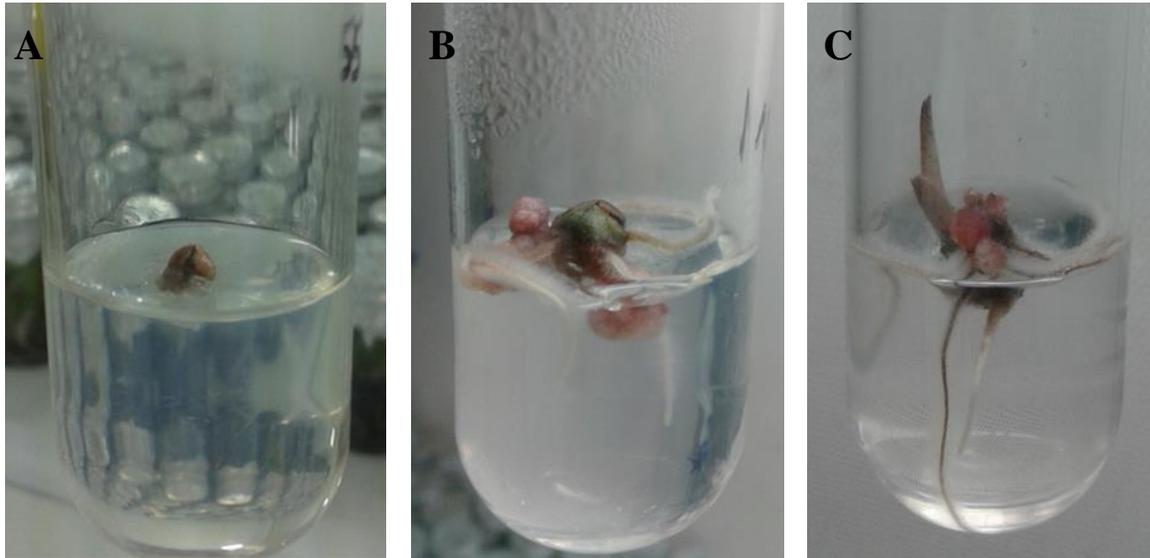


Figura 7. Yema axilar de *Alocasia longiloba-watsoniana* a los 7 (A), 15 (B) y 21 (C) días después de su siembra.

En el estudio realizado por Bhatt *et al.* (2003), concluyeron que las concentraciones a 0.2 mg/L ANA + 2 mg/L BAP y 2 mg/L BAP si mostraban diferencias significativas dejando como mejor resultado en formación de brotes el medio suplementado a 2 mg/L BAP.

Bhatt *et al.* (2013), observó que el tratamiento con 2 mg/L de BAP permitía obtener mayor cantidad de brotes, que con el tratamiento a 0.2 mg/L ANA + 2 mg/L BAP, se observó al final de la etapa de establecimiento que las unidades experimentales que habían sido sometidas al tratamiento a 2 mg/l de BAP, comenzaban a formar brotes con mayor rapidez y en mayor cantidad.

Otra diferencia importante en la formación de brotes depende del estado fisiológico de la planta para Sedlak y Paprstein (2008), la diferencia en multiplicación de brotes podría ser debido a la interacción de las auxinas y citoquininas (Ziv y Hadar 1991) presentes en los tejidos de la planta durante su etapa de crecimiento. Especies diferentes de *Alocasia* han producido diferentes respuestas en términos de producción de brotes.

En comparación con este estudio que es aplicado para la especie de *A. longiloba-watsoniana*-, los resultados son similares a los de Bhatt *et al.* (2013) al haber diferencias significativas entre ambos tratamientos. En este estudio la formación de raíces fue alta en cada tratamiento, según George y Sherrington (1984), la alta concentración de citoquinina en general puede inhibir la formación de raíces (Kim *et al.* 2003) pero no observamos eso.

La alta concentración de BAP, en el medio permitió la proliferación de brotes. El uso BAP a menudo regula las actividades de la célula como la división celular, promueve la proliferación de los brotes adventicios y axilares e inhibe la formación de raíces (Taiz y Zeiger 2010).

Cuadro 2. Porcentaje de explantes con formación de brotes y raíces de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba -watsoniana-* como respuesta a medio semisólido, líquido y la suplementación de ANA y BAP en el medio de cultivo MS modificado.

Especie	Unidades experimentales	Tratamientos	Explante con raíces (%)	Explante con brotes (%)
<i>Alocasia cucullata</i>	(n) 90	Líquido	9 ^a	52 ^a
	90	Semisólido	11 ^a	46 ^a
<i>Alocasia longiloba – watsoniana-</i>	45	MS+0.2 mg/L ANA + 2 mg/L BAP	70 ^a	22 ^a
	45	MS+2 mg/L BAP	76 ^a	9 ^b

Los tratamientos con distinta letra son significativamente diferentes, según la prueba *t* ($P \leq 0.05$)

4. CONCLUSIONES

- Se logró el establecimiento *in vitro* de *Alocasia cucullata* y *Alocasia longiloba* - *watsoniana*- a partir de yema axilares.
- *cucullata* se logró establecer en medio semisólido y medio líquido con puente.
- *longiloba* -*watsoniana*- presenta mejores resultados en el establecimiento en el medio MS suplementado con 0.2 mg/L ANA+2 mg/L BAP.

5. RECOMENDACIONES

- Aislar las plantas madres antes de su micropropagación para reducir la contaminación.
- Usar el medio suplementado con 0.2 mg/L ANA + 2 mg/L de BAP para la etapa de establecimiento de *Alocasia longiloba -watsoniana-*.
- Hacer un análisis de costos para determinar si el medio semisólido o líquido con puente es más barato.
- Continuar con las etapas de multiplicación, enraizamiento y aclimatación.

6. LITERATURA CITADA

- Adelberg, J. y J. Toler. 2004. Comparison of agar and thin-film liquid system for micropropagation of ornamental *Alocasia* and *Colocasia*. *HortScience* 39:1088–1092.
- Bhatt, A., C. Stanly y C.L. Keng. 2013. *In vitro* propagation of five *Alocasia* species, *Horticulture Brasileira*. Malaysia, Africa, School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal. 211 p.
- Boyce, P.C., B. Sulaiman y J. Lintong. 2008. A review of *Alocasia* (Araceae: Colocasieae) for Thailand including a novel species and new species records from South-West Thailand. *Thai Forest Bulletin (Botany)* 36:1-17.
- Geier, T. 1986. Factors affecting plant regeneration from leaf Callus formation and plantlet segments of *Anthurium scherzerianum* Schott (Araceae) cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 6:115–125.
- George, E.F. y P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture: Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. London: Exegetics Ltd. 254 p.
- Ilan, A., M. Ziv y A.H. Halevy. 1995. Propagation and corm development of *Brodiaea* in liquid cultures. *Horticulture Science* 63:101–112.
- Jackson, G.V.H., E.A. Ball y J. Arditti. 1997. Tissue culture of taro, regeneration in taro, *Colocasia esculenta* var. *esculenta* (L) *Colocasia esculenta* (L.) Schott. *Journal of Horticulture Science* 52: 373–382.
- Jo, E.A., R.K. Tewari, E.J. Hahn y K.Y. Paek. 2008. Effect of photoperiod and light intensity *in vitro* propagation of *Alocasia amazonica*. *Plant Biotechnology Reports* 2: 207-212.
- Kim, E.K., E.J. Hahn, H.N. Murthy y K.Y. Paek. 2003. High frequency of shoot multiplication and bulblet formation of garlic in liquid cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73:231-236.
- Lin, H.S., C. Van der Toorn, K.J.J.M. Raemakers, R.G.F. Visser, M.J.De Jeu y E. Jacobsen. 2000. Development of a plant regeneration system based on friable embryogenic callus in the ornamental present study. Such a system would facilitate the *Alstroemeria*. *Plant Cell Reports* 19:529–534.

Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum* 15:473-497.

Paek, K.Y. 2001. Regulations of microenvironments. *Plant tissue culture*. Hyangmunsa Seoul, Korea. p 341–361.

Salazar, S. 1991. Micropropagación de aráceas comestibles. In: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Roca, W., Mroginski, L (eds), Cali, Colombia. 471 p.

Sanatombi, K. y G.J. Sharma. 2008. *In vitro* plant regeneration of six cultivars of *Capsicum* spp. using different explants. *Biologia Plantarum* 52:140-145.

Sato, S. y H. Mori. 2001. Control in outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiology* 127:1405–1413.

Sedlak, J. y F. Paprstein. 2008. *In vitro* shoot proliferation of sweet cherry cultivars Karesova and Rivan. *Horticulture Science* 35:95-98.

Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. *Plant physiology* (Fifth edition). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 567 p.

Thao, N.T.P., I. Miyajima, K. Ureshino, Y. Ozak y H. Okubo. 2003. Micropropagation of Ornamental *Alocasia*. *Journal of Faculty of Agriculture Kyushu University* 47:277-282.

UICN. 2010. IUCN, red list of threatened species (on line). Consultado el 5 de junio de 2015. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>.

Walters, R.G., F. Shephard, J.J.M. Rogers, S.A. Rolfe y P. Horton. 2003. Identification of mutants of *Arabidopsis* defective in acclimation of photosynthesis to the light environment. *Plant Physiology* 131:472–481.

Yam, T.W., S. Ichihashi y J. Arditti. 1999. Callus growth and plantlet regeneration in taro, *Colocasia esculenta* var. *esculenta* (L). Schott. (Araceae). *Annals of Botany* 67:317–323.

Ziv, M. y A. Hadar. 1991. Morphogenic pattern of *Nephrolepis exaltata bostoniensis* in agar-gelled or liquid culture. Implication for mass propagation. *Israel Journal Botany* 40:7 16.