

PRESENTACIÓN

La guía práctica de cultivo in vitro de especies vegetales es el resultado del trabajo de investigación documental realizado en el año 2014, como retribución al CERS (Crédito Educativo con Responsabilidad Social) que otorga la Universidad Politécnica Salesiana a los estudiantes que solicitan apoyo económico para concluir con sus estudios. Se presentan resultados de experiencias de varios autores quienes han trabajado con tecnologías de cultivo *in vitro* con diferentes especies vegetales y han desarrollado los protocolos respectivos.

Este trabajo de compilación fue elaborado por una estudiante de la carrera de Biotecnología de los Recursos Naturales, con el acompañamiento de su docente tutora, como un aporte y contribución a los medios de consulta disponibles en la biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana y que pueda estar a disposición de estudiantes, investigadores, profesionales, agricultores y público en general que esté interesado en obtener mayor información sobre metodologías de cultivo *in vitro* de especies vegetales.

Las autoras agradecen a la Universidad Politécnica Salesiana por haber permitido desarrollar dicha investigación, sobre todo a Bienestar estudiantil por el apoyo brindado a los estudiantes a través del CERS.

Angélica Cárdenas*

Rosita Espinoza**

*Ingeniera en Biotecnología de los RR.NN de la UPS

**Ing. Agrónoma, MAE, Docente de la UPS

ÍNDICE GENERAL

PRESENTACIÓN **i**

ÍNDICE GENERAL **1**

1. AJO, <i>Allium</i> spp. Liliaceae.	13
Descripción	13
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del ajo	13
Protocolo 1	13
Protocolo 2	14
Protocolo 3	15
2. ALISO, <i>Alnus cordata</i>. Betulaceae.....	16
Descripción	17
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Alnus cordata</i>	17
Protocolo 1	17
3. ALISO, <i>Alnus glutinosa</i>. Betulaceae	18
Descripción	18
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Alnus glutinosa</i>	18
Protocolo 1	18
4. ARVEJA, <i>Pisum sativum</i>. Fabaceae.....	19
Descripción	19
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la arveja	19
Protocolo 1	19
5. BRÓCOLI, <i>Brassica oleracea</i>. Brassicaceae.....	20
Descripción	20

Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del brócoli.....	21
Protocolo 1	21
Protocolo 2	21
6. CACAO, <i>Theobroma cacao</i>. Malvaceae.....	22
Descripción	23
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del cacao	23
Protocolo 1	23
Protocolo 2	24
7. CAFÉ, <i>Coffea canephora</i>. Rubiaceae.	25
Descripción	25
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del café	25
Protocolo 1	25
Protocolo 2	26
Protocolo 3	27
Protocolo 4	28
8. CAÑA DE AZÚCAR, <i>Saccharum officinarum</i>. Poaceae.....	29
Descripción	29
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la caña de azúcar.....	30
Protocolo 1	30
Protocolo 2	31
9. CEBOLLA, <i>Allium cepa</i>. Liliaceae.	32
Descripción	32
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la cebolla.....	32
Protocolo 1	32
Protocolo 2	33
10. CEDRO DE MONTAÑA, <i>Cedrela montana</i>. Meliaceae	34

Descripción.....	34
11. CEDRO ROSADO, <i>Cedrela odorata</i>, Meliaceae	34
Descripción.....	34
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Cedrela montana</i> y <i>Cedrela odorata</i>	35
Protocolo 1	35
12. CHIRIMOYO, <i>Annona cherimola</i>. Annonaceae.....	35
Descripción.....	35
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del chirimoyo	36
Protocolo 1	36
Protocolo 2.....	36
13. CLAVEL, <i>Dianthus caryophyllus</i>. Caryophyllaceae	37
Descripción.....	37
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del clavel.....	37
Protocolo 1	37
Protocolo 2	39
Protocolo 3	40
14. COCO, <i>Cocos nucifera</i>. Arecaceae.	40
Descripción.....	40
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del coco.....	41
Protocolo 1	41
Protocolo 2	41
15. DURAZNERO, <i>Prunus persica</i>. Rosaceae	42
Descripción.....	42
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del duraznero	42
Protocolo 1	42
Protocolo 2	44

Protocolo 3	44
16. ESPINACA, <i>Spinacia oleracea</i>. Amaranthaceae.....	45
Descripción	45
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la espinaca.....	46
Protocolo 1	46
Protocolo 2	46
17. EUCALIPTO, <i>Eucalyptus</i> spp. Myrtaceae	47
Descripción	47
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del eucalipto	48
Protocolo 1	48
Protocolo 2	49
18. FRIJOL, <i>Phaseolus vulgaris</i>. Fabaceae	49
Descripción	50
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del frijol	50
Protocolo 1	50
Protocolo 2	51
19. FRUTILLA, <i>Fragaria ananassa</i>. Rosaceae	51
Descripción	51
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la frutilla	52
Protocolo 1	52
Protocolo 2	53
Protocolo 3	55
20. GERANIO, <i>Pelargonium</i> spp. Geraniaceae	55
Descripción	55
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del geranio.....	55
Protocolo 1	55

21. GUANÁBANA, <i>Annona muricata</i>. Anonaceae	57
Descripción	57
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la guanábana.....	57
Protocolo 1	57
22. GUAYABO, <i>Psidium guajava</i>. Myrtaceae	58
Descripción	58
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del guayabo.....	59
Protocolo 1	59
Protocolo 2	61
23. HABA, <i>Vicia faba</i>. Fabaceae	61
Descripción	61
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del haba	62
Protocolo 1	62
24. HIGO, <i>Ficus carica</i>. Moraceae	63
Descripción	63
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del higo	63
Protocolo 1	63
Protocolo 2	64
25. JENGIBRE, <i>Zingiber officinale</i>. Zingiberaceae	65
Descripción	65
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del jengibre	65
Protocolo 1	65
26. KIWI, <i>Actinidia deliciosa</i>. Actinidiaceae.....	66
Descripción	66
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del kiwi.....	66

Protocolo 1	66
27. LECHUGA, <i>Lactuca sativa</i>. Asteraceae	67
Descripción	67
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la lechuga	68
Protocolo 1	68
28. LIMÓN, <i>Citrus limon</i>. Rutaceae	69
Descripción	69
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del limón	69
Protocolo 1	69
29. MANGO, <i>Mangifera indica</i>. Anacardiaceae	70
Descripción	70
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del mango	70
Protocolo 1	70
30. MARACUYÁ, <i>Passiflora edulis</i>. Passifloraceae	72
Descripción	72
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del maracuyá	72
Protocolo 1	72
Protocolo 2	73
31. MELÓN, <i>Cucumis melo</i>. Cucurbitaceae	73
Descripción	73
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del melón	74
Protocolo 1	74
32. MENTA, <i>Mentha</i> spp. Lamiaceae	75
Descripción	75
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la mentha	75

Protocolo 1	75
33. MORA, <i>Morus nigra</i>. Moraceae	76
Descripción	76
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la mora.....	76
Protocolo 1	76
34. MORTIÑO, <i>Vaccinium floribundum</i>. Ericaceae	77
Descripción	77
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del mortiño	78
Protocolo 1	78
Protocolo 2	79
35. NABO, <i>Brassica campestris</i>. Brassicaceae	79
Descripción	80
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del nabo	80
Protocolo 1	80
36. NARANJO TRIFOLIADO, Naranja amargo espinoso, <i>Poncirus trifoliata</i> (L.).	
	Rutaceae 81
Descripción	81
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del naranjo	81
Protocolo 1	81
Protocolo 2	82
37. ORQUIDEA, <i>Cymbidium</i> spp. Orchidaceae.	83
Descripción	83
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Cymbidium</i> spp.....	83
Protocolo 1	83
38. ORQUIDEA, <i>Dendrobium</i> spp. Orchidaceae	85

Descripción.....	86
39. ORQUIDEA MARIPOSA, <i>Phalaenopsis</i> spp. Orchidaceae.....	86
Descripción.....	86
40. ORQUIDEA, <i>Cattleya</i> spp. Orchidaceae.....	87
Descripción.....	87
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Dendrobium</i> spp. , <i>Phalaenopsis</i> spp., <i>Cattleya</i> spp.....	87
Protocolo 1	87
41. ORQUIDEA, <i>Thunia alba</i>. Orchidaceae	90
Descripción.....	91
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de <i>Thunia alba</i>	91
Protocolo 1	91
42. PALMA ACEITERA, <i>Elaeis guineensis</i>. Arecaceae.....	92
Descripción.....	92
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la palma aceitera.....	92
Protocolo 1	92
43. PALMA DATILERA, <i>Phoenix dactylifera</i>. Arecaceae	93
Descripción.....	93
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la palma datilera.....	94
Protocolo 1	94
Protocolo 2	94
44. PAPA, <i>Solanum tuberosum</i>. Solanaceae	96
Descripción.....	96
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> para papa.....	96
Protocolo 1	96

Protocolo 2	98
Protocolo 3	98
45. PAPAYO, <i>Carica</i> spp. <i>Caricaceae</i>	99
Descripción	99
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> para el papayo.....	99
Protocolo 1	99
Protocolo 2	100
Protocolo 3	100
Protocolo 4	101
46. PEPINILLO, PEPINO, <i>Cucumis sativus</i>. <i>Cucurbitaceae</i>	103
Descripción	103
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> para el pepinillo.....	103
Protocolo 1	103
47. PIMIENTO, <i>Capsicum annuum</i> L. <i>Solanaceae</i>	104
Descripción	105
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> para el pimiento	105
Protocolo 1	105
Protocolo 2	105
Protocolo 3	106
48. PINO, <i>Picea glauca</i>. <i>Pinaceae</i>	106
Descripción	107
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> para <i>Picea glauca</i>	107
Protocolo 1	107
49. PINO, <i>Pinus sylvestris</i>. <i>Pinaceae</i>	110
Descripción	110
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del <i>Pinus sylvestris</i>	110

Protocolo 1	110
50. PIÑA, <i>Ananas comosus</i>. Bromeliaceae	111
Descripción	111
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la piña	112
Protocolo 1	112
Protocolo 2	112
51. PLÁTANO, BANANA, BANANO, CAMBUR, GUINEO, PLATANERA, PLATANERO, <i>Musa spp.</i> Musaceae.....	113
Descripción	113
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la <i>Musa spp.</i>	114
Protocolo 1	114
Protocolo 2	115
Protocolo 3	115
Protocolo 4	116
52. RÁBANO, <i>Raphanus sativus</i>. Brassicaceae = Cruciferae	117
Descripción	117
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del rábano	118
Protocolo 1	118
53. ROBLE, <i>Quercus humboldtii</i>. Fagaceae	119
Descripción	119
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del roble	119
Protocolo 1	119
54. TAMARINDO, <i>Tamarindus indica</i>. Caesalpiniaceae (Leguminosae)	120
Descripción	120
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del tamarindo	120
Protocolo 1	120

55. TE, <i>Camelia sinensis</i>. Theaceae	121
Descripción	121
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> del té	121
Protocolo 1	121
Protocolo 2	122
Protocolo 3	123
56. TOMATE, <i>Lycopersicum esculentum</i> = <i>Solanum lycopersicum</i>. Solanaceae	124
Descripción	124
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> del tomate.....	124
Protocolo 1	124
57. UÑA DE GATO, <i>Uncaria tomentosa</i>. Rubiaceae	125
Descripción	125
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la uña de gato	126
Protocolo 1	126
58. VID, <i>Vitis vinifera</i>. Vitaceae	126
Descripción	126
Protocolos de propagación <i>in vitro</i> de la vid	127
Protocolo 1	127
Protocolo 2	128
Protocolo 3	128
Protocolo 4	131
Protocolo 5	131
59. YUCA, <i>Manihot esculenta</i>. Euphorbiaceae.....	133
Descripción	133
Protocolo de propagación <i>in vitro</i> de la yuca	133
Protocolo 1	133

FORMULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO 135

ABREVIATURAS 137

BIBLIOGRAFÍA 138



GUÍA PRÁCTICA DE CULTIVO *IN VITRO* DE ESPECIES VEGETALES

1. AJO, *Allium* spp. Liliaceae.



Fuente: (Álvarez, 2010)

Descripción

El ajo (*Allium* spp), pertenece a la familia Liliaceae, aunque otros autores la ubican en la familia Amarilidaceae (Bremer y otros, 2009) al igual que la cebolla (*Allium cepa*), el puerro (*Allium porrum*) y la cebolla de invierno o cebollino (*Allium fistulosum*), es una especie de importancia económica ampliamente cultivada (Ramos, 1991).

Está constituido por un bulbo subterráneo, formado por "dientes" unidos en su base alrededor del tallo verdadero y recubiertos por catáfilos blancos o morados, cuya tonalidad varía según la variedad y la altura del sitio de siembra (Ramos, 1991). Las hojas son alargadas, planas y envainadoras; las flores de color rosado o verde y no producen semillas. El falso tallo es blando, liso y de hasta 40 cm de longitud, de donde nacen bulbillos aéreos (Brewster, 1994).

Protocolos de propagación *in vitro* del ajo

Protocolo 1

Fuente: (Brewster, 1994).

Explantes: Bulbos

Temperatura: 8 a 10 °C durante quince días para estimular el proceso.

Procedimiento:

Eliminar la túnica protectora externa, y posteriormente, desinfectar sumergiéndolos en una solución de Betadine® (2%), Kasumin® (20%) e hipoclorito de sodio al 20%,

durante 20 minutos cada uno. Después de cada desinfectada, enjuagar los explantes tres veces con agua destilada estéril.

Bajo la cámara de flujo laminar con la ayuda de un microscopio seccionar transversalmente en la mitad los dientes de ajo, y seccionar a fin de exponer el ápice caulinar en crecimiento.

Posteriormente eliminar las hojas envainadoras, extrayendo el meristemo con dos primordios foliares. Colocar el explante en una solución de Hipoclorito de sodio al 1% durante 5 minutos y luego enjuagar tres veces con agua destilada estéril, antes de su cultivo en tubos de ensayo que contienen medio nutritivo.

El medio de cultivo empleado está constituido por las sales minerales de Murashige y Skoog (1962), suplementado con isopenteniladenina 2,0 mg/l; ácido naftalenacético (ANA) 0,1 mg/l; tiamina 0,1 mg/l; ácido nicotínico 0,5 mg/l; piridoxina 0,5 mg/l; inositol 100 mg/l, 30 g/l de sacarosa y 8 g/l de agar. Dispensar este medio en tubos de ensayo, y esterilizar en una autoclave. Para el crecimiento y desarrollo de los explantes, colocar el cultivo en un cuarto de crecimiento, bajo un fotoperíodo de 16 h diarias y 23 \pm 2 °C, durante treinta días.

Para el proceso de bulbificación, seleccionar aquellas plantas que en el proceso anterior, han alcanzado un desarrollo adecuado (6 a 12 cm de longitud), y bajo la cámara de flujo laminar, seccionar los brotes a 2 cm de longitud desde la corona de la planta y eliminar sus raíces. Cultivar estos explantes en frascos de 250 ml con 20 ml del medio inductor de la bulbificación.

El medio para inducir la bulbificación *in vitro* estará constituido por los mismos componentes que el anterior, excluyendo el ANA y aumentando la sacarosa de 30 a 90 g/l. Colocar el cultivo en un cuarto de crecimiento, bajo un fotoperíodo de 16h diarias y 23 \pm 2 °C, durante 60 días.

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explante: Ápices de tallo escindidos de bulbos.

Temperatura de refrigeración: 3 °C

Procedimiento:

Escindir los ápices y cultivar en el medio I descrito en el cuadro 1 por 60 días, luego transferir las plantas al medio II durante 60 días. Los bulbillos obtenidos se vuelven a cultivar en el medio II por otros 50 días. Aclimatar las plantas obtenidas en piedra

pómez, o en vermiculita y de aquí pasar a maceteros conteniendo vermiculita, cubra con plástico las macetas. Remover el plástico después de una semana y fertilizar las plantitas con 1.5- NH₄-N, 7.5 NO₃-N, 1.0 Urea, 8 P, 24 K, 5 Mg, 0-1 B y 0.18 EDTA-Fe (todo en porcentaje). Después de 20 días trasplantar las plantitas en el campo.

Cuadro 1. Medios para el cultivo de ajo

Componentes	CA	MS	FB
	Cultivo de ápices	medio de subcultivo	Formación de bulbillos
	I	II	III
Sales MS	Completo	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	2	2	2
Ácido Nicotínico (mg/l)	0.5	0.5	0.5
Piridoxina (mg/l)	0.5	0.5	0.5
Tiamina (mg/l)	0.1	0.1	0.1
ANA (mg/l)	0.01	0.15	0.1
BAP (mg/l)	0.01	-	0.01
Sucrosa (%)	3	3	3
Agar (%)	0.8	0.8	0.8
pH=5.7			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente: (Mejía, 1994)

Explante: Ápices, primordio foliar y porción basal de escamas de bulbos

Temperatura: 32 ±2 °C

Luz: Los cultivos se incuban en fotoperiodo de 16 h/día.

Procedimiento:

Para la regeneración a partir de callo someter a un medio de inducción en obscuridad descrito en el cuadro 2.

Cuadro 2. Medios para el cultivo de regeneración a partir de callo para ajo

Componentes	IC Inducción de callos	RC Regeneración de callos
Sales MS	Completo	Completo
Tiamina (mg/l)	0.4	0.4
Inositol (mg/l)	100	100
Ácido Nicotínico (mg/l)	0.5	0.5
Piridoxina (mg/l)	0.5	0.5
Glicina (mg/l)	2	2
SO Ad (mg/l) Sulfato de Adenina	80	80
AIA (mg/l)	1.0	1.0
2, 4-D (mg/l)	0.5-1.0	-
Kinetina (mg/l)	-	2.0
Sucrosa (%)	3.0	3.0
pH=5.6		

Fuente: (Mejía, 1994)

2. ALISO, *Alnus cordata*. Betulaceae.



Fuente: (Pérez , 2012)

Descripción

El Aliso (*Alnus cordata*), pertenece a la familia Betulaceae. Este árbol puede alcanzar veinticinco metros de altura y ocho metros de anchura. *Alnus cordata* se vale de anemofilia para polinizar, posee flores de color marrón con toques borgoña dotado de unidades reproductivas monoicas. Esta especie presenta hojas caducas y sirve para fijar el nitrógeno al suelo (Pérez, 2012).

Protocolo de propagación in vitro de *Alnus cordata*

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Yemas axilares (5-10 mm) y meristemas (1-2 mm).

Temperatura: 16 °C

Procedimiento:

Extraer esquejes de madera dura y tratar la base con hormona de enraizamiento en polvo (IBA 8 g/Kg polvo) y plantar en sustrato: ½ piedra chancada (piedra partida). ¼ perlita: ¼ musgo, a 20 °C, después de 3 años, las plantas sirven como fuente de material de explante. Desinfectar las yemas con NaClO al 20% (cloro disponible 5%) por 10 minutos, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril y colocar en el medio I para su establecimiento descrito en el cuadro 3.

Colocar los segmentos de tallo con 2 yemas en la etapa de multiplicación en el medio II, durante 4-5 semanas, después llevar los explantes al medio III para su enraizamiento.

Cuadro 3. Medios para el cultivo de *Alnus cordata*

Componentes	I	II	III
	Establecimiento	Multiplicación	Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Macroelementos a la 1/2
BAP (µM)	4,4	1,1	-
IBA (µM)	-	-	1,2-4,9
Glucosa (mM)	-	333	-
Sucrosa (mM)	87,6	---	87,6
Agar (g/l)	7	7	7
pH=5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

3. ALISO, *Alnus glutinosa*. Betulaceae



Fuente: (Alvarez y otros, 2000)

Descripción

El Aliso (*Alnus glutinosa*), pertenece a la familia Betulaceae. Es un árbol monoico, caducifolio de tamaño medio, de 17-22 m de altura. Posee un tronco derecho, de hasta un metro de diámetro. Presenta hojas alternas, simples, ovaladas, verde oscuro por el haz y más claras por el envés. Sus flores son monoicas, a menudo agrupadas en los brotes terminales. Sus frutos son aquenios con aspecto de piñas pequeñas; verdes cuando son jóvenes, y negras y lignificadas, una vez maduras (Alvarez y otros, 2000).

Protocolo de propagación in vitro de *Alnus glutinosa*

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Segmentos de tallo (2.5 cm)

Temperatura: 22 °C.

Procedimiento:

Desinfectar los explantes con NaClO al 0.5% p/v por 20 minutos más 2 gotas/l de tween-20, luego enjuagar 3 veces en agua destilada estéril, luego cortar en condiciones asépticas los segmentos de tallo conteniendo una yema lateral y plantar en el medio WPM (Woody Plant Medium Modificado).

Después de 30 días plantados en medio WPM, transferir las plántulas al mismo medio fresco. Luego transferir los microtallos enraizados (3 semanas después) en maceteros

que contengan una mezcla modificada de musgo y mantener en invernadero bajo sombra 50%.

4. ARVEJA, *Pisum sativum*. Fabaceae.



Fuente:(Ferraris & Couretot, 2013)

Descripción

La arveja (*Pisum sativum*) es una leguminosa que pertenece a la familia Fabaceae. La arveja se caracteriza por tener los tallos huecos, sus hojas son compuestas, con dos o tres pares de foliolos, con un zarcillo terminal, de flores sencillas e insertadas en las axilas de las hojas. El fruto es en vaina, algo comprimida y terminada en una pequeña curva. Las semillas, numerosas en cada vaina, son casi esféricas (Domínguez, 1990).

Protocolo de propagación in vitro de la arveja

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Semillas

Temperatura: 25 ± 2 °C.

Procedimiento:

Desinfectar la semilla con etanol al 70% por 1 min, luego con cloramina B 5% p/v por 60 min en agitación. Luego colocar 5-6 semillas en un erlenmeyer conteniendo algodón empapado en agua, incubar en oscuridad a 25 °C. Aislar asépticamente las semillas e implantar en el medio (I, II) descrito en el cuadro 4.

Después de 2-3 semanas se observan explantes hinchados. El segundo subcultivo realizar después de 8-10 semanas en el medio III.

Trasplantar las plántulas en macetas hidropónicas llenas de perlita y con medio MS diluido al 50% en condiciones no asépticas, HR 95%.

Cuadro 4. Medios para el cultivo de la arveja

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales de MS	Completo	Completo
Vita. B5 Vitaminas del medio Gamborg.	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100
ANA (μ M)	0,1	5
BAP (μ M)	20	-
Sucrosa (%)	3	3
Agar (%)	0,80	0,80
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

5. BRÓCOLI, *Brassica oleracea*. Brassicaceae



Fuente: (Pastor, 2012)

Descripción

El brócoli (*Brassica oleracea*) pertenece a la familia Brassicaceae. Presenta pedúnculos florales compactos y forman una cabeza de figura irregular, abierta y desproporcionada. Tiene un color verde oscuro en el tallo y verde azulado en el extremo de la flor, aunque

existen variedades moradas, rojizas, amarillas y blancas. Sus flores son hermafroditas y son polinizadas por abejas (Balbachas & Rodriguez, 1982).

Protocolos de propagación *in vitro* del brócoli

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Piezas de hojas y segmentos de tallo.

Temperatura: 21 °C.

Procedimiento:

Desinfectar las piezas y segmentos con una solución de hipoclorito de sodio al 2,75% por 5 min, añadir tween 20 al 0.5% a la solución, enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Cortar las piezas de las hojas longitudinalmente por la mitad, y colocar sobre la superficie del medio, con la parte cortada en contacto con el medio para hojas o para tallos dependiendo el material vegetal con el que esté trabajando.

Cuadro 5. Medios para el cultivo de brócoli

Componentes	Explantes Hojas	Explantes Tallos
MS	Completo	Completo
Kinetina. (mg/l)	3-6	3-20
AIA (mg/l)	8-9	9-10
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	6	6
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Secciones de láminas de hojas (1-5 x 1.5 cm), secciones de tallos y ápices de 2 mm.

Luz: 16 h luz/8 h de oscuridad.

Procedimiento:

Lavar las secciones (3-5 cm) con agua tibia y con detergente. Enjuagar con agua destilada, y sumergir en lejía 1/10 con 0.1% de tween-20 por 15 min. Luego enjuagar

tres veces con agua destilada estéril por 1 min cada uno. Colocar estos explantes en el medio (I, II) para su establecimiento descrito en el cuadro 6. Luego cuando los brotes estén desarrollados pasar al medio III para su enraizamiento.

Con 4-6 semanas de iniciado el cultivo transferirlas plántulas a macetas con sustrato compuesto por materia orgánica (Cárdenas, 2014).

Cuadro 6. Medios para el cultivo de brócoli

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O (mg/l)	170	170
Inositol (mg/l)	100	100
Tiamina (mg/l)	0,4	0,4
SO ₄ AD (mg/l)	80	80
AIA (mg/l)	1,0	1,0
2iP (mg/l)	4,0	-
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	8	8
pH=5,7		

Fuente: (Mejía, 1994)

6. CACAO, *Theobroma cacao*. Malvaceae



Fuente: (Shura, 2009)

Descripción

El cacao (*Theobroma cacao*) pertenece a la familia Malvaceae. Las especies del género *Theobroma* son árboles ramificados con hojas simples y con un fruto indehiscente carnoso (mazorca). El género forma pequeños árboles no ramificados con hojas palmaticompuestas (Dostert, Roque, Torre, & Weigend, 2012).

Protocolos de propagación in vitro del cacao

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Segmentos de tallo

Temperatura: 23-26 °C

Procedimiento:

Remover las hojas y sumergir los segmentos en una solución de etanol al 2% y luego en ácido ascórbico 10 mM. Luego transferir los segmentos en una solución NaClO al 0.37% (50 mM) + ácido ascórbico 10 mM + 10 gotas/l de tween-20 por 14 min, finalmente enjuagar 2 veces en agua desionizada o destilada estéril por 10-15 min por enjuague.

Cortar los segmentos de tallos en secciones nodales dejando el entrenudo inferior de mayor longitud y cortar la parte hinchada del peciolo a los 5 mm del tallo. Sumergir los explantes en una de solución de ácido ascórbico 20 mM por 20-40 min luego cultivar en un medio (I, II) para su establecimiento descrito en el cuadro 7, luego pasar al medio III para su enraizamiento.

Cuadro 7. Medios para el cultivo de cacao

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales WPM	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100
Ac. Nicotínico (mg/l)	0,5	0,5
SO Ad (mg/l)	0,5	0,5
L-leucina (mg/l)	0,4	0,4
L-arginina (mg/l)	0,4	0,4
Glicina (mg/l)	2	2

L-lisina (mg/l)	0,4	0,4
L-triptófano (mg/l)	0,2	0,2
IBA (mg/l)	-	3
Carbón activado (g/l)	0,15	0,15
Ac. Ascórbico (g/l)	0,1	0,1
Sucrosa (g/l)	20	10
Agar (g/l)	7,2	7,2
pH= 5,6-5,8		

Fuente: (Mejía, 1994)

Escindir los tallos cuando estos tengan 4-6 cm (después de 3-4 semanas de cultivo) a partir del explante original y transferir al medio III de enraizamiento y mantener el cultivo en luz del día.

Cuando tengan buen sistema radicular, transferir las plántulas a bolsas de plástico llenados hasta 1/3 con una mezcla de sustrato compuesto de 3 partes de musgo, 2 partes de vermiculita y 1 de suelo, humedecer con el fertilizante soluble de Peters 10-15-10 (1.0 g/l, pH 6.1).

Cuando las hojas están de color verde oscuras, transferir a macetas de plástico o de arcilla de 15 cm conteniendo suelo y colocar en condiciones de invernadero.

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Segmento de tallos jóvenes

Temperatura: 25-27 °C.

Procedimiento:

Lavar con agua corriente, luego con etanol al 70 % y enjuagar con agua destilada estéril, luego sumergir en hipoclorito de calcio al 10% por 45 min, finalmente enjuagar con agua destilada estéril.

Luego pasar a un medio de establecimiento (I, II), para su inducción descrita en el cuadro 8. Luego pasar al medio III para su enraizamiento.

A fin de acelerar la ruptura de latencia de estas yemas, realizar tratamientos, sumergiendo los explantes por 2 h en una solución de 44 µM BAP+25 µM AIB y cultivar en medio desprovisto de reguladores de crecimiento.

Trasplantar en invernadero a 27 °C con 100% HR.

Cuadro 8. Medios para el cultivo de cacao

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Minerales de MS	1/2	-
Microelementos MS	-	1/2
Vitaminas de Morel	Completo	Completo
BAP (μM)	2,5	-
AIB (μM)	-	30
Sucrosa (g/l)	20	20
Agar (g/l)	-	7
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

7. CAFÉ, *Coffea canephora*. Rubiaceae.



Fuente: (Gómez, 2010)

Descripción

El café (*Coffea canephora*) pertenece a la familia Rubiaceae. Se trata de un árbol o arbusto liso, con hojas anchas de bordes orlados o lisos, de forma oblonga-elíptica, cortas, acuminadas, redondeadas o ampliamente acunadas en su base, de 15-30 cm de largo y 5-15 cm de ancho.

Tiene flores blancas, en dos racimos axilares, sésiles. Las bayas ampliamente elipsoides, más o menos de 8-16 mm (Méndez, 2011).

Protocolos de propagación *in vitro* del café

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Fragmentos de tallo, ramas, hojas y fragmentos de óvulos.

Procedimiento:

Lavar con agua a los explantes, pasar por alcohol al 70%, desinfectar en una solución NaClO (10 g/l) durante 20 min para las hojas y 30 min para los fragmentos. Añadir al desinfectante gotas de tween-20. Cortar en fragmentos de 1 cm de longitud y las hojas de 1 cm² y colocar sobre el medio para inducción de callos, descrito en el cuadro 9.

Transferir los embriones somáticos en un medio de diferenciación donde se desarrollan las raíces y los tallos hasta que se formen las plántulas de 4-5 pares de hojas y de aquí transferir al invernadero y a los 16-18 meses pasar al campo.

Cuadro 9. Medio para Embriogénesis somática del café

Componentes	Inducción Callos	Diferenciación
Sales MS	Completo	Completo
2,4-D (mg/l)	0,1-0,5	-
Kinetina (mg/l)	1-2	-
BAP (mg/l)	-	1-3
Extracto de malta (mg/l)	-	400-1000
Adenina (mg/l)	-	40-100
Sacarosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	6.7	-
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Yemas (ápices terminales) y nudos obtenidos de un tallo joven.

Procedimiento:

Lavar los tallos (2-3 cm) con agua corriente, luego en alcohol al 70% por 2 min, luego remojar en solución CaClO 10 g/l por 30 min, después enjuagar 3 veces en agua destilada estéril, cortar los explantes y cultivar en el medio para yemas descrito en el cuadro 10. Si es que tenemos nudos transferir los explantes a un medio para nudos descrito en el cuadro 10, y luego obtenidos los brotes pasar al medio III para su enraizamiento.

Para el cultivo de órganos primero obtener los brotes *in vitro* luego pasar a la multiplicación y finalmente transferir las plántulas a condiciones en vivo.

Cuadro 10. Medios para el cultivo de café

Componentes	Para yemas	Para nudos	III Enraizamiento
minerales de MS	Completo	Completo	1/2
Vitaminas Morel	Completo	Completo	Completo
Cisteína (mg/l)	30	3	30
BAP (mg/l)	1-5.	1-5.	-
Adenina (mg/l)	5	50-100	-
Extracto de Malta (mg/l)	-	500-1000	-
IBA (mg/l)	-	-	2
Sucrosa (g/l)	30-40	30-40	30-40
Agar (g/l)	6-7	6-7	6-7
pH=5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Hojas

Procedimiento:

Desinfectar con NaClO al 1.6% o en un agente blanqueador comercial al 30% por 30 min, enjuagar con agua destilada estéril. Cortar las piezas de tejido de 7 mm² incluyendo la nervadura central.

Cultivar los explantes en una caja petri que contiene el medio A por 72 h y mantener en oscuridad. Luego pasar al medio B, incubar el cultivo a 25± 1 °C por 45-50 días. Transferir al medio C, mantener en un fotoperiodo de 12 h y a 24 – 28 °C por 4-6 semanas. Cultivar en el medio D, mantener a 26° durante 4-6 semanas. Los embriones somáticos en la etapa de torpedo y las plántulas transferir a la caja petri que contiene el medio (E) y mantener en presencia de luz (etapa de la germinación del embrión).

Cuadro 11. Medios para el cultivo de café

Componentes	A	B	C	D	E
Sales MS	½	Completo	1/2	1/2	½
Tiamina (µM)	-	30	3	-	-
L-cisteína (µM)	-	210	-	-	-
Inositol (µM)	-	550	-	-	-
Kinetina (µM)	-	20	2,5	-	-
2,4-D (µM)	-	5	-	-	-
ANA (µM)	-	-	0,5	-	-
Sacarosa (M)	0,06	0,20	0,06	0,06	0,20
Agar (g/l)	8	8	8	-	8
pH=5,6					

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 4

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Meristemas apicales de 0.3 mm**Procedimiento:**

Realizar la etapa de establecimiento, sin sacarosa; y después de 5 días transferir las yemas al medio II descrito en el cuadro 12 y de aquí a las 10 semanas transferir al medio III para su enraizamiento. Finalmente trasplantar en un sustrato con mezcla de arena fina y vermiculita (2:3 v/v).

Cuadro 12. Medios para el cultivo de café

Componentes	Establecimiento	Inducción de brotes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	½	Completo	Completo	1/10	1/10 ^a
Vitaminas MS	-	-	-	-	Completo
Vitaminas Gamborg (B5)	Completo	Completo	-	-	-
AIB (µM)	1	-	-	-	5-10

BAP o Zeatina (μM)	-	5-10	-	5	-
Piridoxina (μM)	-	-	-	15	-
AIA (μM)	-	1	-	0,5	-
Cisteína (μM)	-	-	-	500	-
ANA (μM)	-	-	-	-	5-10
Sacarosa (M)	-	0,06	0,06	0,087	0,058
Agar (g/l)	8	8	-	8	8
pH=5,7					

Fuente: (Mejía, 1994)

8. CAÑA DE AZÚCAR, *Saccharum officinarum*. Poaceae



Fuente: (Foreword, s.f.)

Descripción

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) perteneciente a la familia Poaceae. Son plantas con tallos de hasta 5 m x 2-5 cm, con numerosos entrenudos alargados vegetativamente, dulces, jugosos y duros (Conabio, 2009).

Protocolos de propagación *in vitro* de la caña de azúcar

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Meristemas apicales y axilares.

Temperatura: 25°- 30 °C

Procedimiento:

Desinfectar los segmentos del tallo con alcohol al 70% por 1 min y después con una solución de hipoclorito de calcio 20% (p/v) por 20 min y finalmente enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Bajo condiciones asépticas; disectar los explantes, colocar los segmentos en el medio para inducción de cultivo de ápices descrito en el cuadro 13.

Cuadro 13. Medios para el cultivo de la caña de azúcar

Componentes	IC Inducción de callo	DB Diferenciación de brotes	CA Cultivo de ápices.
Sales MS	Completo	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100	100
Tiamina (mg/l)	1	1	1
2,4-D (mg/l)	3	-	-
Kinetina (mg/l)	-	1	0,1
ANA (mg/l)	-	1	
BAP (mg/l)	-	-	0,2
Agua de coco (%)	-	10	-
Arginina (mg/l)	60	-	-
Sucrosa (%)	2	2	2
Agar (%)	0,8	0,8	0,8
pH=5,8			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Meristemas apicales y axilares

Procedimiento:

En el medio I, colocar los explantes sobre un puente de papel filtro en medio líquido y cambiar cada dos días. Luego pasar al II. Al igual después de algunas semanas pasar al medio III descritos en el cuadro 14.

Cuadro 14. Medios para la caña de azúcar

Componentes mg/l	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Medio White	Completo	Completo	-
MS	-	-	-
Medio Heinz-Map	-	-	1/2
Glicina (mg/l)	2	-	-
AG ₃ (mg/l)	0,5	-	-
IBA (mg/l)	1,0	-	-
Cisteína (mg/l)	1,07	-	-
Inositol (mg/l)	100	-	-
Agua de coco (%)	10	-	-
BAP (mg/l)	-	0,6	-
Sucrosa (%)	2	2	0,90
Agar (%)	-	0,7	0,7
Carbón activo (%)	-	-	0,5

Fuente: (Mejía, 1994)

9. CEBOLLA, *Allium cepa*. Liliaceae.



Fuente: (Pérez, 2012)

Descripción

La cebolla (*Allium cepa*) es una especie que pertenece a la familia Liliaceae. Esta planta posee un bulbo formado por numerosas capas gruesas y carnosas al interior y están recubiertas de membranas secas, delgadas y transparentes, que son base de las hojas. Este se vale de antófilos e insectos para polinizar sus flores de color hueso dotadas de unidades reproductivas hermafroditas (Pérez, 2012).

Protocolos de propagación *in vitro* de la cebolla

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Meristemas

Temperatura: 25 ± 2 °C.

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 70%, luego con cloramina B al 5% por 30 min, sumergir de nuevo en etanol al 70%.

Usar el medio (I, II) para la inducción de callos, también se puede usar 10 μ mol de ANA + 5 μ mol BAP en el medio descrito en el cuadro 15, luego pasar al medio III de enraizamiento.

Cuadro 15. Medios para el cultivo de cebolla

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Medio BDS (Dustan-short, 1977)	Completo	Completo
ANA (uM)	5	0,1
BAP (uM)	10	-
Kinetina (uM)	-	0,1
Caseína hidrolizada. (mg/l)	1	-
Sucrosa (%)	3	3
Agar (%)	0,8	0,8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Flores

Temperatura: 27°/24° día/noche

Procedimiento:

Utilizar el medio descrito en el cuadro 16, para cultivar óvulos

Cuadro 16. Medio de cultivo para la cebolla

Componentes	Cultivo de óvulos
Sales MS	Completo
VitaminasNitsch-Nitsch	Completo
Inositol (mg/l)	100
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O (mg/l)	250
L-prolina (mg/l)	200
Sucrosa (g/l)	30
Agar (g/l)	6
pH=5,8	

Fuente: (Mejía, 1994)

10. CEDRO DE MONTAÑA, *Cedrela montana*, Meliaceae



Fuente: (Turcz, 2009)

Descripción

El cedro (*Cedrela montana*), es un árbol que pertenece a la familia Meliaceae. Borja y Lasso (1990), explican que son árboles medianos de 25 m de altura aproximadamente. Poseen ramitas glabras con lenticelas, con corteza externa pardo grisácea 6 mm de espesor, corteza interna crema con olor a ajo, tienen hojas alternas paripinadas 30 – 35 cm de largo, pecíolo de 20 cm. de largo, ráquíz de 15 – 20 cm de largo, glabra, están provistos de flores con cáliz verde marrón, corola crema y con un fruto capsular verde parduzco, lenticelado.

11. CEDRO ROSADO, *Cedrela odorata*, Meliaceae



Fuente: (MacVean, 2007)

Descripción

El cedro rosado (*Cedrela odorata*), es un árbol que pertenece a la familia Meliaceae. Es una especie que alcanza hasta 35 m de altura, posee un tronco que puede llegar a medir hasta 1 m de circunferencia, su corteza es grisácea, tiene hojas grandes y compuestas de foliolos, sus flores son pequeñas de color blanco, dispuestas en panículas sus frutos son cápsulas que se abren en 5 partes, posee semillas aladas (MacVean, 2007).

Protocolo de propagación in vitro de *Cedrela montana* y *Cedrela odorata*

Protocolo 1

Fuente: (Guevara, 1988).

Explantes: Yemas

Procedimiento:

Utilizar el medio Murashige y Skoog (1962) adicionando 1,0 mg/l de Bencilaminopurina (BA) + 1,0 mg/l de Kinetina.

Posteriormente durante la etapa de multiplicación, adicionar al medio MS+ 0,2 mg/l de (BA).

Utilizar los brotes procedentes de la etapa de multiplicación para la inducción del enraizamiento la cual dura 24 horas. Con este fin, la concentración de los macronutrientes del medio MS es reducida a la mitad. Adicionar al medio 1,0 mg/l de AIB. A todos los medios adicionar 3% de sacarosa y solidificar con 0,6% de agar. Eliminar la citoquinina durante el enraizamiento.

Estas especies se subcultivan durante veintiocho meses.

12. CHIRIMOYO, *Annona cherimola*. Annonaceae



Fuente: (MacVean, 2007)

Descripción

El chirimoyo (*Annona cherimola*), es un árbol o arbusto perteneciente a la familia Annonaceae, esta especie llega a alcanzar una altura de entre 5-9 m. poseen hojas membranosas y elípticas (8-15 cm largo por 4-9 ancho), está provisto de flores verduzcas con tres pétalos, carnosos, solitarias o en pares, sus frutos son ovoides con muchas protuberancias y con una pulpa blanca, tiene semillas negras (MacVean, 2007).

Protocolo de propagación *in vitro* del chirimoyo

Protocolo 1

Fuente: (Encina, 1994)

Explantos: Cultivo de ápices

Procedimiento

Para la brotación y multiplicación de los brotes axilares utilizar un medio básico M&S (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con 0,7 μM de 6-bencilaminopurina (BAP) o 1,4 μM de Zeatina, carbón activado (0,1%); Luego para la inducción de enraizado someter a los explantes a un medio M&S suplementado con ácido indolbutírico (IBA)(500 μM), sacarosa (58,4 μM) y ácido cítrico (200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) durante diez días (siete días en oscuridad seguidos por tres días con iluminación estándar: fotoperíodo 16/8); y luego para obtener una elongación de las raíces pasar a los explantes a un medio M&S con los macroelementos reducidos a la mitad.

Protocolo 2

Fuente: (Jordán, 1988)

Explantos: hipocótilo

Procedimiento

Incubar los explantes de hipocótilo de 0,3 a 1cm de longitud, en un medio M&S líquido, suplementado con BAP (2,2 μM), ácido naftalenacético (ANA)(2,7 μM), y polivinilpirrolidona (PVP)(PVP-360, Sigma)(100 μM), o en un medio Nitsch líquido (Nitsch y Nitsch, 1969) suplementado con BAP (0,4 μM) y ANA (0,4 μM).

Cuadro 17. Medios para el cultivo de Chirimoyo

Medio basal & aditivos (mg/l)	Reguladores de crecimiento
½ MS+3,5% Sacarosa	1-20 BAP
MS+200 CH	2BAP+0,5ANA
MS+1000PVP MS+1000PVP	2BAP+0,5ANA 10ANA
CPWmKM-8P B5+1%DMSO	1.1 2,4-D+0,7 BAP+0,2Z+0,4 ANA
CPWmKM-8P B5+1%DMSO	1.1 2,4-D+0,7 BAP+0,2Z+0,4 ANA

Fuente: Encina, 2004

13. CLAVEL, *Dianthus caryophyllus*. Caryophyllaceae



Fuente: (Bouzon, 2014)

Descripción

El clavel (*Dianthus caryophyllus*) es una planta herbácea perteneciente a la familia Caryophyllaceae. Es una planta cespitosa, con numerosos vástagos de hasta 1 m de altura, sus hojas son lineales, angostas, opuestas y envainadoras, cada tallo forma una flor terminal. Sus flores son vistosas, pedunculadas en panícula o cima laxa, a veces solitarias, de bordes más o menos dentados (CONABIO, 2009).

Protocolos de propagación *in vitro* del clavel

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Ápices de tallo de 1 mm

Temperatura: 22 °C

Procedimiento:

Remover el tallo vegetativo con aproximadamente 12 nudos de la planta madre y las hojas mayores, luego lavar con agua desionizada con pocas gotas de un detergente. Sumergir en lejía 1/10 con tween 20 por 5 min. Cortar asépticamente los meristemas de (1 mm) con uno a dos pares de primordios foliares y sembrar en el medio I descrito en el cuadro 18. Para su multiplicación usar el medio II, luego que obtenga una proliferación de brotes pasar al medio III para su enraizamiento.

Cuadro 18. Medios para el cultivo de clavel

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS		Completo	Completo
NH NO (mg/l)	400	-	-
KNO (mg/l)	80	-	-
KCl (mg/l)	65	-	-
MgSO .7H O (mg/l)	72	-	-
KH PO (mg/l)	12,5	-	-
Ca (NO) . 4H O (mg/l)	144	-	-
FeSO .7H O (mg/l)	27,8	-	-
Na EDTA(mg/l)	32,8	-	-
MnSO . H O (mg/l)	6,5	-	-
ZnSO.7H O (mg/l)	2,7	-	-
H BO (mg/l)	1,6	-	-
KI (mg/l)	0,75	-	-
Ac.Cianámico (mg/l)	1,5	1,5	1,5
Pantotenato Ca (mg/l)	5,0	5,0	5,0
Inositol (mg/l)	50	100	100
Ac.Nicotínico (mg/l)	0,5	0,5	0,5
Piridoxina (mg/l)	0,5	0,5	0,5
Tiamina (mg/l)	0,1	0,1	0,1
Glicina (mg/l)	2,0	2,0	2,0
Kinetina (mg/l)	2,0	0,5	-
ANA (mg/l)	0,2	0,1	-
Caseína (mg/l)			
Caseína hidrolizada (mg/l)	3000	-	-
Sucrosa (g/l)	30	30	30
Agar (g/l)	6	6	6
pH 5,0			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Yemas

Procedimiento:

Otras alternativas de medios de cultivo para clavel están descritas en los cuadros 19 y 20.

Cuadro 19. Medio para el cultivo clavel Cuadro 20. Medio modificado KANO'S

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo
BAP (mg/l)	1	-
AIA (mg/l)	0,1	0,1
Sucrosa (%)	3	2
Agar (%)	0,5	0,5
pH=5,6		

Fuente:(Mejía, 1994)

Componentes	I Establecimien to	II Multiplicación
Hyponex (mg/l)	2000	2000
NH NO (mg/l)	100	100
MgSO (mg/l)	100	100
Fe-EDTA (mg/l)	30	30
Piridoxina (mg/l)	4	4
AIA (mg/l)	0,1	-
AG (mg/l)	10	-
ANA (mg/l)	-	1
BA (mg/l)	-	1
Sucrosa (g)	30	30
Agar (g)	6	6
pH=5,7		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Ápices de 10-15 cm de largo.

Temperatura: 22 °C

Procedimiento:

Según Mejía (1994), los ápices del clavel están cubiertos por muchas hojas, por lo tanto no es necesario desinfectarlo. Sacar las hojas de los claveles y luego colocaren el medio modificado de Kano'S, después de 2 meses trasplantar las plántulas al invernadero, bajo sombra y con riego por nebulización intermitente durante 10 días.

14. COCO, *Cocos nucifera*. Arecaceae.



Fuente:(Ramírez, 2008)

Descripción

El cocotero (*Cocos nucifera*), es una especie de palmera que pertenece a la familia Arecaceae. Su tronco es un espite no ramificado. En su extremo superior o ápice presenta un grupo de hojas que protegen el único punto de crecimiento o yema terminal que posee la planta. Sus hojas son de tipo pinnada y están formadas por un pecíolo que casi circunda el tronco, el largo de la hoja puede alcanzar los 6 metros. El fruto es una drupa monosperma, formado por una epidermis lisa, con un solo hueso que puede pesar de 1 a 1 ½ kg rodeado de un mesocarpo fibroso y espeso del cual se extrae fibra (Ramírez, 2008).

Protocolos de propagación *in vitro* del coco

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Tallos y cabezas de los cotiledones de embriones germinados

Procedimiento:

A continuación se detalla los medios para el cultivo de callo, y las etapas de multiplicación y enraizamiento para el cultivo de coco.

Cuadro 21. Medios para el cultivo de coco

Componentes	Cultivo de callo	II, III Multiplicación, Enraizamiento
Medio Euwents	Completo	Completo
Vitaminas Sharp	-	Completo
Agua de coco (%)	12	12
ANA (mg/l)	-	5-7,5
NH ₄ Cl (mg/l)	-	268
BAP (mg/l)	1,1	-
Sucrosa (%)	3	3
Agar (%)	0,7	0,7
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Borgues, Malaurie, Portales, & Calzadillas, 2008)

Explantos: Embriones cigóticos de semillas

Temperatura: 27 ±1 °C

Humedad relativa: 76-80%

Procedimiento:

Desinfectar por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1,6%. Posteriormente enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Luego realizar la desinfección nuevamente de las carotas en el laboratorio bajo la cabina del flujo laminar, durante 20 min por una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1,6%. Enjuagar nuevamente 3 veces con agua estéril. Finalmente, realizar la extracción

de los embriones y su desinfección durante 5 min por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1,6% seguida de 3 enjuagues con agua destilada estéril. Luego pasar a un medio de cultivo compuesto por las sales macronutrientes y micronutrientes de Eeuwens, FeEDTA (5 mg/l), vitaminas de Morel y Wetmore (1 mg/l), biotina (0,1 mg/l), mio-Inositol (100 mg/l), ácido ascórbico (100 mg/l), fosfato de sodio (310 mg/l), sulfato de adenina (30 mg/l), sacarosa 60 g/l, y ajustar el pH a 5 agregar agar 7 g/l, y finalmente carbón activado (2 g/l) con agitación constante, colocar los embriones cigóticos a razón de uno por frasco de cultivo.

15. DURAZNERO, *Prunus persica*. Rosaceae



Fuente: (Delange, 2005)

Descripción

El duraznero (*Prunus persica*), pertenece a la familia Rosaceae. El árbol de Durazno es de tamaño medio (3 a 5 m de altura). La extensión de sus ramas alcanza alrededor de 15 metros cuadrados. Posee hojas lanceoladas, alternas y ligeramente aserradas, su fruto es una drupa. Su pericarpio generalmente es pubescente, el mesocarpio es carnososo, con buen contenido de jugo y azúcar (Enríquez, 2001).

Protocolos de propagación *in vitro* del duraznero

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Ápices (1.5 cm de largo).

Temperatura: 26 °C

Procedimiento:

Sumergir los explantes en lejía al 15% por 30 min, luego enjuagar 4 veces en agua destilada estéril. Cortar 0.5 cm antes de colocar en medio (I, II) con Gelrite descrito en el cuadro 22. Luego que obtenga brotes pasara al medio III para su enraizamiento.

Cuadro 22. Medio para el cultivo del duraznero

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
KNO ₃ (mg/l)	2,500	1,300
MgSO ₄ .SO ₄ (mg/l)	190	190
(NH ₄) ₂ SO ₄ (mg/l)	270	135
CaCl ₂ .2H ₂ O (mg/l)	150	150
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O (mg/l)	150	150
MnS .H ₂ O (mg/l)	20	20
ZnSO ₄ .5H ₂ O (mg/l)	2,0	2,0
CuSO ₄ .5H ₂ O (mg/l)	0,05	0,05
KI (mg/l)	0,75	0,75
CoCl ₂ .6H ₂ O (mg/l)	0,03	0,3
H ₃ BO ₃ (mg/l)	4,5	4,5
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (mg/l)	0,06	0,06
FeSO ₄ .7H ₂ O (mg/l)	28,0	28,0
Na EDTA (mg/l)	37,2	37,2
Piridoxina (mg/l)	2,0	2,0
Inositol (mg/l)	25,0	25,0
IBA (mg/l)	0,01	1
BA (mg/l)	6,0	0,01
Gelrite (g/l)	2,0	2,0

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Semillas de durazno

Procedimiento:

Esterilizar las semillas de durazno desprovistas del endocarpio, en alcohol 95% durante 2 min y luego tratar con hipoclorito (9-12%) más 0.1% de tween-20 durante 30-60 min, luego enjuagar 3 veces o más con agua destilada estéril.

Sembrar las semillas asépticamente en tubos con 40 ml de medio nutritivo gelificado (KnoP-Heller).

Cuadro 23. Medio para el cultivo de semilla del durazno

Componentes	I Establecimiento
Medio Knop:	
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O (mg/l)	500
KNO ₃ (mg/l)	125
MgSO ₄ · 7H ₂ O (mg/l)	125
KH ₂ PO ₄ (mg/l)	125
pH=5,5-5,6	

Fuente: (Mejía, 1994)

Una vez que las plántulas estén desarrolladas, extraer del tubo, lavar sus raíces con agua a fin de eliminar restos del medio de cultivo. Luego llevar a macetas que contengan un sustrato arena/turba (50%-50%), este sustrato debe ser autoclavado. Cubrir las plántulas en las macetas con una bolsa de polietileno o con un frasco de vidrio para reducirlos efectos de la deshidratación.

Protocolo 3

Fuente:(Azpeitia, Zapata, & Nava, 1993)

Explantes: Secciones nodales

Procedimiento:

Desinfectar el material vegetativo con agua y detergente; posteriormente, en campana de flujo laminar desinfectar los explantes con etanol al 70% durante 5 minutos, luego

pasar por Cloralexal 80% por 5 minutos y tres lavados con agua bidestilada estéril. Luego pasar los explantes a un medio de AP (Almehdi y Parfitt, 1986) suplementado con 6 mg/l de BAP, 0.01 mg/l de ácido indolbutírico (IBA), 0.01 mg/l de ácido giberélico (AG3) y 30 g/l de sacarosa con 7 g/l (0.7%) de Agar-Agar y ajustar el pH a 5.7. Una vez que los medios de cultivo estén esterilizados proceder a sembrar el material vegetativo en frascos Gerber

Para la etapa de multiplicación usar el medio de Almehdi y Parfitt (1986) en estado sólido. Esta etapa dura 60 días, al medio suplementar con BAP 4 mg/l, IBA 0,01(mg/l) y AG₃ 0.1 mg/l. El pH del medio y la cantidad de sacarosa es igual que la etapa de establecimiento.

El medio de cultivo para esta etapa de enraizamiento también debe usar el AP suplementado por una auxina (IBA o ácido naftalenacético (ANA) a 20μM, y 30 g/l de sacarosa, y Agar -Agar (0.65%). El tiempo de duración para esta etapa es de 30 días.

16. ESPINACA, *Spinacia oleracea*. Amaranthaceae



Fuente: (Huerto Natural, 2010)

Descripción

La espinaca (*Spinacia oleracea*), pertenece a la familia Amaranthaceae. Esta especie forma una roseta de hojas de la que posteriormente emite el tallo. Sus flores se desarrollan sobre los tallitos laterales que dan lugar a ramificaciones secundarias. Su sistema radicular es pivotante y poco ramificado. Su tallo es erecto de entre unos 30 cm a 1 m de longitud en el que se sitúan las flores (Huerto Natural, 2010).

Protocolos de propagación *in vitro* de la espinaca

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Hojas

Temperatura: 20± 3 °C.

Procedimiento:

Utilizar hojas para desarrollar callos en medios de estadio I y II, descritos en el cuadro 24 cultivados tanto en oscuridad luego en fotoperiodo de 10 h.

Cuadro 24. Medios para el cultivo de la espinaca

Componentes	I	II	III
	Establecimiento	Multiplificación	Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
Kinetina (mg/l)	2	2,0	-
AG (mg/l)	-	1,0	-
2,4-D (mg/l)	1	0,01	-
IBA (mg/l)	-	-	1,0
Sucrosa (%)	3	3	3
Agar (%)	0,8	0,8	0,8

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Pedazos de hoja

Temperatura: 22 ± 3 °C

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 70% por 30 s, luego con NaClO al 1% (clorox 20%) por 5 min, enjuagar 3 veces con agua destilada estéril, pasar los explantes al medio de establecimiento I que se describe en el cuadro 24, después de 8-12 semanas, los brotes subcultivar en medio fresco (regeneración de brotes). Transferir los brotes al medio de enraizamiento.

Cuadro 25. Medios para el cultivo de le espinaca

Componentes	Inducción Callos	Regeneración	
		Brotos	Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100	-
Tiamina (mg/l)	0,4	0,4	-
Ácido nicotínico (mg/l)	0,5	0,5	-
Piridoxina (mg/l)	0,5	0,5	-
Kinetina (mg/l)	2	2	-
2,4 D (mg/l)	0,5	0,01	-
AG ₃ (mg/l)	-	1,0	-
Phytigel (%)	-	-	0,8
Agar (g/l)	0,8	0,8	-
Sucrosa (g/l)	3	3	3
pH 5,8			

Fuente: (Mejía, 1994)

17. EUCALIPTO, *Eucalyptus* spp. Myrtaceae



Fuente:(Ortíz, 2007)

Descripción

El eucalipto (*Eucalyptus* spp.), pertenece a la familia Myrtaceae. Este árbol posee un tronco recto y cilíndrico, su corteza exterior es marrón clara y se desprende a tiras dejando manchas grises o parduscas sobre la corteza interior, tiene hojas sésiles, ovaladas y grisáceas, de un color verde azulado brillante, está provisto de flores blancas y solitarias, posee un fruto en forma de cápsula con semillas pequeñas (Vinueza, s.f.).

Protocolos de propagación *in vitro* del eucalipto

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Segmentos de tallos con 2 a 3 nudos

Luz: Los primeros 5 días se mantienen los cultivos en oscuridad y después en luz 16 h/día.

Temperatura: 25 °C

Procedimiento:

Desinfectar los segmentos de tallos con HgCl₂ al 0.2% por 15 min con 2-3 gotas de tween-20 por 100 ml. Luego realizar 5 enjuagues con agua desionizada estéril luego pasar los explantes al medio I descrito en el cuadro 26.

Después de 4 semanas pasar al medio II de multiplicación. Transferir los tallos menores de 20 mm al medio inicial de enraizamiento (medio III), los cultivos se dejan en oscuridad por 72 h y después pasar a iluminación de 16 h por día.

Luego trasplantar las plántulas *in vitro* en sustrato compuesto de arena, corteza y perlita (1/:1) v/v/v.

Cuadro 26. Medios para el cultivo del eucalipto

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	1	1	1/2
Vitaminas MS	1	1	1
PVP-40 (g/l)	1	1	1
BA (mg/l)	0,1	0,2	-
Pantotenato Ca (mg/l)	-	0,1	0,1
Biotina (mg/l)	-	0,1	0,1
Inositol (mg/l)	-	100	100
ANA (mg/l)	-	0,01	-
IBA (mg/l)	-	-	2
Sucrosa (g/l)	20	20	15
Gelrite (g/l)	2	2	2
pH 5,8			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Castro & Sánchez, 2010)

Explantos: Segmentos nodales

Procedimiento:

En cámara de flujo laminar, realizar una inmersión en etanol al 70% durante 1 minuto y luego sumergir en hipoclorito de sodio al 1% (v/v) con una gota de tween 20 durante 15 minutos finalmente lavar los explantes tres veces con agua destilada estéril y luego sembrar en el medio de cultivo. Usar el medio Murashige y Skoog, 1962 (MS), adicionar 0,1 mg/l de BAP, sacarosa 30 g/l, ácidos cítrico y ascórbico 50 mg/l cada uno, vitaminas MS y agar 2,4 g/l. Ajustar el pH del medio de cultivo a $5,8 \pm 0,1$ con 0,1N de KOH y posteriormente, esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. Después incubar los explante en condiciones de completa oscuridad durante un período de 30 días.

Utilizar los brotes que contengan un par de hojas, para pasar a la etapa de multiplicación, usar el medio descrito para la etapa de establecimiento, con la modificación del regulador BAP con una concentración de 0,25 mg/l. Incubar los explantes en condiciones de total oscuridad durante 30 días con una temperatura de 28 °C.

Para la etapa de enraizamiento usar los brotes de entre 1-2 cm de longitud y sembrar en el medio de cultivo, compuesto por las sales minerales y vitaminas del MS, y la auxina AIB 1,0 mg L⁻¹. Incubar los brotes a una temperatura de 24 °C y un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

En la etapa de aclimatación usar como sustratos arena y turba.

18. FRIJOL, *Phaseolus vulgaris*. Fabaceae



Fuente: (Rignanese, 2008)

Descripción

El frijol (*Phaseolus vulgaris*), pertenece a la familia Fabaceae. Tiene una flor de color lila o color crema, frecuentemente en la misma población, sus hojas son alternas, pecioladas, compuestas con 3 hojitas ovadas a rómbicas, con el ápice agudo; en la base de cada foliolo se encuentra un par de diminutas estípulas, esta especie puede llegar a alcanzar unos 20 cm de largo, a veces cubiertos de pelillos; posee semillas globosas, variables (Isely, 1990).

Protocolos de propagación *in vitro* del frijol

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Semilla.

Procedimiento:

Desinfectar, la semilla con NaOCl 1% durante 15 min, luego enjuagar con agua destilada estéril por 3 veces, implantar en el medio I. Aislar las yemas de plantas de 10 días de edad y cultivar en medio II. Luego transferir los micronudos por 2 días en III-A, y de aquí pasar al medio III-B, dejar aquí por 20 días, finalmente trasplantar en musgo para su aclimatación.

Cuadro 27. Medios para el cultivo del frijol

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento	
			A	B
MS	Completo	Completo	Completo	Completo
BAP (μ M)	-	20	-	1
AIB,ANA o AIA (μ M)	-	-	5-6	-
Sucrosa (%)	-	2	2	2
Agar (%)	0,6	0,6	0,6	0,6
pH=5,6				

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Quintero & Espinosa, 2010)

Explantes: Semilla.

Procedimiento:

Desinfectar las semillas con cloro y HCl 12N (v/v) en un desecador. El medio (IMM) consiste en GM (Gamborg et al., 1968) o MS (Murashige y Skoog, 1962) adicionado con mio-inositol (100 mg/l), piroxidina (1 mg/l), tiamina (10 mg/l), sacarosa (2 %), Phytigel (2.8 mg/l), bencilaminopurina-HCl (10 mg/l) y ajustar el pH a 5.8 con NaOH 1N.

Después remover los meristemos apicales y radicales y cultivar los ejes embrionarios en el mismo medio. Luego transferir a IMM fresco cada dos semanas hasta la diferenciación de las yemas.

Usar el medio (ERM) con los mismos componentes que el IMM, sin reguladores de crecimiento. Transferir las yemas con brotes diferenciados a ERM para su completo desarrollo, elongación y enraizamiento.

Aclimatar las plántulas regeneradas *in vitro* y cultivar en invernadero a 22-25 °C, fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad

19. FRUTILLA, *Fragaria ananassa*. Rosaceae



Fuente: (Carson, 2005)

Descripción

La frutilla (*Fragaria ananassa*), pertenece a la familia Rosaceae. Esta especie es un falso fruto que consta de minúsculas pepitas sobre un receptáculo carnoso es perenne, de hojas ovadas, de color verde oscuro en el haz y blancas por el envés. Poseen flores rosas o blancas de cinco pétalos (Bouzon, 2014).

Protocolos de propagación *in vitro* de la frutilla

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Meristema de yemas apicales y laterales (0.5 mm) de brotes jóvenes

Procedimiento:

Remover los brotes y lavar en agua destilada con tween 20 al 0.1% por 5 min. Remover en lejía 1/10 por 5 min, luego sumergir en lejía 1/10 por 10 min. Enjuagar 2 veces en agua destilada estéril por 10 s cada uno. Colocar en papel toalla estéril dentro de una placa petri y bajo estereoscopio extraer el meristema en condiciones asépticas luego colocar en el medio (I, II) para la etapa de establecimiento descrito en el cuadro 28. Finalmente pasar al medio III de enraizamiento.

Cuadro 28. Medio para el cultivo de *Fragaria* spp.

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	-
Inositol (mg/l)	100	100
Tiamina (mg/l)	0,4	0,4
BA (mg/l)	1,0	-
AG (mg/l)	0,5	-
NH NO (mg/l)	-	400
KNO (mg/l)	-	480
NaH PO .H O(mg/l)	-	380
CaCl .2H O (mg/l)	-	440
MgSO .7H O (mg/l)	-	370
Sales menores MS (mg/l)	-	Completo
Hierro MS (mg/l)	-	65,1
AIB(mg/l)	-	1,0
Sucrosa (%)	3	3
Carbón activado (g/l)	-	600,0
Gelrite (%)	0,3	0,3
Agar (%)	0,1	0,1
pH 5,3		

Fuente: (Mejía, 1994)

También puede utilizar los medios descritos en el cuadro 29, para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento.

Cuadro 29. Medio para el cultivo de *Fragaria* spp

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100
Ac. Nicotínico(mg/l)	0,5	0,5
Pridoxina (mg/l)	0,5	0,5
Tiamina (mg/l)	0,4	0,4
BA (mg/l)	1,0	-
IBA(mg/l)	-	1,0
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	6	6
Carbón (g/l)	-	0,8
pH 5,7		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Ápices de tallo

Procedimiento:

Para la etapa de establecimiento utilizar el proceso de desinfección indicado en el protocolo 1 para *Fragaria* spp, y proceder a utilizar los medios descritos en el cuadro 30.

Cuadro 30. Medios para el cultivo de fresas

Componentes	Iniciación I	Multiplicación II	Enraizamiento III
Nutrientes inorgánicos:			
KNO (mg/l)	250	250	250
MgSO .7H O(mg/l)	250	250	250
KH PO (mg/l)	250	250	250
Ca(NO) .4H O(mg/l)	1000	100	1000
KI(mg/l)	0,83	0,83	0,83
H BO (mg/l)	6,2	6,2	6,2
MnSO .4H O(mg/l)	16,9	16,9	16,9
ZnSO4.7H O(mg/l)	8,6	8,6	8,6
Na MoO.2H O(mg/l)	0,25	0,25	0,25
CuSO .5H O(mg/l)	0,025	0,025	0,025
CoCl .7H O(mg/l)	0,025	0,025	0,025
FeSO .7H O(mg/l)	27,8	27,8	27,8
Na EDTA(mg/l)	37,3	37,3	37,3
Nutrientes orgánicos :			
Inositol(mg/l)	100	100	100
Ac. Nicotínico(mg/l)	0,5	0,5	0,5
Piridoxina(mg/l)	0,5	0,5	0,5
Tiamina(mg/l)	0,1	0,1	0,1
Glicina(mg/l)	2	2	2
Reguladores de crecimiento :			
BAP(mg/l)	0,1	0,1	-
IBA(mg/l)	1	1	1
AG (mg/l)	0,1	0,1	-
Glucosa (%)	4	4	4
Agar (%)	0,8	0,8	0,8
pH=5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Ápices de tallos

Temperatura: 25 °C; para mantener en conservación es 0-3° durante 6 meses.

Procedimiento:

Aislar los meristemas a partir de ápices de tallos de 2--3 cm de longitud, luego lavar el segmento para eliminar partículas de tierra, desinfectar en solución de NaClO diluido en agua de 5 a 10 veces por min. Extraer el meristemo bajo microscopio estereoscópico.

Luego cultivar el meristema en un medio Hyponex (N-P-K: 6.5-6-19) a la concentración de 3 g/l + sucrosa 20 g/l + agar 8 g/l; a los 2 meses aparecen las plántulas.

20.GERANIO, *Pelargonium* spp. Geraniaceae



Fuente: (Sierra, 2009)

Descripción

El geranio (*Pelargonium* spp), pertenece a la familia Geraniaceae, y comprende unos 11 géneros con más de 400 especies.

El género *Pelargonium* posee una flor con siete estambres y de tipo zigomorfo, es decir con la corola de forma irregular porque el sépalo posterior se desarrolla para formar una larga espuela soldada al pedúnculo floral (Elicriso, 2000), esta especie normalmente crece de 30-50 cm de altura.

Protocolo de propagación *in vitro* del geranio

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Ápice y segmentos de peciolo.

Procedimiento:

Utilizar los ápices y segmentos de peciolo para producir plántulas de geranio utilizando los medios descritos en el cuadro 31, y 32.

Cuadro 31. Medio para el cultivo de geranio (segmentos de peciolo)

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	1/2
Zeatina (mg/l)	1	-
Kinetina (mg/l)	-	0,01
AIA (mg/l)	-	0,1
Sucrosa (%)	3	3
Agar (%)	0,6	0,6
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Cuadro 32. Medios para el cultivo de geranio (Explante de ápices)

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	½
NH NO (mg/l)	825	-
NaH PO .H O (mg/l)	150	-
SO Adenina (mg/l)	50	-
Kinetina (mg/l)	4	0,01
AIA (mg/l)	2	0,1
AG (mg/l)	1	-
Carbón activado (g/l)	1	-
Sucrosa (%)	3	3
Agar (%)	0,6	0,6
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

21. GUANÁBANA, *Annona muricata*. Anonaceae.



Fuente: (Pérez, 2014)

Descripción

La guanábana (*Annona muricata*), pertenece a la familia Anonaceae. Es una planta arbórea, de hoja perenne, presenta corona poco ramificada y hojas alargadas y medio ovaladas terminadas en punta, las flores son oblongas de color verde claro y tienen tres sépalos y tres pétalos, posee una fruta grande, de cáscara delgada y pulpa blanca y resbaladiza con sabor dulce con semillas negras brillantes (Martínez, 2011).

Protocolo de propagación *in vitro* de la guanábana

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Semillas

Temperatura: 24± 2 °C

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 50% por 1 min y enjuagar con agua destilada. Escarificar la semilla y desinfectar la superficie con HgCl₂ al 0.1% (p/v) por 5 min, luego enjuagar continuamente con agua destilada estéril por 10 min; luego poner a germinar asépticamente en medio G.

Una vez obtenidos los explantes hipocótilos (1 cm) son escindidos de las plántulas de 10-15 días después de la emergencia de la radícula y luego cultivar en medio I. Luego pasar al medio II.

Los tallos escindidos (1-2 cm de largo) transferir al medio III de enraizamiento, donde se desarrolla 2-6 raíces en 30-35 días.

Después de 60-70 días, incubar en temperatura de cuarto (27-29 °C), durante este tiempo ocurre el endurecimiento. Después de 35-40 días estas son nuevamente trasplantadas en una mezcla de arena y guano 1:1.

Cuadro 33. Medios para el cultivo de guanábana

Componentes	G medio para germinar semilla	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	½	Completo	1/2
BAP (µM)	-	0,9	-
ANA (µM)	-	0,54	-
IBA (µM)	-	-	9,8
Sucrosa (g/l)	-	30	20
Agar (g/l)	8	8	7
pH=5,7			

Fuente: (Mejía, 1994)

22. GUAYABO, *Psidium guajava*. Myrtaceae



Fuente: (Graveson, 1999)

Descripción

El guayabo (*Psidium guajava*), es un arbusto siempre verde de la familia Myrtaceae. Este árbol puede alcanzar 7 m de altura, escasamente ramificado, posee hojas aromáticas, opuestas, enteras, de 4-8 cm de longitud, con los nervios prominentes en la cara inferior, está provisto de flores blancas, vistosas, en grupos de 1-3; estambres

numerosos, dispuestos sobre un disco ancho, tiene un fruto carnoso de forma y tamaño variables (Graveson, 1999).

Protocolos de propagación *in vitro* del guayabo

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantes: Ápices y semillas.

Temperatura: 25± 2 °C

Procedimiento:

Desinfectar los ápices con NaClO al 10% por 10 min y luego enjuagar. Con relación a la semilla, lavar con alcohol 96% por 3 min y luego desinfectar con clorox 20% por 15 min y finalmente enjuagar asépticamente con agua destilada estéril.

Luego colocar a los explantes en el medio I, siguiendo la etapa II y finalmente pasar al medio III de enraizamiento descritos en el cuadro 35.

Los brotes enraizados son establecidos en musgo y después de 2 semanas transferir al invernadero.

Cuadro 35. Medios para el cultivo de guayabo

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Medio OM	Completo	Completo	Completo
BAP (mg/l)	2	2	-
ANA (mg/l)	-	-	0,5
Sucrosa (g/l)	30	30	30
Agar (g/l)	6	6	6
pH=5,8			

Fuente: (Mejía, 1994)

El cuadro 36, describe otros medios que puede utilizar para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento del cultivo de guayabo.

Cuadro 36. Medio para el cultivo de guayabo

Componentes	I	II	III
	Establecimiento	Multiplicación	Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
BAP (mg/l)	0,01	1,0	-
AG (mg/l)	-	-	-
2,4-D (mg/l)	-	-	1,0
PVP (%)	0,5	0,5	0,5
Sucrosa (%)	2	2	2
Gelrite (%)	0,2	0,2	0,2
Agar (%)	-	-	-
pH= 5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

El cuadro 37, describe otros medios que puede utilizar para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento del cultivo de guayabo.

Cuadro 37. Medio para el cultivo de guayabo

Componentes	I, II	III
	Establecimiento, Multiplicación	Enraizamiento
MS	Completo	½
BAP (mg/l)	1,0	-
IBA (mg/l)	-	0,2
ANA (mg/l)	-	0,2
Carbón Activado (g/l)	-	1,0
Sucrosa (%)	3	3,0
Agar (%)	0,6	0,6
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Concepción, Nápoles, Pérez, Peralta, & Trujillo, 2004)

Explantes: Yemas

Procedimiento:

Desinfectar en una solución de PVP (0,5%), luego someter con bicloruro de mercurio (0,05%) durante 20 minutos, luego lavar con abundante agua destilada estéril.

Posterior a la desinfección, colocar los brotes de aproximadamente 2,0 cm de altura en frascos de cultivo que contienen 25 ml de medio de enraizamiento MS (Murashige y Skoog, 1962) sin reguladores del crecimiento e incubaren cámara de luz artificial y un fotoperiodo de 16 horas luz a una temperatura de 26 ± 1 °C.

Colocar las hojas intactas separadas por el pecíolo en recipientes de cultivo que contengan 25 ml de medio de cultivo MS suplementado con ácido indol-3-acético, (AIA) a 0,1 mg/l y BAP a 0,75 mg/l).

23. HABA, *Vicia faba*. Fabaceae



Fuente: (Fernández, 2012)

Descripción

El Haba (*Vicia faba*) es una planta anual perteneciente a la familia Fabaceae, está provista de raíces profundas, penetrantes, más o menos erguidas, a menudo sin rizomas, posee hojas de color verde, lisas y cerosas, alternas, presenta en su base un par de estipulas de escaso tamaño, generalmente dentadas y está compuesta por dos a seis folíolos ovales, sus flores se originan en las axilas de las hojas y son de color blanco ligeramente violáceo, con manchitas negras sobre las alas, está conformada por cinco pétalos. Las vainas son alargadas, rectas, carnosas, presentan un interior esponjoso, de

color blanco que se encuentra en disposición muy diversa y en número de uno a cinco por nudo. Además es carnoso, de color verde en estado tierno (Anangón, 2006).

Protocolo de propagación *in vitro* del haba

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explantos: Semillas, Ápices de tallos (30-50 mm)

Temperatura: 14-18 °C

Procedimiento:

Sumergir las semillas en etanol al 70% por 5 min y desinfectar superficialmente por 30 min con un blanqueador comercial suplementario con 1 gota de tween-80, éstas se enjuagan 3 veces con agua destilada estéril y dejar germinar en medio agar (0.8% p/v) en recipientes de vidrio e incubar a 18 °C en la oscuridad. Después de la germinación (5-7 días) colectar las plántulas para el inicio del cultivo *in vitro*.

Cortar los ápices de tallos (30-50 mm), asépticamente y cultivar en tubos en medio I. Posteriormente cultivar en el medio (II, III) descritos en el cuadro 39.

Cuadro 39. Medios para el cultivo de haba

Componentes	I Establecimiento	II, III Multiplicación, Enraizamiento
Macroelementos MS	½ (Excepto N)	1/2 (Excepto N)
Microelementos MS	Completo	Completo
Vitaminas MS	Completo	Completo
BAP (mg/l)	-	4
miinositol (mg/l)	100	100
KNO (mg/l)	950	950
NH NO (mg/l)	825	825
Carbón activado (g/l)	10	10
Sucrosa (% p/v)	2	2
Agar (%p/v)	0,8	0,8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

24. HIGO, *Ficus carica*. Moraceae



Fuente:(Radivo, 2008)

Descripción

El higo (*Ficus carica*), pertenece a la familia Moraceae. Es un arbusto pequeño de hasta 5 m de altura, con un tronco tortuoso de corteza lisa, grisácea, muy ramificado, con ramas extendidas, de un color pardo verdosa. Las hojas tienen un limbo de hasta 35x28 cm, con un ápice obtuso, el margen ondulado, tiene un peciolo de hasta 6 cm. Posee flores que se reúnen en un receptáculo subgloboso, tienen un perianto de 3 piezas, está formado por frutos, aquenios, se disponen en una infrutescencia, de color verde, más o menos amarillento o purpúreo, carnosos, suculentos y dulces (Menéndez, 2008).

Protocolos de propagación *in vitro* del higo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: Esquejes de ápices

Temperatura: 25 ± 2 °C.

Procedimiento:

Tratar los explantes con 0.1% de Cloruro de mercurio por 3 min lavar varias veces con agua destilada estéril y colocar en medio nutritivo (I, II).

Después de 6 semanas, transferir las plántulas al medio III para el enraizamiento y mantener en oscuridad hasta 1 semana, luego trasplantar las plántulas en macetas conteniendo vermiculita.

Cuadro 40. Medios para el cultivo de Higo

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo
ANA (mg/l)	0,18	0,5
AG (mg/l)	0,03	-
BAP (mg/l)	0,1	-
IBA (mg/l)	-	0,5
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	0,8	0,8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Flores, Jiménez, & Chacón, 2009)

Explantos: Estacas

Procedimiento:

Lavar las estacas con agua y jabón líquido, luego sumergir en una solución de 6 g/l de benomil (50 %), 6 g/l de sulfato de gentamicina (2 %) y de clorhidrato de oxitetraciclina (6 %) y 3,5 g/l de dimetil tiocarbamato (76 %) por un período de 90 minutos. Posteriormente realizar tres enjuagues con agua destilada estéril y una segunda desinfección con hipoclorito de calcio al 4 % por un período de 10 minutos en la cámara de flujo laminar. Realizar nuevamente tres enjuagues con agua destilada estéril y mantener los explantes en una solución de ácido ascórbico (600 mg/l).

Para la etapa de establecimiento utilizar el medio Murashige y Skoog (1962) a la mitad de sales minerales, 30 g/l de azúcar, Bencilaminopurina (BAP) 1 mg/l, ácido ascórbico 300 mg/l, ciprofloxacina 175 mg/l y phytagel 3,5 g/l y de pH 5,7, a una temperatura de 25 °C y un fotoperíodo de 16 horas de luz, durante un período de doce días. Posteriormente, durante un mes, subcultivarlos explantes en el medio de inoculación eliminando el antibiótico (ciprofloxacina) y el antioxidante (ácido ascórbico), bajo las mismas condiciones de incubación.

Una vez que las vitroplantas presentan un buen desarrollo radicular trasladar al invernadero en donde se siembran en pequeños cilindros de turba prensada en una malla.

25. JENGIBRE, *Zingiber officinale*. Zingiberaceae



Fuente: (Zell, 2010)

Descripción

El jengibre (*Zingiber officinale*), pertenece a la familia Zingiberaceae. Esta especie es erguida perenne que crece hasta alcanzar una altura de 60-120 cm, posee hojas estrechas con pequeñas flores amarillas y violetas, está provista de una raíz o rizoma, de forma nudosa y dura puede tener dos centímetros de diámetro (Botany, s.f.).

Protocolos de propagación *in vitro* del jengibre

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: Yemas provenientes de rizomas.

Temperatura: 27 ± 2 °C.

Procedimiento:

Desinfectar con hipoclorito de sodio 0.5% (10% de clorox) por 10 min y enjuagar 2 veces con agua destilada estéril, luego volver a eliminar las hojas escamosas y también remover la parte basal del eje antes de colocar en el medio. Cultivar las yemas de 2-3 mm en el medio (I, II), luego pasar al medio III para su enraizamiento, descritos en el cuadro 41.

Cuadro 41. Medios para el cultivo de jengibre

Componentes	I, II (Establecimiento, Multiplicación)	III (Enraizamiento)
MS	Completo	Completo
BAP (ppm)	1	-
ANA (ppm)	-	1
Sucrosa (%)	2	2
Agar (%)	0,8	0,8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

26. KIWI, *Actinidia deliciosa*. Actinidiaceae



Fuente: (Fernandez, 2012)

Descripción

El kiwi (*Actinidia deliciosa*), pertenece a la familia Actinidiaceae, posee un fruto de forma oval, con piel delgada de color verde parduzco y superficie vellosa, tiene una pulpa de color verde y con diminutas semillas negras dispuestas en torno a un corazón blanquecino, esta especie crece como una enredadera vigorosa y leñosa alcanzando los 9 metros de altura (Fernández, 2012).

Protocolo de propagación *in vitro* del kiwi

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantes: Meristema

Luz: 16 h de luz; 8 h de oscuridad.

Temperatura: 23 °C.

Procedimiento:

Lavar los tallos con agua y tween 20 por 20 min, enjuagar y sumergir, en etanol al 78% por 10 s, luego enjuagar nuevamente. Sumergir en solución lejía 1/10 con 0.1% tween-

20 por 15 min, luego enjuagar 3 veces en agua destilada estéril. Otra vez sumergir en alcohol por 10 s, enjuagar 2 veces en agua destilada estéril. Escindir el meristema. Luego colocar en el medio descrito en el cuadro 42.

Cuadro 42. Medios para el cultivo de Kiwi

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	¾	Completo	½
NaHPO .H O (mg/l)	128	170	-
SO Ad (mg/l)	60	80	-
Inositol (mg/l)	75	100	100
Tiamina (mg/l)	0,3	0,4	0,4
BAP (mg/l)	2,0	2,0	-
IBA (mg/l)	0,023	0,03	-
Sucrosa (%)	2,25	3,0	2,0
Agar (%)	0,7	-	-
pH	5,7	5,0	5,7

Fuente: (Mejía, 1994)

27. LECHUGA, *Lactuca sativa*. Asteraceae



Fuente: (Saunders, 2010)

Descripción

La lechuga (*Lactuca sativa*) pertenece a la familia Asteraceae. Esta planta herbácea que posee hojas de color verde claro está provista de flores amarillas en capítulos, que a su vez se agrupan en panículas, con muchas brácteas, tiene un fruto aquenio (Tobón, 2008).

Protocolo de propagación *in vitro* de la lechuga

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: Segmentos apicales, yemas expandidas

Temperatura: 22,5 °C.

Procedimiento:

Cultivar a 22.5 °C por 2 semanas sobre medio basal Miller + 5.0 mg/L AIA= 0.5 mg/l Kinetina para obtener el desarrollo de tallo, luego transferir a medio Miller 1 mg/l IBA durante 2 semanas adicionales para el inicio del desarrollo radicular.

Trasplantar las plántulas, en vermiculita y luego al campo.

Cuadro 43. Medios para el cultivo de la lechuga

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Medio Miller		
KNO ₃ (mg/l)	1000	1000
NH ₄ NO ₃ (mg/l)	1000	1000
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O (mg/l)	500	500
MgSO ₄ ·7H ₂ O (mg/l)	72	72
KCl (mg/l)	65	65
KH ₂ PO ₄ (mg/l)	300	300
MnSO ₄ ·H ₂ O (mg/l)	6,5	6,5
ZnSO ₄ ·7H ₂ O (mg/l)	2,7	2,7
H ₃ BO ₃ (mg/l)	1,6	1,6
KI (mg/l)	0,8	0,8
NaFeEDTA (mg/l)	32,0	32,0
AIA (mg/l)	5,0	-
Kinetina (mg/l)	0,5	-
IBA (mg/l)	-	1,0
Sucrosa (%)	2,0	2,0
Agar (%)	0,8	0,8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

28. LIMÓN, *Citrus limon*. Rutaceae



Fuente: (Cuenca, 2012)

Descripción

El limón (*Citrus limon*) es un cítrico que pertenece a la familia Rutaceae. Esta especie es un arbusto pequeño de 3 a 6 m de altura con ramas irregulares de corteza verde y provista de espinas cortas y fuertes. Las hojas son elípticas, coriáceas de color verde mate lustroso (5 – 10 cm), terminada en punta y con bordes ondulados o finamente dentado. Las flores son muy olorosas, con los pétalos gruesos y de color blanco. El fruto es ovoide, con una corteza de color amarillo pálido que puede ser rugosa o lisa (AMPE , 2008).

Protocolo de propagación *in vitro* del limón

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantes: Semillas

Luz: Mantener en oscuridad.

Temperatura: 24 °C.

Procedimiento:

Remover la cubierta seminal de las semillas y desinfectar en NaClO al 0.5% más tween-20, enjuagar con agua destilada estéril y luego sembrar la semilla en medio de cultivo para semilla.

Cuadro 44. Medio para el cultivo de cítricos

Compuestos	Para semilla
MS	Completo
Sucrosa (%)	2
Agar (%)	1
pH= 5,6	

Fuente: (Méndez, 2011)

Una vez obtenido las plántulas desarrolladas *in vitro* trasplantar las plántulas en macetas que contengan un sustrato mezcla de arena/ turba (50%/50%) esterilizada en autoclave a 130 °C por 30 min, cubra con polietileno a las plántulas.

29. MANGO, *Mangifera indica*. Anacardiaceae



Fuente: (López, 2014)

Descripción

El Mango (*Mangifera indica*), pertenece a la familia Anacardiaceae. Es un árbol de grandes dimensiones: Alcanza hasta 30 metros de alto y el tronco puede llegar más de dos metros de diámetro. El tronco es de color marrón oscuro. Sus hojas son alternas, de 15 - 20 centímetros de largo por unos 4 o 5 de ancho y tienen un color verde muy intenso. Las flores son muy pequeñas y de color rosado. Los frutos son ovoides, grandes, y carnosos se disponen de una piel suave, cerosa ligeramente aromática cuyo color es verde antes de madurar y rojo intenso cuando lo hace (López, 2014).

Protocolo de propagación *in vitro* del mango

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantes: Frutos inmaduros

Temperatura: 25 °C.

Procedimiento:

Desinfectar los frutos con una solución de Benlate (14.2 g/l) (fungicida) por 20-30 min, luego secar, después sumergir en clorox 20% (v/v) por 25 min. Remover las semillas asépticamente y cultivar en cajas petri 60 x 15 mm colocando en el medio I descrito en el cuadro 45.

Remover las nucelas y pro embriones adventicias de las plántulas crecidas en el medio I después de 1-2 semanas, luego cultivar en medio líquido y en agitación a 100 rpm conteniendo 2,4-D 2 mg/l, y agua de coco. Realizar mensualmente los subcultivos, después de 3 meses transferir los callos nucelares en medio exento de hormonas (medio para callos) a fin de inducir la embriogénesis somática.

Luego transferir al medio II sólido compuesto por BAP 1 mg/l, caseína hidrolizada 100 mg/l, extracto de malta 100 mg/l y agua de coco 10% (v/v), obteniendo después de varias semanas embriones de mango.

Cuadro 45. Medios para el cultivo de mango

Componentes	I Establecimiento	NP Nucelas y embriones	C Callos	II Multiplicación
Macronutrientes MS	1/2	½	Completo	Completo
FeNaEDTA (mg/l)	37,3	37,3	37,3	37,3
Glutamina (mg/l)	400	400	400	400
Ac. Ascórbico (mg/l)	100	100	100	100
2,4-D (mg/l)	-	2	-	-
BAP (mg/l)	-	-	-	1
Caseína hidrolizada (mg/l)	-	-	-	100
Extracto de malta (mg/l)	-	-	-	100
Agua coco (%)	20	-	-	10
Sucrosa (%)	6	6	6	6
Agar (%)	0,8	-	-	0,8
pH=5,6				

Fuente: (Mejía, 1994)

30. MARACUYÁ, *Passiflora edulis*. Passifloraceae



Fuente: (Adelan, 2013)

Descripción

El maracuyá (*Passiflora edulis*) pertenece a la familia Passifloraceae, es una planta trepadora, leñosa, con tallos verdes. Sus hojas son trilobuladas. Posee flores solitarias y axilares fragantes y muy vistosas, estas flores contienen 5 pétalos con 5 estambres, un estilo tripartito y dos series de filamentos en corona de color púrpura en la base y blanco en el ápice. Sus frutos son redondeados (Vásquez, Cárdenas, & Orozco, 2008).

Protocolos de propagación *in vitro* del maracuyá

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: Puntas de brotes de 2 cm de longitud (tejidos juveniles)

Temperatura: 25 ± 1 °C.

Procedimiento:

Desinfectar con NaOCl al 1% por 15 min con pocas gotas de detergente. Sembrar los explantes en el medio I, después de 4 semanas, disectar en secciones nodales y transferir al medio II, después al medio del estadio III, los medios están descritos en el cuadro 46.

Cuadro 46. Medios para el cultivo de maracuyá

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
Kinetina (µM)	10	10	-
BAP (µM)	-	20	-
AIA (µM)	5	5	5
Sucrosa (g/l)	20	20	20
Agar (g/l)	8	8	8
pH=5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Otahola & y González, 2010)

Explantos: discos foliares y yemas axilares.

Procedimiento:

Desinfectar los discos foliares y las yemas axilares lavando los explantes con abundante agua, posteriormente sumergir en una solución de alcohol al 70% por un minuto, luego pasar a una solución con cloro comercial (5% de hipoclorito de sodio) en relación 3:1 por 20 minutos. Luego realizar tres enjuagues con agua destilada estéril dentro de la cámara de flujo laminar, pasar los discos y las yemas a un medio compuesto por Benzil -amino-purina (1,5 y 2,0 mg.l-1 de BAP), Murashige y Skoog, con la adición de 30 g/l de sacarosa y solidificado con 7 g/l de agar, el pH ajustar a 5,8. Finalmente colocar los explantes en completa oscuridad durante 15 días y luego pasar en régimen de 15 horas de luz y 9 horas de oscuridad, una temperatura de 27 ± 1 °C y una intensidad de luz de $32 \mu\text{Em}^2\text{s}^{-1}$ (Otahola & y González, 2010).

31. MELÓN, *Cucumis melo*. Cucurbitaceae



Fuente: (Nirmal, 2007)

Descripción

El melón (*Cucumis melo*) pertenece a la familia Cucurbitaceae. Es una planta anual herbácea, de porte rastrero o trepador. Posee un tallo principal que está recubierto de formaciones pilosas y presenta nudos en los que se desarrollan hojas, zarcillos y flores. Su tallo puede llegar a medir hasta 5 metros. Está provisto de hojas que tienen el limbo ovalado, reniforme o pentagonal, dividido en 3-7 lóbulos con los márgenes dentados. Sus flores son solitarias, de color amarillo. Su fruta tiene una forma variable (esférica, elíptica, ovalada, entre otros) (Soriano, 2012).

Protocolo de propagación *in vitro* del melón

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: piezas de cotiledones a partir de la semilla madura.

Temperatura: 25 °C

Procedimiento:

Desinfectar las semillas maduras en una solución de cloruro comercial al 5% por 25 min y subsecuentemente enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Extraer los embriones de la cubierta de la semilla y cortar los cotiledones en 2 piezas cuadradas de aproximadamente 0,4 cm². Luego cultivar las piezas en el medio (I, II) que está descrito en el cuadro 47 e incubar en el cuarto de cultivo a 25 °C.

Después de varias semanas, cuando se haya generado la brotación, pasar al medio (I, II) para inducir la etapa de multiplicación.

Luego de varias semanas trasladarlos brotes al medio III para su enraizamiento, debe realizar de 1 a 2 subcultivos en dicho medio, para obtener un adecuado sistema radicular.

Cuadro 47. Medios para el cultivo de melón

Componentes	(I, II) Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo
BAP (mg/l)	1	-
Sucrosa (g/l)	30	20
Agar (g/l)	8	8
pH= 5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

32. MENTA, *Mentha* spp. Lamiaceae



Fuente: (Rignanese, 2005)

Descripción

La *Mentha* (*Mentha* spp) es una planta herbácea perteneciente a la familia Lamiaceae (Bunsawat, Elliott, Hertweck, Sproles, & Lawrence, 2004). Es un género con tallos erectos, cuadrangulares muy ramificados, que puede alcanzar una altura de 80 cm que nace de un rizoma subterráneo del que brota un extenso sistema radicular. Sus hojas son opuestas pecioladas, lanceoladas o agudas, con bordes aserrados, de color verde oscuro en la cara superior y más claro en la inferior. Posee flores agrupadas de color púrpura (Muñoz, 1996).

Protocolo de propagación *in vitro* de la mentha

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantes: segmentos de tallo (1 cm) con una sola yema

Temperatura: 28± 1 °C

Procedimiento:

Desinfectar los segmentos de tallo en lejía (cloro) al 20%, luego enjuagar 2 veces con agua destilada estéril, finalmente pasar a un tubo que contiene el medio descrito en el cuadro 48 se requiere que el cultivo sea subcultivado, cada 40 días hasta producir nuevos brotes.

Transferir las plántulas *in vitro* a macetas de plástico con vermiculita y cubrir con una bolsa plástica.

Cuadro 48. Medio para el cultivo de *Mentha* spp

Componentes	Cantidad
MS	Completo
BAP (mg/l)	1 – 2
Kinetina (mg/l)	2
Sucrosa (g/l)	30
Agar (g/l)	6
pH= 5,8	

Fuente: (Mejía, 1994)

33. MORA, *Morus nigra*. Moraceae



Fuente: (Pérez, 2013)

Descripción

La mora (*Morus nigra*), pertenece a la familia Moraceae. Presenta hojas alternas, ovales, enteras o lobulares y de márgenes dentados. De color verde brillante y lustrosas por el haz, más claras por el envés. Posee pequeñas flores que crecen formando espigas apretadas y alargadas. Frutos compuestos formados por pequeñas drupas, estrechamente agrupadas, entre 2-3 cm de largo, llamadas moras de color blanco a rojizo (Leyva, 2012)

Protocolo de propagación *in vitro* de la mora

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explantos: Nudos colectados de árboles de 12 años de edad

Temperatura: 25 ± 2 °C

Procedimiento:

Desinfectar con Cetavlon (antiséptico) al 1% (v/v) + Cetrimida (antiséptico) al 20% p/v por 15 min. Después enjuagar con agua destilada, luego tratar con etanol al 70% por 30s y HgCl₂ al 0,05% por 2 min y finalmente enjuagar con agua destilada estéril.

Una vez desinfectados los explantes pasar al medio (I, II) descrito en el cuadro 49, luego subcultivar cada 4 semanas hasta obtener un mayor índice de multiplicación de 50-80 brotes, finalmente pasar a un medio III de enraizamiento descrito en el cuadro 49.

Trasplantar las plántulas a un sustrato y mantenerlas cubiertas durante 3- 5 días.

Cuadro 49. Medios para el cultivo de *Morus nigra*

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo
BAP (mg/l)	0,5 – 1	-
IBA (mg/l)	-	0,25 - 1
Sucrosa (%)	2	2
Agar (g/l)	0,8	0,8
pH = 5,8		

Fuente: (Mejía, 1994)

34.MORTIÑO, *Vaccinium floribundum*. Ericaceae



Fuente: (García, 2013)

Descripción

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) pertenece a la familia Ericaceae. Es un arbusto pequeño, generalmente de 1 a 4 m de alto. Sus hojas son alternas, coriáceas elípticas,

agudas en el ápice y en la base, dentadas en los bordes, de 1 a 2 cm de largo por 1 a 1,3 cm de ancho. Posee flores blancas con líneas rosadas, de unos 5 mm de largo. Sus frutos son bayas globosas de 5 a 10 mm de diámetro, de color púrpura-oscuro en la madurez, con cáliz persistente en el ápice; pulpa comestible de sabor algo ácido, pero agradable, con semillas numerosas, y pequeñas (García, 2013).

Protocolos de propagación *in vitro* del mortiño

Protocolo 1

Fuente:(Torres, Trujillo, & Arahana, 2010)

Explante: semillas

Fotoperíodo: 16 horas luz y 8 horas oscuridad

Temperatura: 4 °C

Procedimiento:

Desinfectar las semillas con alcohol al 70% por tres minutos, luego lavar con agua destilada estéril y sumergir por 10 minutos en hipoclorito de sodio al 2,5% con 4 gotas de Tween 20. Finalmente lavar los explantes 5 veces con agua destilada estéril y sembrar en frascos con medio WPM sin hormonas por dos semanas, está descrito en el cuadro 50.

Para el subcultivo utilizar el medio con TZR (1 mg/l) y ANA (0,05 mg/l) +WPM por varias semanas.

Luego enraizar en medio basal mWPM sin reguladores de crecimiento.

Cuadro 50. Medios para el cultivo de Mortiño

Componentes	WPM
NH NO (mg/l)	400
CaCl 2H O (mg/l)	95
MgSO 7H O (mg/l)	370
KH PO (mg/l)	170
Ca(NO) 4H O (mg/l)	556
K SO (mg/l)	990
H BO (mg/l)	6,2
MnSO H O(mg/l)	22,3
ZnSO 7H O (mg/l)	8,6
Na MoO 2HO (mg/l)	0,025

CuSO 5H O (mg/l)	0,25
FeSO 7H O (mg/l)	27,8
NaEDTA(2H O) (mg/l)	37,3
Inositol (mg/l)	100
Ácido Nicotínico	0,5
Tiamina, HCl(mg/l)	1
Pyridoxine, HCl(mg/l)	0,5
Glycina(mg/l)	2
Sucrosa (g/l)	20000
Agar (g/l)	6000

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Torres, Trujillo, & Arahana, 2010)

Explante: yemas axilares

Fotoperíodo: 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

Procedimiento:

Cortar los segmentos del tallo luego sumergir por tres minutos en hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,5 % con 3 ó 4 gotas de Tween 20, finalmente hacer tres lavados con agua destilada estéril. Utilizar el medio WPM para sembrar los explantes, descrito en el cuadro 50.

Luego enraizar en medio basal WPM sin reguladores de crecimiento.

35.NABO, *Brassica campestris*. Brassicaceae



Fuente: (Coderch, 2011)

Descripción

El nabo (*Brassica campestris*) pertenece a la familia Brassicaceae. Es una planta herbácea, se compone generalmente de ocho a doce ramas erectas de 30 a 50 cm de longitud y hojas de 7 a 12 cm de ancho. Son usualmente de color verde claro, delgado y presentan vellosidades. A partir de la base de las ramas, se desarrolla una raíz carnosa de color blanco, de forma globosa alargada. Las flores son racimos que se levantan por encima de los brotes terminales, son pequeñas y de un color amarillo o rojo (Purdue, 1989).

Protocolo de propagación *in vitro* del nabo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: semillas.

Procedimiento:

Desinfectar la semilla con una solución de blanqueador comercial al 20% (p/v) más 1-2 gotas de tween 20 durante 10 min, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Germinar 20 semillas/ caja petri con el medio I descrito en el cuadro 51.

Luego escindir los cotiledones de la plántula de 4 días de edad, incluir 2 mm de peciolo y cultivar en el medio (II, III) descrito en el cuadro 51, luego sellar con parafilm y dejar expuesto a baja intensidad.

Trasplantar las plántulas *in vitro* en maceteros que contengan sustrato compuesto por vermiculita, musgo y tierra vegetal (1: 2: 1) (v/v/v).

Cuadro 51. Medios para el cultivo de nabo

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo
ANA (mg/l)	-	1
BAP (mg/l)	-	2
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	7	7
pH= 5,7		

Fuente: (Mejía, 1994)

36.NARANJO TRIFOLIADO, Naranja amarga espinoso, *Poncirus trifoliata* (L.).

Rutaceae



Fuente: (Pellionis, 1999)

Descripción

El naranjo (*Poncirus trifoliata*) pertenece a la familia Rutaceae. Es un arbusto caducifolio, de 3 a 5 m de altura, con abundantes ramas verdosas, angulosas y largas con espinas fuertes de hasta 5 cm de largo. Posee hojas trifoliadas, a veces pentafoliadas, con folíolos de 3 a 6 cm de largo, de forma ovada elíptica, obtusos, con pequeños dientes redondeados, ligeramente coriáceos y de color verde oscuro. Presenta flores, axilares de 3 a 5 cm de diámetro. Su fruto es una baya globosa o de forma parecida a una pera, de 3 a 5 cm de diámetro, oloroso y de color verde cambiando a amarillo o dorado con la madurez, con una pulpa de sabor ácido, contiene numerosas semillas ovoides (López, 2001).

Protocolos de propagación *in vitro* del naranjo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: semillas extraídas del fruto.

Temperatura: 25 ±2 °C.

Procedimiento:

Remover la testa de las semillas, luego desinfectar con una solución de cloruro de mercurio al 0,1%, (p/v) por 15 min, seguido por 4 enjuagues con agua destilada estéril.

Escindir los ejes embriogénicos asépticamente a partir de los embriones nucleares.

Luego cultivar los ejes en el medio que está descrito en el cuadro 52, durante 3 meses.

Este protocolo sirve para la criopreservación de ejes embriónicos.

Cuadro 52. Medio para cultivo ejes de naranjo

Componentes	Cantidad
MS	Completo
Mio-inositol (mg/l)	100
Tiamina (mg/l)	1
Ácido Nicotínico (mg/l)	1
Piridoxina (mg/l)	1
ANA (mg/l)	0,2
BAP (mg/l)	0,2
Carbón activado (g/l)	2
Sucrosa (g/l)	30
Agar (g/l)	7
pH = 5,7	

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Tallos jóvenes

Procedimiento:

Cepillar los tallos con detergente, enjuagar, luego sumergir en alcohol al 70% por 2 min, a continuación pasar por hipoclorito de sodio al 2% por 20 min, finalmente enjuagar varias veces en agua destilada estéril.

Eliminar con una tijera, los extremos del tallo y colocar verticalmente en zeolita (partículas de minerales menores de 1,6 mm), luego adicionar medio MS liquido pH = 4,5. Cubrir los recipientes con bolsa transparente, asegurar la bolsa, e incubar el cultivo en condiciones de luz natural (30 ± 2 °C) hasta que broten las yemas.

Este protocolo se utiliza para obtener material libre de plagas y enfermedades para poderlo utilizar como material vegetal para su propagación *in vitro*.

37. ORQUIDEA, *Cymbidium* spp. Orchidaceae.



Fuente: (Kosina, 2011)

Descripción

La *Cymbidium* spp pertenece a la familia Orchidaceae. Son plantas epifitas, litófitas o terrestres. La mayoría de las especies tienen raíces gruesas, cubiertas por un velamen blanco esponjoso y solo tienen un núcleo delgado de tejido vascular. Los tallos erectos son generalmente cortos y se hinchan para formar un pseudobulbo, ligeramente aplanado. Las inflorescencias no son ramificadas y pueden ser erectas, arqueadas o pendulares. Cada flor presenta un corto pedicelo. Pueden llegar a tener hasta 50 flores, pero la mayoría presentan entre 10 a 20 flores (García, 2014).

Protocolo de propagación in vitro de *Cymbidium* spp.

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Meristemas apicales

Temperatura: 22 °C

Procedimiento:

Remover las hojas externas del tallo de 3 cm. Sumergir en etanol por 2 s luego en lejía por 15 min, después enjuagar con agua destilada estéril, finalmente eliminar las hojas remanentes. Extirpar el meristemo de tamaño menor de 5 mm. Luego sembrar en el medio descrito en el cuadro 53.

Cuadro 53. Medio para el cultivo de *Cymbidium*spp.

Componentes	I, II, III
	Establecimiento, Multiplicación, Enraizamiento
Ca(NO ₃) ₂ ·H ₂ O (mg/l)	1000
(NH ₄) ₂ SO ₄ (mg/l)	500
MgSO ₄ ·7H ₂ O (mg/l)	250
KH ₂ PO ₄ (mg/l)	250
FeSO ₄ ·7H ₂ O (mg/l)	27.8
Microelementos MS (mg/l)	Completo
Leche de coco (ml)	100
Sucrosa (g/l)	20
Agar (g/l)	6
pH=5.5	

Fuente: (Mejía, 1994)

Los medios descritos en el cuadro 54, también se utiliza para *Cymbidium* spp.

Cuadro 54. Medios para el cultivo de *Cymbidium* spp.

Componentes	WI	FO	KC
	Wimber	Fonnesbech	Knudson "C" modificado
KNO ₃ (mg/l)	525	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O(mg/l)	250	250	250
KH ₂ PO ₄ (mg/l)	250	250	250
K ₂ HPO ₄ (mg/l)	-	212	-
(NH ₄) ₂ SO ₄ (mg/l)	500	300	500
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O(mg/l)	-	400	1000
CaHPO ₄ (mg/l)	200	-	-
H ₂ BO ₃ (mg/l)	-	10	0.056
MnSO ₄ ·4H ₂ O(mg/l)	-	25	7.50
ZnSO ₄ ·7H ₂ O(mg/l)	-	10	0.331

Na MoO .2H O(mg/l)	-	0.25	-
CuSO .5H O(mg/l)	-	0.025	0.040
MoO (mg/l)	-	-	0.016
Fe (C H O) (mg/l)	300	-	-
FeSO .7H O(mg/l)	-	27.9	25
Na EDTA(mg/l)	-	37.80	-
Inositol(mg/l)	-	100	-
Ac. Nicotínico(mg/l)	-	1.00	-
Piridoxina(mg/l)	-	0.50	-
Tiamina(mg/l)	-	0.50	-
Glicina(mg/l)	-	2.00	-
Kinetina(mg/l)	-	0.215	-
ANA(mg/l)	-	1.86	-
Ac.casamino (%)	-	2-3	-
Triptófano (%)	2	3-4	-
Agua de coco (ml)	-	100-150	-
Rodajas banana (%)	-	-	15
Sucrosa (%)	2	3-4	2
Agar (%)	-	0.8	1.2
pH=5.5			

Fuente: (Mejía, 1994)

38. ORQUIDEA, *Dendrobium* spp. Orchidaceae



Fuente: (Ferrer, 2013)

Descripción

Las *Dendrobium* spp, pertenece a la familia Orchidaceae. Este género de Orquídeas se caracteriza básicamente por sus flores, que generalmente son de dimensiones reducidas (no más de 6 centímetros de diámetro) y que poseen cinco pétalos puntiagudos que rodean una especie de boca acampanada en el que se encuentran las zonas reproductoras de cada flor. La forma de los tallos suele ser erguido y con los nudos claramente visibles. Las flores se pueden distribuir en racimos colgantes, en espigas semierguidas o en grupos de tres a cinco en las axilas de cada hoja (López, 2014).

39. ORQUIDEA MARIPOSA, *Phalaenopsis* spp. Orchidaceae.



Fuente: (Nietzsche, 2010)

Descripción

La *Phalaenopsis* spp, pertenece a la familia Orchidaceae. Las especies de este género son epífitas y las raíces se aferran a un tronco. Estas plantas no tienen una raíz principal sino un conjunto o pan de raíces secundarias que forman su sistema radicular, tienen el grosor de un lápiz y cuando están bien hidratadas son de un color verde claro, mientras que cuando están poco hidratadas son de color blanco. Sus hojas son grandes, lanceoladas, suculentas, normalmente hay cuatro o más, son alternas y casi se superponen. Sus flores constan de 3 pétalos y otros tantos sépalos y un labelo; los pétalos son de mayor anchura que los sépalos y son redondeados (Fonteriz, 2013).

40. ORQUIDEA, *Cattleya* spp. Orchidaceae.



Fuente: (Chemilevsky, 2013)

Descripción

La *Cattleya* spp, pertenece a la familia Orchidaceae. Posee tallos (pseudobulbos) que surgen uno después del otro de un fuste rizomatoso en posición horizontal. Su flor es grande, los pétalos y los sépalos generalmente son del mismo color mientras el labelo muy desarrollado tiene los bordes ondulados, desflecados con llamativas manchas con colores a menudo muy diferentes del resto de la flor (ELICRISO, 2000).

Protocolo de propagación in vitro de *Dendrobium* spp. *Phalaenopsis* spp., *Cattleya* spp

En el caso del cultivo de *Dendrobium* spp. *Phalaenopsis* spp., *Cattleya* spp., a continuación haremos referencia a un protocolo de propagación *in vitro* utilizado para su micropropagación:

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Embriones.

Temperatura: 27 °C.

Procedimiento:

Desinfectar la cápsula externamente con 2.5% de NaClO por 5 minutos, enjuagar con agua destilada estéril 3 veces, luego cortar asépticamente la parte distal de la cápsula y dejar caer los embriones directamente sobre el medio de cultivo o sobre una placa petri

y de aquí distribuir en varios recipientes que contengan el medio descrito en el cuadro 55.

A los 6 meses se tienen plántulas bien desarrolladas y a los 7 meses las plántulas tienen hasta 4 hojas de 2.5 cm.

A los 16 meses, las plántulas están en condiciones adecuadas (4.5 cm y 10 cm) para trasplantar en el invernadero. Previo al trasplante sumergir las raíces en solución Physan (1/2 cucharadita/galón de agua) y trasplantar en un sustrato compuesto por: Fibra de troncos de helecho arbóreo, musgo, carbón.

Cuadro 55. Medio para el cultivo de *Dendrobium spp.*, *Phalaenopsi sspp.*, *Cattleya spp*

Componentes	I, II, III Establecimiento, Multiplicación, Enraizamiento
KNO (mg/l)	525
MgSO .7H O (mg/l)	250
KH PO (mg/l)	250
(NH) SO (mg/l)	500
Ca (PO) (mg/l)	200
MnSO.4H O (mg/l)	7.50
Fe(C H O) (mg/l)	28.00
Agua de coco (ml)	150
Sucrosa (g/l)	20
Agar (g/l)	8

Fuente: (Mejía, 1994)

Los medios de cultivo descritos en el cuadro 56, también puede utilizar para el cultivo de *Dendrobium spp.*, *Phalaenopsis spp.*, *Cattleya spp*

Cuadro 56. Medios para el cultivo de *Dendrobium* spp., *Phalaenopsis* spp., *Cattleya*

spp

Componentes	WPM (WoodyPlant Medium = Lloyd and Mc Cown)	HILL	HELLER	VW (Medio Vacin- Went, K = medio Knudson)	BU (Burgeff)	MM (MM = Morel y Muller)	X
NaNO ₃ (mg/l)	400	-	600	525	-	-	-
KCl (mg/l)	-	-	750	-	250	1000	-
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O (mg/l)	-	-	125	-	-	-	-
MgSO ₄ · 7H ₂ O (mg/l)	370	-	250	250	250	125	250
CaCl ₂ · 2H ₂ O (mg/l)	96	-	75	-	-	-	-
FeCl ₃ · 6H ₂ O (mg/l)	-	-	1	-	-	-	-
H ₃ BO ₃ (mg/l)	6.2	6	1	-	-	-	-
ZnSO ₄ · 7H ₂ O (mg/l)	8.6	8.5	1	-	-	-	-
MnSO ₄ · 4H ₂ O (mg/l)	-	22	0.1	7.5	-	-	7.5
CuSO ₄ · 5H ₂ O (mg/l)	0.25	0.025	0.03	-	-	-	-
AlCl ₃ (mg/l)	-	0.025	0.03	-	-	-	-
NiCl ₂ · 6H ₂ O (mg/l)	-	0.025	0.03	-	-	-	-
KI (mg/l)	-	0.25	0.01	-	-	-	-
Na EDTA (mg/l)	37.3	25	-	-	-	-	-
K ₂ SO ₄ (mg/l)	990	-	-	-	-	-	-
VSO ₄ · 7H ₂ O (mg/l)	-	0.01	-	-	-	-	-
FeSO ₄ · 7H ₂ O (mg/l)	27.8	25	-	-	25	-	25
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O (mg/l)	556	-	-	-	1000	500	1000

KH PO (mg/l)	170	-	-	250	250	-	250
(NH) SO (mg/l)	-	-	-	500	250	1000	500
Ca (PO) (mg/l)	-	-	-	200	-	-	-
Fe(C H O) .H O* (mg/l)	-	-	-	28	-	-	-
CoCl .6H O (mg/l)	-	0.025	-	-	-	-	-
(NH) MoO (mg/l)	-	0.025	-	-	-	-	-
K HPO (mg/l)	-	-	-	-	250	125	-
MnSO .H O (mg/l)	22.3	-	-	-	-	-	-
NaMoO .2H O (mg/l)	0.25	-	-	-	-	-	-
Inositol (mg/l)	100	100	-	-	-	-	-
Tiamina (mg/l)	1	0.11	1	-	-	-	-
Ac. Nicotínico (mg/l)	0.5	0.02	-	-	-	-	-
Piridoxina (mg/l)	0.5	0.015	-	-	-	-	-
Sucrosa (g/l)	20	20	20	20	20	20	20
Agar (g/l)	8	8	8	8	12	12	12
pH	5.6	5.6	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

Fuente: (Mejía, 1994)

41. ORQUIDEA, *Thunia alba*. Orchidaceae



Fuente: (Pirovics, 2008)

Descripción

La *Thunia alba* pertenece a la familia Orchidaceae, tiene hojas caducas, posee un tallo nodoso que está cubierto por hojas que gradualmente pasan a verdaderas hojas y termina en una inflorescencia con brácteas persistentes. Su labelo es de color blanco puro en la mitad basal, con excepción de las cinco quillas o crestas, que son de color naranja, con un ligero tinte marrón púrpura (ECURED, 2014).

Protocolo de propagación in vitro de *Thunia alba*

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Pedúnculo floral

Luz: 16 horas luz y 8 horas de oscuridad

Temperatura: 25 ± 2 °C.

Procedimiento:

Sumergir en etanol al 96%, luego cortar las secciones (4-6 cm) con una hoja, conteniendo una yema, lavar con agua y unas gotas de tween 20 o Teepol, luego en NaClO al 4% por 30 min con gotas de Teepol. Implantar las secciones en el medio I VW (Vacin Y Went) descrito en el cuadro 57.

Después de 35 días, transfiera al medio II descrito en el cuadro 57, y dejar en agitación a 120 rpm. Después de 21-27 días se desarrolla cuerpos parecidos a protocormos, a estos dividir y volver a cultivar, en el medio sólido III y a los 41-47 días se forman plántulas discretas.

Finalmente trasplantar las plántulas en macetas con fibra de helecho desmenuzado y carbón (1:1 v/v). Durante los primeros 7 días mantener estas macetas en el laboratorio a 27±2 °C cerca a la ventana, bajo luz natural y humedad ambiental.

Cuadro 57. Medio para el cultivo de *Tunia alba*

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Medio VW	Completo	Completo	Completo
Agua de coco (ml)	15	15	-
Mn SO (mg/l)	5.7	5.7	-
Ac. Cinámico (mg/l)	100	100	-

BAP (mg/l)	10	-	-
IBA (mg/l)	-	2	5
ANA (mg/l)	-	0.5	-
Sucrosa (g/l)	20	20	20
Agar (g/l)	9	-	9
pH=5.2			

Fuente: (Mejía, 1994)

42. PALMA ACEITERA, *Elaeis guineensis*. Arecaceae



Fuente: (Okumaning, 1995)

Descripción

La palma de aceite (*Elaeis guineensis*) pertenece a la familia Arecaceae. Esta especie alcanza una altura de 8-20 m de altura. Su tronco es robusto y erguido. Posee hojas grandes, sus flores son masculinas y femeninas en grupos separados, pero en el mismo árbol (monoico). Tiene inflorescencias grandes y sus frutos son de color verde y se vuelven anaranjados cuando maduran, estos nacen en racimos grandes de 200 a 300 con tallos cortos y pesados, de forma ovoide-oblonga de 3,5 cm de largo y unos 2 cm de ancho, negros cuando están maduros (Barker & Worgan, 1981).

Protocolo de propagación *in vitro* de la palma aceitera

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Hojas jóvenes

Procedimiento:

Desinfectar con NaClO al 2,63% por 15 min, luego enjuagar tres veces en agua destilada estéril.

El medio que debe utilizar para el inicio de cultivo de callos está constituido por MS+2,4 -D o ANA, aquí se diferencian 2 fases para la multiplicación clonal:

Fase I: corresponde a la formación de callo y su transformación en embrioides

Fase II: tarda 4 meses, corresponde a la multiplicación de embriones y su transformación en plántulas.

Para estas etapas debe realizar medios con ANA.

43. PALMA DATILERA, *Phoenix dactylifera*. Arecaceae



Fuente: (Pascoe, 2011)

Descripción

La palma datilera (*Phoenix dactylifera*) pertenece a la familia Arecaceae. Esta palmera posee un tronco muy esbelto, de hasta 30 m de altura, cubierto por los restos de las hojas caídas. Sus hojas están reunidas en un número de 20-30 formando una corona apical, son pinnadas, de hasta 6 m de largo, las superiores ascendentes y las inferiores están recurvadas hacia el suelo, con segmentos coriáceos, lineares, rígidos y punzantes, de color verde. Tiene flores dioicas (separados los sexos en distinto árbol), son blancas, olorosas, en inflorescencias sobre un péndulo largo. Posee frutos que miden de 2,5 a 8 cm, al principio son de color amarillo o anaranjado y posteriormente castaño rojizo con un solo hueso, muy duro y con un profundo surco longitudinal (Merino, 2012).

Protocolos de propagación *in vitro* de la palma datilera

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Ápices y yemas laterales (5 mm longitud por 3 mm de diámetro)

Temperatura: 28 °C

Procedimiento:

Desinfectar con NaClO al 2.63% por 15 min, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril y escindir asépticamente la punta meristemática conteniendo 3-5 primordios foliares.

Luego subcultivar las plántulas en un medio I descrito en el cuadro 58, cada 8 semanas.

Pasar al medio líquido II en agitación y finalmente pasar al medio III para su enraizamiento. Trasplantar en macetas con una mezcla de musgo y vermiculita (1:1 v/v).

Cuadro 58. Medios para el cultivo Palma Datilera

Componentes	I	II	III
	Establecimiento	Multiplificación	Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100	100
Tiamina (mg/l)	0.4	0.4	0.4
ANA (mg/l)	10	0.1	0.1
BA (mg/l)	-	10	-
Carbón activado (g/l)	3	3	-
Sucrosa(g/l)	30	30	30
Phytigel(g/l)	8	-	8
pH= 5.7			

Fuente:(Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Hojas

Procedimiento:

Desinfectar con NaClO al 2.63% por 15 min, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Luego cultivar en un medio para la inducción de callos descrito en el cuadro 59,

una vez que estén formados los callos pasar al medio para inducir la embriogénesis somática.

Cuadro 59. Medios para el cultivo de Palma datilera

Componentes	Inducción callos	Embriogénesis somática
NH NO (mg/l)	1650	1650
KNO (mg/l)	1900	1900
CaCl (mg/l)	322	322
MgSO .7H O (mg/l)	181	181
KH PO (mg/l)	170	170
NaH PO .2H O (mg/l)	170	170
KI (mg/l)	0.83	0.83
H BO (mg/l)	6.2	6.2
MnSO .H O (mg/l)	16.9	16.9
ZnSO .H O (mg/l)	8.6	8.6
Na MoO .2H O (mg/l)	0.25	0.25
CuSO (mg/l)	0.016	0.016
CoCl .6H O (mg/l)	0.025	0.025
FeNaEDTA (mg/l)	36.7	36.7
Inositol (mg/l)	100	100
Tiamina (mg/l)	0.4	0.4
2,4-D (mg/l)	100	-
2iP (mg/l)	3	-
Carbón activado (g/l)	3	3
Agar (%)	0.8	0.8
Sucrosa (%)	3	3
pH= 5		

Fuente: (Mejía, 1994)

44. PAPA, *Solanum tuberosum*. Solanaceae



Fuente: (Gallardo, 2011)

Descripción

La papa (*Solanum tuberosum*) pertenece a la familia Solanaceae. Es una planta anual herbácea, con hojas alternas, simples, sin estípulas; inflorescencia cimosa, con flores bisexuales, actinomorfas, cáliz de 5 sépalos unidos; gineceo constituido por un pistilo compuesto de 2 carpelos con 2 lóculos, óvulos numerosos, placentación axilar, ovario súpero, estilo terminal. Su fruto es una baya, posee semillas con un embrión curvo o recto dentro de un espermo (Roldán, 2005).

Protocolos de propagación *in vitro* para papa

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Ápices

Temperatura: 19 -21 °C

Procedimiento:

Desinfectar con una solución de NaClO al 2,5% por 15 min luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Cuando el material proviene de campo, sumergir el explante primero en alcohol al 70% por 30 s y después en hipoclorito de sodio. Primero pasar al medio I, luego al II y finalmente al III descritos en el cuadro 61, cuando tengan el desarrollo de brotes elongados.

Cambiar al medio T (tuberización) cuando las plántulas estén en pleno crecimiento, entre 15-20 días de edad con una longitud de 5-10 cm.

Analizar los datos mediante las ecuaciones siguientes:

$$1) \text{Tuberización (\%)} = \frac{\text{Recipientes con tubérculos}}{\text{Total recipientes}} \times 100$$

Fuente: (Mejía, 1994)

$$2) \text{Tuberización (\%)} = \frac{\text{Tubérculos}}{\text{Total N° nudos}} \times \frac{\text{Recipientes con tubérculos}}{\text{Total recipientes}} \times 100$$

Fuente: (Mejía, 1994)

Puede utilizar el medio de conservación para guardar en un banco de germoplasma

Cuadro 61. Medio para el cultivo de papa

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento	T Tuberización	Conservación
MS	Completo	Completo	Completo	Completo	Completo
AG (mg/l)	0.25	0.40	0.25	-	-
BAP (mg/l)	-	0.50	-	5	-
ANA (mg/l)	-	0.01	-	-	-
Pantotenato de Ca (mg/l)	2	2	2	-	-
Cloruro de clorocolina (mg/l)	-	-	-	500	-
Manitol (mg/l)	-	-	-	-	4
Sucrosa (%)	3	3	3	8	0.5
Agar (%)	0.6	-	0.7	-	0.8
pH=5.6 - 5.8					
CCC (Cloruro de Clorocolina) se puede reemplazar por cycocel (1.5 ml/l - 4.5 ml/l)					

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Meristemas

Procedimiento:

Para erradicar virus se hace a través del cultivo de meristemas, previo a un tratamiento termo terapéutico de plantas donadoras de explante, las condiciones de temperatura son de 35 – 40 °C, HR 80- 90% iluminación 10000 luz de 4-6 semanas. Luego pasar al medio alternativo descrito en el cuadro 62.

Cuadro 62. Medio para el cultivo de papa

Componentes	Estadio I, II, III Establecimiento, Multiplicación, Enraizamiento
Sales MS	Completo
Inositol (mg/l)	100
Tiamina (mg/l)	0.4
AG (mg/l)	0.1
Kinetina (mg/l)	0.5
Sucrosa (%)	3
Agar (%)	0.7
pH= 5.7	

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente:(Coria, Pérez, Sarquís, Cantú, González, & Gómez, 2004)

Explante: Los estolones y meristemas axilares

Procedimiento:

Lavar con detergente y agua corriente, posteriormente enjuagar con agua destilada y, luego bajo condiciones estériles, desinfectar con etanol al 70% (v/v) durante 30 s, pasar con hipoclorito de sodio al 3% (v/v) durante 10 min, y enjuagar con agua estéril. Luego sembrar un esqueje por tubo de ensayo conteniendo un medio de cultivo compuesto por Murashige-Skoog con 30 g/l de sacarosa y 7 g/l de agar a pH 5,8.

45. PAPAYO, *Carica* spp. *Caricaceae*.



Fuente: (Scheper, 2007)

Descripción

La papaya (*Carica* spp) pertenece a la familia Caricaceae. Esta planta perenne tiene vida corta y llega a crecer hasta nueve metros. Su tronco es herbáceo, hueco y normalmente sin ramas, posee hojas con lóbulos profundos, son palmeadas y se sostienen por medio de pecíolos largos y huecos que aparecen en el tallo. Sus flores salen de las axilas que forman los pecíolos y el tallo en número de 3 a 5, poseen cinco pétalos de color blanco-crema y amarillo-anaranjado de 1 a 2,5 cm de largo. Posee frutos con cáscara lisa y tamaño variante (Jiménez, 2002)

Protocolos de propagación *in vitro* para el papayo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: ápices y yemas

Luz: 16 horas luz y 8 h de oscuridad.

Temperatura: 26 °C

Procedimiento:

Eliminar las hojas grandes y el primordio floral, luego colocar el segmento en agua destilada que contenga pocas gotas de tween, mantener en continua agitación por 10-15 min, después sumergir el tejido en etanol al 70% (v/v) por 1 min y luego en NaClO al 1% por 15-20 min y finalmente enjuagar con agua destilada estéril. Descartar la superficie expuesta a la desinfección, luego extraer el ápice e implantar en el medio I descrito en el cuadro 63.

Escindir los tallos del medio I y transferir al medio II, subcultivar a intervalos de 30 y 40 días. Efectuar subcultivos en IBA a partir del 5to, 6to, 7mo y 8vo subcultivo.

Cuadro 63. Medios para el cultivo de Papayo

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	½
BA (mg/l)	0.5	0.5	-
ANA (mg/l)	0.1	0.1	-
SO Ad (mg/l)	-	160	-
IBA (mg/l)	-	-	1
Sucrosa (%)	3	3	3
Agar (%)	0.8	0.8	0.8
pH= 5.7			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Yemas axilares

Luz: 16 h de luz y 8 h de oscuridad

Temperatura: 28 °C

Procedimiento:

Enjuagar las yemas con agua corriente por 1 h mediante una agitación vigorosa luego pasar a una solución con Rifamicina (300 mg/l) por 24 h a 100 rpm y después sumergir en hipoclorito (0.3%) con tween 20 (0.1%) por 10 min y por último enjuagar con agua destilada estéril y en una solución estéril de ácido cítrico (2000 mg/l) + ácido ascórbico (200 mg/l). Cultivar las yemas en el medio de cultivo I descrito en el cuadro 63, luego pasar a los medios II y III.

Protocolo 3

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Ápices (1-1.5 mm)

Luz: 16 h de luz y 8 h de oscuridad.

Temperatura: 28 °C

Procedimiento:

Enjuagar el explante en alcohol absoluto y luego desinfectar con NaOCl al 1% en continua agitación por 12 min, después enjuagar y cultivar en el medio I, para su

establecimiento luego pasar al medio II para producir la proliferación de brotes y finalmente pasar al medio III para su enraizamiento, están descritos los medios en el cuadro 64.

Cuadro 64. Medios para el cultivo de Ápices de papayo

Componentes	I Enraizamiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
Kinetina (μM)	50	-	-
ANA (μM)	10	1	5
BAP (μM)	-	2	-
Sucrosa (%)	3	3	3
Agar (%)	0.8	0.8	0.8
pH = 5.7			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 4

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: yemas

Temperatura: día 27 ± 1 °C y noche 25 ± 1 °C

Procedimiento:

Desinfectar los explantes en una solución de cloruro de mercurio al 0.1% (p/v) por 1 min, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril y después tratar con una solución de gentamicina (500 mg/l) por 3 h en un agitador. Después enjuagar los explantes y cortar a partir de la base e implantar en posición horizontal sobre el medio I descrito en el cuadro 65.

Después del establecimiento (medio I), transferir al medio "A", luego pasar los explantes con desarrollo de callos al medio de multiplicación (medio II), remover el callo de la base y plantar junto con el tallo en el mismo y cultivar en el medio de enraizamiento (medio III) descritos en el cuadro 65.

Cuadro 65. Medio para el cultivo de papayo Var. Honey y Dew

Componentes		I	A	II	III
		Establecimiento		Multiplicación	Enraizamiento
Sales MS		Completo	Completo	Completo	1/2
Vitaminas SH	Tiamina (mg/l)	5	5	5	5
	Ácido Nicotínico (mg/l)	5	5	5	5
	Piridoxina (mg/l)	0.5	0.5	0.5	0.5
	Caseína hidrolizada (mg/l)	800	800	800	300
Extracto de malta (mg/l)		500	500	500	500
SO Ad (mg/l)		50	50	50	50
Inositol (mg/l)		100	100	100	100
IBA (mg/l)		-	-	-	2
ANA (mg/l)		-	1	0.1	-
BAP (mg/l)		-	-	0.5	-
AG (mg/l)		1	-	-	-
Kinetina (mg/l)		2	3	-	-
Sucrosa (g/l)		30	30	30	30
Agar (g/l)		8	8	8	8
pH= 5.7					
SH= Schink-Hildebrandt					

Fuente: (Mejía, 1994)

46. PEPINILLO, PEPINO, *Cucumis sativus*. Cucurbitaceae



Fuente: (Pérez, 2013)

Descripción

El pepinillo (*Cucumis sativus*) pertenece a la familia Cucurbitaceae. Es una hortaliza herbácea anual, de crecimiento rastrero o trepador, sus tallos son blandos, flexibles, largos, huecos y algo espinosos. Su crecimiento es indeterminado con formación de nudos y entrenudos. De cada nudo parte una hoja y un zarcillo, que van insertos en lados opuestos. Posee hojas grandes, acorazonadas, alternas, ásperas y un largo pecíolo. Su color es verde oscuro en el haz y algo grisáceo en el envés y están recubiertas de un vello muy fino. Esta planta es monóica con flores unisexuales en la misma planta. Son de color amarillo intenso. Las variedades de esta especie tienen la capacidad de desarrollar sus frutos por partenogénesis (sin necesidad de fecundación), se propaga generalmente por semillas (Paltrinieri & Figueroa, 1998).

Protocolo de propagación *in vitro* para el pepinillo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Yemas axilares, semillas.

Luz: 16 h de luz y 8h de oscuridad.

Temperatura: 25 °C

Procedimiento:

Colocar las yemas axilares en lejía por 5 min, enjuagar 3 veces con agua destilada estéril por 2 min. Extraer la yema axilar 1-3 mm de longitud, luego pasar al medio (I, II) para su establecimiento y multiplicación, luego finalmente pasar al medio de enraizamiento III, los medios están descritos en el cuadro 66.

Para la semilla sumergir en etanol al 95%, luego en NaOCl al 2,5% por 15 min, luego colocar 2 capas de papel filtro húmedo dentro de una placa petri estéril para la

germinación, después de 7 días 3 cotiledones y 3 hipocótilos se toman de cada plántula y se cultivan en una placa petri con el medio de cultivo descrito en el cuadro 66 para cotiledón e hipocótilo. Al cabo de 45 días, el número de raíces y tallos se forman a partir de cada pieza de callo visible y no visible al ojo humano.

Cuadro 66. Medios para el cultivo de pepinillo

Componentes	C e H	Yema axilar	
	Cotiledón e Hipocótilo	I, II	III
	I-III Establecimiento- Enraizamiento	Establecimiento, Multiplicación	Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100	100
Ac. Nicotínico (mg/l)	0.5	0.5	0.5
Piridoxina (mg/l)	1.0	1.0	-
Tiamina (mg/l)	1.0	1.0	-
BAP (mg/l)	1.0	1.0	-
ANA (mg/l)	1.0	0.1	-
Sucrosa (g/l)	30	30	-
Agar (g/l)	-	7	-
pH=5.5			

Fuente: (Mejía, 1994)

47. PIMIENTO, *Capsicum annuum* L. Solanaceae



Fuente: (Cherie, 2009)

Descripción

El pimiento (*Capsicum annuum*) pertenece a la familia Solanaceae. Esta especie posee hojas alternas y ovadas, normalmente de color verde muy intenso. Presenta una flor blanca y bastante pequeña, tiene un fruto que posee distintos colores que van desde el crema, amarillo, naranja, lavanda y rojo (Cherie, 2009).

Protocolos de propagación *in vitro* para el pimiento

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Hipocotiledones, cotiledones, ápices y raíces

Temperatura: 26 ±2 °C.

Procedimiento:

Desinfectar la semilla con una solución de HgCl₂ al 0.1% por 5 min, luego enjuagar tres veces con agua destilada estéril, transferir asépticamente la semilla a un puente de papel filtro colocando dentro de un tubo, el cual debe contener agua de coco, para estimular la germinación extraer los hipocótilos, cotiledones, ápices y raíces de plántulas de 2 semanas de edad crecidas asépticamente.

Pasar los hipocótilos, cotiledones, entrenudos, hojas, raíces y ápices en un medio de inducción de callos (IC) descrito en el cuadro 67, se desarrollan callos y luego se diferencian en tallos múltiples, después de 3 semanas de cultivo alcanzan hasta 1 cm de alto.

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: tallos y hojas de plantas de 3 a 4 meses de edad crecidas en campo.

Temperatura: 26 ±2 °C.

Procedimiento:

Utilizar los explantes de tallos y hojas a partir de plantas de 3 a 4 meses de edad crecidas en el campo, luego lavar con agua corriente y desinfectar con una solución de HgCl₂ al 0,1% durante 5 min, después enjuagar de 4 a 5 veces con agua destilada estéril, cortar los explantes en piezas de aproximadamente 1 cm y transferir asépticamente al medio (I, II), y después transferir al medio III luego de 2-3 semanas se desarrolla el sistema radicular. Los medios I, II, III están descritos en el cuadro 67.

Protocolo 3

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: cultivo de embriones

Temperatura: 26 ±2 °C.

Procedimiento:

Para el cultivo de embriones, sumergir la semilla en agua corriente por 24 h, desinfectar superficialmente la semilla y enjuagar con agua destilada estéril. Escindir los embriones asépticamente e implantar en el medio (I, II) descrito en el cuadro 67.

Cuadro 67. Medios para pimiento

Componentes	I C Inducción de callos	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo
ANA o IBA (mg/l)	-	-	0,1
BAP (mg/l)	-	5	-
Kinetina (mg/l)	0,5	-	-
2,4-D (mg/l)	0,5	-	-
Sucrosa (g/l)	20	20	20
Agar (g/l)	7	7	7
pH= 5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

48. PINO, *Picea glauca*. Pinaceae



Fuente: (Kent, 2010)

Descripción

El pino (*Picea glauca*) pertenece a la familia Pinaceae. Este árbol puede llegar a alcanzar hasta quince metros de altura y cinco metros de anchura. *Picea glauca* se vale de anemofilia para polinizar sus flores dotadas de unidades reproductivas monoicas. Esta especie posee hojas perennes y está perfumada (Pérez, 2013).

Protocolo de propagación *in vitro* para *Picea glauca*

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Semillas

Procedimiento:

Colectar los conos inmaduros. Remover la semilla de los conos y esterilizar con un blanqueador al 20% (v/v) y 0,05% (v/v) de tween 20 por 5 min, luego con etanol al 70% por 2 min. Enjuagar a continuación con agua destilada estéril antes de la disección.

Para la inducción usar el medio AE descrito en el cuadro 69 suplementar con 10 μ M de 2,4-D o Picloram y 5 μ M BA, 1% sucrosa, 500 y 100 mg/l de caseína hidrolizada o glutamina y mioinositol, respectivamente; solidificar el medio con agar al 0,7-0-8%, colocar los embriones inmaduros sobre el medio e incubar en oscuridad a ± 25 °C hasta que aparezca callos embriogénicos.

Los callos embriogénicos blancos, musilaginosos conteniendo proembriones se hace visible de 2-4 semanas; remover y subcultivar para multiplicar estos callos sobre el medio de inducción. Usar el medio de inducción gelificado con 0,4% Gelrite; subcultivar cada 3-4 semanas.

Transferir los callos al medio basal (AE) conteniendo carbón activado 1%, sucrosa 3.4% y agar 0,54% por 1 semana, transferir este callo pre tratado sobre medio basal sin carbón, pero suplementado con 40 – 60 μ M de ácido abscísico (ABA). Transferir semanalmente hasta que aparezcan embriones somáticos maduros.

Transferir los embriones somáticos maduros al medio descrito en el cuadro 68 para el desarrollo radicular; las raíces (con pelos radiculares) son visibles dentro 10-14 días y los tallos dentro de 3-4 semanas.

Cuadro 68. Medio para el cultivo de *Picea glauca*

Componentes MCM	CANTIDAD
CH N O (mg/l)	150
KNO (mg/l)	2000
Ca (NO) .4H O (mg/l)	500
(NH) SO (mg/l)	400
KH PO (mg/l)	270
KCl (mg/l)	150
MgSO .7H O (mg/l)	250
NaFe.EDTA.2H O (mg/l)	37,5
H BO (mg/l)	1,5
ZnSO .7H O (mg/l)	3
MnSO .H O (mg/l)	0,17
Na MoO .2H O (mg/l)	0,25
KI (mg/l)	0,25
CuSO .5H O (mg/l)	0,25
CoCl .6H O (mg/l)	0,025
Mio-inositol (mg/l)	90
Glicina (mg/l)	2
Tiamina (mg/l)	1,7
Acido nicotínico (mg/l)	0,6
Pantetonato (mg/l)	0,5
Piridoxina (mg/l)	1,2
Ácido Fólico (mg/l)	1,1
Biotina (mg/l)	0,125
D-Sucrosa %	30
Agar %	0,7

Fuente: (Mejía, 1994)

Cuadro 69. Medio para el cultivo de *Pinus glauca*

Componentes (AE)	Cantidad
KH PO (mg/l)	340
KNO (mg/l)	1900
NH NO (mg/l)	1200
MgSO .7H O (mg/l)	370
CaCl .2H O (mg/l)	180
MnSO .4H O (mg/l)	2,2
H BO (mg/l)	0,63
Zn.EDTA (mg/l)	4,05
EDTA (mg/l)	19
FeSO .7H O (mg/l)	14
KI (mg/l)	0,75
Na MoO .2H O (mg/l)	0,025
CuSO .5H O (mg/l)	0,0025
CoCl .6H O (mg/l)	0,0025
L-glutamina (mg/l)	0,4
L-alanina (mg/l)	0,05
L-cystenina (mg/l)	0,02
L-arginina (mg/l)	0,01
L-leucina (mg/l)	0,01
L-fenilalanina (mg/l)	0,01
L-tirosina (mg/l)	0,01
Glicina (mg/l)	2
D-sucrosa (mg/l)	34200
D-glucosa (mg/l)	180
D-xilosa (mg/l)	150
L-Arabinosa (mg/l)	150
Acido nicotínico (mg/l)	2
Piridoxina (mg/l)	1
Tiamina (mg/l)	5
Mioinositol (mg/l)	100

Fuente: (Mejía, 1994)

49. PINO, *Pinus sylvestris*. Pinaceae



Fuente: (Leugnerová, 2008)

Descripción

El pino (*Pinus sylvestris*) pertenece a la familia Pinaceae. Es un árbol de 30-40 m de altura, de porte cónico piramidal al principio para luego volverse más asimétrico. Posee un sistema radical potente. Tronco derecho, cilíndrico y recto, de escasa ramificación, con una corteza delgada, forma escamas, de color amarillo verdoso o rojizas típicas de este pino. Presenta conos en su mayoría simples, pedunculados o casi sésiles, ovaladas-cónicas, sobre la base redondeada, a menudo asimétrica, con un tamaño que va de 2,5-7 cm (Menéndez, 2013).

Protocolo de propagación in vitro del *Pinus sylvestris*

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: semillas.

Temperatura: 26 °C

Procedimiento:

Desinfectar las semillas con una solución de hipoclorito de calcio al 6% durante 20 min, o en un blanqueador comercial (hipoclorito de sodio al 3.5% de cloro activo) diluido en agua (3:10 v/v) después sumergir por 48 h en agua destilada estéril a 4 °C, luego otra vez desinfectar las semillas por 15 min en H₂O₂ al 6% y enjuagar nuevamente en agua destilada estéril. Colocar las semillas en un medio basal (MB) descrito en el cuadro 70. Luego eliminar las raíces de la parte del hipocótilo y de la parte distal de los cotiledones, para obtener explantes primarios. Cuando las yemas axilares desarrollan hasta 1 mm de altura, separar los ápices y cultivar individualmente en medio MB con 2% de sucrosa.

Luego de obtener los brotes en MB, transferir al medio (I, II) descrito en el cuadro 70. Antes de pasar al medio de enraizamiento, tratar los brotes primero con una solución con ANA (53,8 mg/l) por 24 horas y luego transferir al medio III.

Cuadro 70. Medios para el cultivo de *Pinus sylvestris*

Componentes	MB Medio basal	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	1/8	Completo	1/2
BA (µM)	-	50	-
Sucrosa (%)	3	1	1
Agar (%)	1	0.6	1
pH= 5.6			

Fuente: (Mejía, 1994)

50. PIÑA, *Ananas comosus*. Bromeliaceae



Fuente:(Starnes, 2007)

Descripción

La piña (*Ananas comosus*), pertenece a la familia Bromeliaceae. Es una planta que posee un tallo que crece longitudinalmente después de 12 a 24 meses, este está anclado al suelo por el sistema radicular y mide hasta 30 cm de largo, la planta adulta mide de 1 a 1.20 m de alto. Produce flores de color rosa y tres pétalos que crecen en las axilas de unas brácteas verdes o rojas con terminación en forma de punta. La piña es una fruta compuesta cuyo corazón es una extensión del pedúnculo (García & Serrano, 2005).

Protocolo de propagación *in vitro* de la piña

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Coronas pequeñas de frutos maduros

Temperatura: 26 ± 2 °C

Procedimiento:

Desinfectar con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% (19% clorox) + 3 gotas de agente humectante (Tween 20/100 ml) por 60 min. Después extraer las yemas axilares y desinfectar en 1% de clorox por 20 min, luego cultivar en el medio I descrito en el cuadro 71.

Para la etapa de establecimiento, colocar el cultivo en un agitador a 1/5 rpm después de 2 semanas subcultivar en medio fresco (II a) y en 2 meses observar los tallos solitarios con 2-8 hojas, estos subcultivar en el (medio II, b) donde se obtiene plántulas con 3 tallos laterales dentro de 30 días, de aquí transferir al medio (III).

Cuadro 71. Medios para el cultivo de la piña

Componentes	I Establecimiento	II a Multiplicación a	II b Multiplicación b	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	½	1/2	1/2
Agua de coco (%v/v)	25	25	-	-
BA (mg/l)	-	-	0.5-1.0	-
Sucrosa (g/l)	30	30	30	30
Agar (g/l)	7	7	7	7
pH=5.6				

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: ápices

Procedimiento:

Cultivar los ápices en el medio descrito en el cuadro 72, luego que estos han desarrollado brotes verdes. Pasar al medio II para su multiplicación.

Cuadro 72. Medios para el cultivo de la piña

Componentes	Ápice	II Multiplicación
MS	Completo	Completo
ANA (M)	10 ⁻¹	-
BAP (M)	-	10 ⁻³

Fuente: (Mejía, 1994)

51.PLÁTANO, BANANA, BANANO, CAMBUR, GUINEO, PLATANERA, PLATANERO, *Musa* spp. Musaceae

Fuente: (Mifsud, 2007)

Descripción

Las especies del género *Musa* spp. pertenecen a la familia Musaceae. Estas pueden superar los 3 metros de altura, son perennes, poseen hojas de largos pecíolos, grandes de más de 1,50 metros, envainadas, presentan un color verde claro. Poseen flores que nacen en grandes espigas terminales, erectas o péndulas, según la especie, con los capullos envueltos en grandes brácteas purpúreas. Las flores femeninas nacen en la base de las espigas y las masculinas, más arriba. Su fruto tiene forma tubulosa, largo, grueso, cubierto por una envoltura fibrosa, de color verde y separado en la espata, la cual puede contener hasta unos 200 frutos (Bouzon, 2014).

Protocolos de propagación *in vitro* de la *Musa spp*

Protocolo 1

Fuente: (Mejía, 1994)

Explante: meristemas

Temperatura: 30 °C

Procedimiento:

Eliminar el pseudotallo 10 cm por encima de la inserción de las hojas en el corno basal. Luego remover las hojas externas a la altura de la base adherido al pseudotallo hasta obtener un cono de 1 cm de longitud. Lavar el cono con una solución 1/1000 de teepol o tween 20. Enjuagar 3 veces con agua destilada estéril y bajo el estereoscopio, eliminar los primordios foliares hasta obtener un cono de 1-2 mm. Desinfectar el cono con NaClO al 0,5% + tween 20 al 1/1000 por 10 min. Enjuagar con agua corriente y eliminar primordios adyacentes hasta que aparezca el meristema central. Cultivar el meristema en el medio líquido I descrito en el cuadro 73 y mantener en agitación a 100 rpm.

Hacer subcultivos del meristema cada dos días hasta 3 semanas si la yema se conserva blanca, transferir al mismo medio inicial con 0,7% agar. Para la propagación masiva pasar al medio (II y III) eliminando tejidos necrosados.

Para trasplantar las plántulas primero lavar las raíces con agua tibia y sembrar en vermiculita, escoria de coke o en suelo orgánico. Empapar el cultivo con una solución de Benlate (fungicida). Conservar en 90% HR por una semana. Regar abundantemente durante los 2 primeros meses.

Cuadro 73. Medios para el cultivo de *Musa spp*

Componentes	I Establecimiento	II y III Multiplicación y Enraizamiento
Sales MyS	Completo	Completo
Tiamina (mg/l)	1	1
Inositol (mg/l)	100	100
BAP (mg/l)	5	-
AIA (mg/l)	-	1
Sucrosa (g/l)	40	7
pH=5,8		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Yemas

Temperatura: 28 °C

Procedimiento:

Colocar en el medio de cultivo (I, II y III) un pedazo de tejido con 1 o 2 yemas. Luego que estas tengan un adecuado sistema radicular trasplantar en macetas.

Cada plántula *in vitro*, previo al trasplante en macetas se remojan con 0,3% de Dithane y plantar en un medio de crecimiento en macetas de plástico conteniendo una mezcla de 60% de vermiculita 30% de arena 10% materia orgánica por volumen.

Cuadro 74. Medio para el cultivo de *Musa* spp.

Componentes	Estadio I, II y III Establecimiento, Multiplicación y Enraizamiento
Medio Smith-Skoog	
Sales MS	Completo
Tiamina(mg/l)	0,4
L-tirosina(mg/l)	100
Mioinositol(mg/l)	100
Adenina(mg/l)	160
AIA(mg/l)	2
Kinetina(mg/l)	2
Carbón activado(g/l)	1
Sucrosa(g/l)	30
Agar(g/l)	8
pH= 5,6	

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: yema apical a partir de inflorescencias

Temperatura: 25 °C

Procedimiento:

Desinfectar con hipoclorito de sodio al 1% con algunas gotas de detergente; enjuagar 2 veces con agua estéril. Del material lavado extraer asépticamente la yema apical. Los explantes son transferidos al medio inicial I descrito en el cuadro 74.

Eliminar el tejido oscurecido y transferir los explantes varias veces durante un mes antes que se desarrolle el tallo. Una vez que se presenta el tallo transferir al medio (II, III).

Los tallos desarrollados subcultivar en medio fresco (II, III), cada 4-6 semanas.

Establecer las plántulas después de 12 meses en un sustrato compuesto por turba, perlita y bolitas de poliestireno (1:1:1), con 40% de luz natural y 90% HR.

Cuadro 74. Medios para *Musa spp*

Componentes	I Establecimiento	II, III Multiplicación, Enraizamiento
MS	Completo	Completo
SO Ad (mg/l)	160	-
BAP (mg/l)	-	5
AIA (mg/l)	2	-
Kinetina (mg/l)	2	-
Sucrosa (g/l)	30	20
Agar (g/l)	8	8
pH=5,8		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 4

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Ápices obtenidos a partir de pseudotallos

Temperatura: 30 ± 2 °C

Procedimiento:

Desinfectar con 0,55 de NaClO por 5 min (1% clorox comercial) con unas 3 gotas de tween 20, luego enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. Cultivar los explantes rutinariamente cada 3-4 semanas mediante subdivisiones de los tallos en el medio (I, II)

descritos en el cuadro 75. Finalmente cultivar en el medio de enraizamiento III ocurre de 1 a 2 semanas.

Cuadro 75. Medio para cultivo de *Musa* spp

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	Completo	Completo
Inositol (mg/l)	100	100
Tiamina (mg/l)	1	1
BA (mg/l)	5	-
IBA (mg/l)	5	1
Carbón Activado (%)	-	0,025
Sucrosa (%)	4	4
Agar (%)	0,7	0,7
pH= 5,8		

Fuente: (Mejía, 1994)

52. RÁBANO, *Raphanus sativus*. Brassicaceae = Cruciferae



Fuente: (Tenorio, 2009)

Descripción

El rábano (*Raphanus sativus*) pertenece a la familia Brassicaceae. Esta especie tiene una altura que va de 0.5 a 1.20 m. Posee un tallo liso, ampliamente ramificado. Presenta hojas finamente pubescentes con bordes irregulares dentados, estas forman una roseta de hasta 24 cm de largo por 12 cm de ancho, largamente espatulados, presentan un lóbulo terminal grande y ancho. Posee flores con pétalos de 11 a 20 mm de largo, toda la flor de 2 a 2.2 cm de diámetro, violáceos, rosados, o blancos, con nervaduras de color

más oscuro. Sus frutos y semillas son glabras, gruesas, presentan varias nervaduras longitudinales, carnosas, cilíndrico-lanceoladas u oblongo-cónicas (Tenorio, 2009)

Protocolo de propagación *in vitro* del rábano

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Semillas

Temperatura: 27 °C

Procedimiento:

Sumergir las semillas en etanol al 70% y luego en blanqueador comercial al 30% por 20 min y enjuagar con agua destilada estéril, poner a germinar sobre el medio de germinación de semilla descrito en el cuadro 76.

Después de 5 días de germinado la semilla, aproximadamente 0.5 cm de altura, cortar los ápices y cultivar en el medio I. Después de 4-5 semanas los tallos proliferan sobre el mismo medio conteniendo 22.2 µM BAP en el medio II, finalmente pasar a enraizar al medio III.

Cuadro 76. Medio para el cultivo de rábano

Componentes	Medio germinación	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	Completo	Completo
Kin (µM)	-	4,5-135	-	-
BAP (µM)	-	-	22,2	-
IBA (µM)	-	-	-	5,0-10
Sucrosa (g/l)	30	30	30	30
Agar (g/l)	8	8	8	8
pH= 5,6-5,8				

Fuente: (Mejía, 1994)

53. ROBLE, *Quercus humboldtii*. Fagaceae



Fuente: (Martínez, 2011)

Descripción

El roble (*Quercus humboldtii*) pertenece a la familia Fagaceae. Es un árbol de grandes dimensiones, posee hojas blandas y encrespadas, de ramas fuertes y de madera muy gruesa ideal para hacer viviendas (Martínez, 2011).

Protocolo de propagación *in vitro* del roble

Protocolo 1

Fuente:(Tokura, Rondón, Villanueva, & Botero, 1996)

Explante: yemas

Procedimiento:

Utilizar el medio GD (GRESSHOFF y DOY, 1972) adicionando BA (1,0 mg/l) durante el establecimiento. Posteriormente alternar BA durante los siguientes subcultivos en concentraciones de 0,1 y 0,2 mg/l. La fuente carbonada es sacarosa al 3% y el agente solidificante agar al 0,65%. El medio de enraizamiento es GD con los macronutrientes reducidos a un tercio de su concentración inicial y adicionar 25 mg/l de AIB.

54. TAMARINDO, *Tamarindus indica*. Caesalpiniaceae (Leguminosae)



Fuente: (Mora, 2011)

Descripción

El tamarindo (*Tamarindus indica*) pertenece a la familia Caesalpiniaceae. Es un árbol que crece hasta 8 o 10 m de altura, posee hojas paripinadas, oblongas, recortadas en la punta, redondeadas en la base, glabras, opuestas, de 8 a 10 mm de largo, presenta flores abigarradas en racimos axilares a las hojas caídas, pedúnculo y pedicelos como el cáliz escamoso pubescente; tiene 3 pétalos, uno representa el estandarte, dos laterales en forma de alas, amarillo claro con venas rosadas y margen crespado, su fruto es una vaina de color café de forma alargada o curva de 2 a 6 pulgadas de longitud y 0,75 a 1,0 pulgada de ancho (Mora, 2011).

Protocolo de propagación *in vitro* del tamarindo

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Secciones de cotiledón (1 cm x 1,5 cm)

Luz: 8 h de oscuridad y 16 h de luz

Temperatura: 25 ± 2 °C

HR: 60%

Procedimiento:

Desinfectar la semilla con alcohol al 70% por 1 min y esterilizar con cloruro de mercurio al 0.1% por 20 min y pasar al medio I compuesto por MS + 5×10^{-6} M de BAP + 0,7% de agar, ajustar el pH a 5.8.

Pasar al medio II compuesto por: MS + 5.7×10^{-6} M de AIA y ajustar el pH a 5.8

Colocar las piezas cotiledonales con el extremo proximal y adaxial en contacto con el medio.

55. TE, *Camelia sinensis*. Theaceae



Fuente: (Sabina, 2012)

Descripción

El té (*Camelia sinensis*) pertenece a la familia Theaceae. Es un pequeño árbol perenne que puede llegar a medir de 5-10 m de alto, sus hojas son lanceoladas y agudas de color verde oscuro, se disponen alternas y miden generalmente entre 5-10 cm de largo por 2-4 cm de ancho, tiene flores de color blanco crema o rosáceo, que desprenden un agradable aroma. Son pequeñas y se disponen de forma solitaria o en grupos de 2 o 3 flores. Su fruto es una pequeña cápsula redondeada, en cuyo interior se localizan las semillas (Rubio, 2014).

Protocolos de propagación *in vitro* del té

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: yema terminal y segmentos nodales (0,7 – 1 cm de longitud)

Temperatura: 25 ± 1 °C

HR: 55-60%

Procedimiento:

Lavar los explantes con agua corriente por 1h luego en teepol al 5% por 5 min, desinfectar con cloruro de mercurio al 0,1% (p/v) por 15-18 min y luego enjuagar con agua destilada estéril por 5 min, y pasar al medio I. Luego implantar los explantes en el medio II y realizar la multiplicación de punta de brotes luego transferir al medio III para su enraizamiento. A los 10-15 días se observa el desarrollo de los explantes.

Después de 30 días en medio transferir las plántulas a sustrato compuesto por una mezcla de musgo y suelo (1:1), irrigar con agua estéril y mantener asépticamente bajo las mismas condiciones de cultivo. Después de 30 días transferir a invernadero (25 ± 1 °C y HR 85-90%).

Cuadro 77. Medio para el cultivo de té

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Minerales MS	Completo	1/2	1/2
Tiamina (µM)	1	1	1
Piridoxina (µM)	1,5	1,5	1,5
Acido Nicotínico (µM)	12,2	12,2	12,2
Ácido fólico (µM)	0,7	0,7	0,7
Riboflavina (µM)	0,13	0,13	0,13
Pantetonato Ca (µM)	2	2	2
Biotina (µM)	0,3	0,2	0,4
Ac. Ascórbico (µM)	-	-	11,4
H O coco (%)	10	10	10
Ext. Levad (mg/l)	200	-	-
AIA (µM)	1,4	2,9	-
BAP (µM)	17,8	17,8	-
IBA (µM)	-	-	34,5
Sucrosa (%)	3	3	4
Agar (%)	0,9	-	0,9
pH= 5,6			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2**Fuente:**(Mejía, 1994)**Explante:** Segmentos nodales y puntas de brotes**Temperatura:** 25 ± 2 °C.**Procedimiento:**

Desinfectar superficialmente los nudos y puntas de brotes con cloruro de mercurio al 0.1% por 25 min y luego enjuagar varias veces con agua destilada estéril. Luego pasar al medio I descrito en el cuadro 78 para su establecimiento.

Protocolo 3

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Semillas

Procedimiento:

Colectar las cápsulas de semillas verdes y desinfectar con cloruro de mercurio al 0.2% durante 45 min, enjuagar 5 veces con agua destilada estéril. Luego pasar al medio I descrito en el cuadro 78 durante 8 semanas.

Puede utilizar dos tipos de explantes provenientes de semillas germinadas *in vitro*, los nudos cotiledonales y ápices (0.2-0.5 mm) escindidos de plantitas de 2 meses de edad.

Los ápices se cultivan en medio (II, A) para la inducción de brotes múltiples, luego los brotes son subcultivados en otro medio (II, B).

Finalmente trasplantar los brotes regenerados, con buen sistema radicular en una mezcla de suelo y musgo (1: 1 v/v) mantener con alta HR (80-90 %) durante las primeras 4 semanas luego establecer en el suelo bajo condiciones de invernadero.

Cuadro 78. Medios para el cultivo de té

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación		III Enraizamiento
		A	B	
MS	1/2	1/2	½	1/2
Tiamina (mg/l)	1	1	1	1
Ac. Nicotínico (mg/l)	1	1	1	1
Piridoxina (mg/l)	0,5	0,5	0,5	0,5
Ácido fólico (mg/l)	0,05	0,05	0,05	0,05
Pantetonato de Ca (mg/l)	0,2	0,2	0,2	0,2
BAP (mg/l)	5	1	10	-
IBA (mg/l)	0,1	0,1	2	-
Kinetina (mg/l)	-	0,5-10	-	-
Caseína hidrolizado (mg/l)	1000	1000	1000	-
Agua de coco (%)	10	10	10	-
Sucrosa (%)	2	2	2	2
Agar (%)	0,8	0,8	0,8	0,8
pH=5,6±0,2				

Fuente: (Mejía, 1994)

56. TOMATE, *Lycopersicon esculentum* = *Solanum lycopersicum*. Solanaceae



Fuente: (Hanan & Mondragón, 2009.)

Descripción

El tomate (*Lycopersicon esculentum*) pertenece a la familia Solanaceae. Es una hierba delicada, generalmente de vida corta, con pelos glandulares algo pegajosos. Generalmente alcanza hasta 1 m de altura, aunque a veces más alta. Posee un tallo tieso o recargándose para trepar, algo áspero al tacto. Presenta hojas alternas, de hasta 25 cm de largo, divididas en varias hojillas de diferentes tamaños que a su vez pueden estar divididas principalmente en la base, de ápice puntiagudo y con el margen aserrado, sus flores son dispuestas en racimos cortos o alargados, a veces ramificados, ubicados generalmente en las bifurcaciones de los tallos o bien en los nudos, posee un fruto carnoso, jugoso, globoso o alargado, de color rojo al madurar, con semillas numerosas, más o menos circulares, aplanadas, amarillas (Hanan & Mondragón, 2009.)

Protocolo de propagación *in vitro* del tomate

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Tallos axilares

Temperatura: 20 °C

Procedimiento:

Desinfectar los explantes con hipoclorito de sodio al 3% durante 20 min, luego enjuagar cuatro veces con agua destilada estéril y sembrar en el medio (I, II) descrito en el cuadro 79.

Luego transferir después de cuatro a cinco semanas al medio III.

Cuadro 79. Medios para el cultivo del tomate

Componentes	I, II Establecimiento, Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	completo
AG (mg/l)	1	-
KIN (mg/l)	0,5	0,5
Gluocosa (%)	3	-
Sucrosa (%)	-	2
Agar (%)	0,6	0,6
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

57. UÑA DE GATO, *Uncaria tomentosa*. Rubiaceae



Fuente: (Sabina, 2012)

Descripción

La uña de gato (*Uncaria tomentosa*) pertenece a la familia Rubiaceae. Es una trepadora gigante, cuyo tallo principal puede alcanzar un grosor de 25 cm y una longitud total de hasta 40 m. Sus ramas jóvenes tienen forma cuadrangular. Posee hojas pecioladas, de forma oblonga u oblongo-aovado de aproximadamente 9 a 17 cm de longitud por 4 a 9 cm de ancho, en el envés presenta finos vellos largos y cortos, que es lo que da a esta especie el nombre de tomentosa. Presenta flores sésiles de color amarillento. Su fruto es bivalvo y alargado, mide hasta 6 mm de longitud. Las semillas son fusiformes, muy pequeñas, longitudinales y aladas (Dwyer, 1980).

Protocolo de propagación *in vitro* de la uña de gato

Protocolo 1

Fuente:(Palacios & Leech, 2004)

Explante: yemas axilares

Temperatura: 27 °C

Procedimiento:

Desinfectar con agrimycín y benlate (1:1) por una hora y pasar a una solución de cloruro de calcio al 10% (p/v), durante 15 minutos, sumergir en alcohol al 70%, por 1 minuto, luego pasar a un medio que contiene (M&S) al 25% y 1 mg/l PPM (Plant Preservative Mixture). Posteriormente multiplicar en el medio de cultivo estándar que contiene M&S + 3% de sacarosa y 3 mg/l de BAP (Bencilaminopurina). Ajustar el pH a 5,7 y el medio esterilizar por autoclave (1,2 atm de presión y 121° de temperatura durante 20 min).

58. VID, *Vitis vinifera*. Vitaceae



Fuente: (Luchi, 2012)

Descripción

La *Vitis vinifera*, pertenece a la familia Vitaceae. Su tronco es retorcido y tortuoso, presenta una corteza gruesa y áspera puede alcanzar unos 35 m. Posee ramas jóvenes, denominadas sarmientos, son flexibles y muy engrosadas en los nudos; alternando sobre ellas se disponen las hojas, grandes, palmeadas y muy lobuladas y a la vez están dentadas, sus flores son pequeñas, actinomorfas, hermafroditas, pentámeras, dispuestas en panículas colgantes y opuestas a las hojas, posee un fruto en forma de vava, globosa o elipsoidal, negra, rojiza, amarillenta o verdosa, con 2-24 semillas (Luchi, 2012).

Protocolos de propagación *in vitro* de la vid

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: ápices

Luz: 16 h luz y 8 h oscuridad.

Temperatura: 23-30 °C

Procedimiento:

Eliminar las hojas, luego sumergir los ápices en etanol al 70% por 1 min. Enjuagar 3 veces con agua destilada estéril. En la cámara aséptica cortar los ápices de 3 nudos y colocar en medio sólido I (agar o gelrite) detallado en el cuadro 80.

Dividir y separar los brotes para cultivarlos en el medio II, después del 2do o 3er subcultivo pasar al medio III.

Cuadro 80. Medio para el cultivo de VID

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
Sales MS	3/4	3/4	3/4
NaH PO .H O (mg/l)	-	170	150
Tiamina (mg/l)	0,4	0,4	0,4
SO Ad (mg/l)	-	80	-
Inositol (mg/l)	100	100	25
BA (mg/l)	0,1	2	-
AIA (mg/l)	-	-	0,1
Sucrosa (g/l)	30	30	10
Gelrite (g/l)	1	2	1
Agar (g/l)	0,5	0,5	0,5
pH=5,3			

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 2

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Ápices

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 75% por 3 min, luego en NaOCl al 15% + 0,1% de tween 20 por 15 min, lavar 3 veces con agua destilada estéril y luego pasar al medio (I, II) descrito en el cuadro 81. Finalmente después del desarrollo de brotes pasar al medio III para su enraizamiento

Cuadro 81. Medio para el cultivo de Vid

Componentes	I y II Establecimiento y Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	-
Medio Martínez	-	Completo
AG (mg/l)	0,5	-
BAP (mg/l)	1	-
Sucrosa (g/l)	30	30
Agar (g/l)	8	8
pH=5,6		

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 3

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: ápices

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 75% por 3 min, luego con NaOCl al 15% + 0,1% de tween 20 por 15 min, lavar 3 veces con agua destilada estéril luego pasar al medio I descrito en el cuadro 82, luego para obtener la proliferación de brotes pasar al medio II de multiplicación y finalmente para obtener un sistema radicular pasar al medio III.

Cuadro 82. Medio para el cultivo de Vid

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	Completo	Completo	-
Medio White	-	-	Completo
BAP (mg/l)	2,25	2,25	-
Sucrosa (%)	3	3	-
Agar (%)	-	0,8	-

Fuente: (Mejía, 1994)

En el cuadro 83, se describe la composición del medio White.

Cuadro 83. Medio White (1943)

Componentes	Cantidades
KNO (mg/l)	80
Ca (NO) .4H O (mg/l)	144
MgSO .7H O (mg/l)	74
KCl (mg/l)	65
KH PO (mg/l)	12,5
MnSO .4H O (mg/l)	6,6
ZnSO .7H O (mg/l)	2,7
H BO (mg/l)	1,5
KI (mg/l)	0,75
Fe (SO) (mg/l)	2,5

Fuente: (Mejía, 1994)

En el cuadro 84, se describe la composición del medio Martínez

Cuadro 84. Medio Martínez

Componentes	Cantidad
Macroelementos	
CaNO ₃ .4H ₂ O (mg/l)	283,2
NAH ₂ PO ₄ .2H ₂ O (mg/l)	170
MgSO ₄ .7H ₂ O (mg/l)	370
(NH ₄) ₂ SO ₄ (mg/l)	6
KCl (mg/l)	521,8
Microelementos	Cantidad
KI (mg/l)	0,83
H ₃ BO ₃ (mg/l)	6,2
MnSO ₄ .H ₂ O (mg/l)	22,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O (mg/l)	8,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (mg/l)	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O (mg/l)	0,025
FeSO ₄ .7H ₂ O (mg/l)	27,8
Na ₂ EDTA (mg/l)	37,3
Vitaminas	Cantidad
Tiamina (mg/l)	1,011
Piridoxina (mg/l)	1,028
Ac. Nicotínico (mg/l)	1,44
Mioinositol (mg/l)	10
Otros componentes	
Sucrosa (g/l)	15
Agar (g/l)	8
ANA (g/l)	0,01

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 4

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: ápices

Temperatura: 23 °C

Procedimiento:

Remover las hojas de los ápices, luego desinfectar mediante una agitación vigorosa con NaClO al 0.6% más tween 20 al 0.1% por 20 min. Enjuagar 3 veces los ápices con agua destilada estéril, luego cultivar en el medio I de establecimiento descrito en el cuadro 85.

Después de varias semanas, transferir los explantes al medio II de proliferación.

Cuadro 85. Medio para el cultivo de Vid

Componentes	I Establecimiento	II Multiplicación
MS (mg/l)	¾	Completo
SO Ad (mg/l)	60	80
NaH PO .H O (mg/l)	128	170
IBA (mg/l)	0,023	0,03
BAP (mg/l)	2	2
Sucrosa (g/l)	20	20
Agar (g/l)	7	-
pH	5,7	5

Fuente: (Mejía, 1994)

Protocolo 5

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Segmentos nodales

Temperatura: 25 ± 1 °C

Procedimiento:

Desinfectar con etanol al 70% (v/v) por 3 min, hipoclorito de calcio al 3% (p/v) conteniendo 0.2% (v/v) de tween 20 por 10 min y enjuagar 3 veces con agua destilada estéril y pasar al medio descrito en el cuadro 86 para su enraizamiento.

Cuadro 86. Medio para el enraizamiento de especies vitícolas

Componentes	Medio de enraizamiento
NH NO (mg/l)	500
KNO (mg/l)	1000
CaCl .2HO (mg/l)	200
MgSO .7H O (mg/l)	180
KH PO (mg/l)	100
MnSO .7H O (mg/l)	5
H BO (mg/l)	1
ZnSO .7H O (mg/l)	1
KI (mg/l)	0,5
CuSO .5H O (mg/l)	0,01
CoCl .6H O (mg/l)	0,01
EDTA (mg/l)	40
Biotina (mg/l)	0,1
Ac.nicotínico (mg/l)	5
Piridoxina (mg/l)	5
Tiamina (mg/l)	5
Pantetonato Ca (mg/l)	5
Inositol (mg/l)	100
Sucrosa (%)	2
Agar (%)	0,50
IBA (mg/l)	3-5
pH=6,4	

Fuente: (Mejía, 1994)

59. YUCA, *Manihot esculenta*. Euphorbiaceae



Fuente: (Mercado, 2010)

Descripción

La yuca (*Manihot esculenta*) pertenece a la familia Euphorbiaceae. Es un arbusto perenne, leñoso, de tamaño variable y fotoperíodo corto. Es monoica, de ramificación simpodial y con variaciones en la altura de la planta que oscilan entre 1 y 5 metros, aunque la altura máxima generalmente no excede los 3 metros. Posee flores que tienen cinco sépalos y 10 estambres. Su fruto es una cápsula de 1 a 2 cm de diámetro, dehiscente y semicircular (Cock, 1989).

Protocolo de propagación *in vitro* de la yuca

Protocolo 1

Fuente:(Mejía, 1994)

Explante: Yemas axilares

Procedimiento:

Remover los tallos nuevos crecidos de esquejes. Lavar los nudos con 10% de cloro por 15 min con algunas gotas de detergente y enjuagar con agua destilada estéril. Escindir las yemas axilares de secciones nodales luego pasar al medio I descrito en el cuadro 86. Para la multiplicación, cultivar las secciones nodales en medio fresco libre de hormonas en el medio II. Después de 3-4 semanas pasar al medio III.

Cuadro 86. Medios para el cultivo de yuca

Componentes	I Enraizamiento	II Multiplicación	III Enraizamiento
MS	½	Completo	Completo
IBA (µM)	2,5	-	2,5
BAP (µM)	-	1	-
ANA (µM)	-	0,25	-
Sucrosa (%)	3	3	3
Agar (%)	0,80	0,80	0,80
pH=6,0			

Fuente: (Mejía, 1994)

Cuadro 87. FORMULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Componentes	Medios															
	A	B5	G	HE	HI	HO	KN	KU	LS	WPM	MM	MS	NI	SH	VW	WH
NH NO (mg/l)	400	-	-	-	-	-	-	-	1650	400	-	1650	720	-	-	-
KNO (mg/l)	480	2500	125	-	160	607	125-200	-	1900	-	-	1900	950	2500	525	80
CaCl 2H O(mg/l)	440	150	-	75	-	-	-	-	440	95	-	400	166	200	-	-
MgSO 7H O(mg/l)	370	250	125	250	720	250	125-200	250	370	370	125	370	185	400	250	720
KH PO (mg/l)	-	-	125	-	-	-	125-200	250	170	170	125	170	68	-	250	-
(NH) SO (mg/l)	-	134	-	125	-	-	-	500	-	-	1000	-	-	-	500	-
NaH PO H O(mg/l)	380	150	125	-	132	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	165
Ca (PO) (mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	200	-
Ca(NO) 4H O(mg/l)	-	-	500	-	800	945	500-800	1000	-	556	500	-	-	-	-	300
Na SO (mg/l)	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	200
KCl(mg/l)	-	-	-	750	130	-	-	-	-	-	1000	-	-	-	-	65
K SO (mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	990	-	-	-	-	-	-
NaNO (mg/l)	-	-	600	600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NH H PO (mg/l)	-	-	-	-	-	115	-	-	-	-	-	-	-	300	-	-
H BO (mg/l)	6,2	3	0,05	1	3	2,86	-	-	6,2	6,2	-	6,2	10	5	-	1,5
MnCl 4H O(mg/l)	-	-	-	-	-	1,81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
MnSO H O(mg/l)	16,9	10	3	-	-	-	-	-	-	22,3	-	16,9	-	1	-	-
MnSO 4H O(mg/l)	-	-	-	0,1	4,5	-	-	7,5	22,3	-	-	-	25	-	7,5	-
ZnSO 7H O(mg/l)	8,6	2	0,18	1	3	-	-	-	8,6	8,6	-	8,6	10	1	-	3
KI(mg/l)	-	0,75	0,5	0,1	0,375	-	-	-	0,33	-	-	0,83	-	1	-	0,75
Na MoO 2HO (mg/l)	0,25	0,25	-	-	-	-	-	-	0,25	0,025	-	0,25	0,25	0,1	-	-

CuSO 5H O(mg/l)	0,025	0,025	0,05	-	-	-	-	-	0,025	0,25	-	0,025	0,25	0,2	-	-
CoCl 6H O(mg/l)	0,025	0,025	0,05	-	-	-	-	-	0,025	-	-	0,025	-	0,1	-	-
FeSO 7H O(mg/l)	55,7	27,8	-	-	-	5	-	25	2,8	27,8	-	27,8	27,8	15	-	-
Fe(SO) (mg/l)	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
NaEDTA(2H O)(mg/l)	74,5	37,3	-	-	-	-	-	-	37,3	37,3	-	37,3	37,3	20	-	-
Fe tartrato(mg/l)	-	-	-	-	5,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	-
Biotina(mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-
Inositol(mg/l)	100	100	-	-	-	-	-	-	100	100	-	100	100	1000	-	-
SO Adenina(mg/l)	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÁcidoNicotínico(mg/l)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	0,5	5	5	-	0,5
Tiamina, HCl(mg/l)	0,4	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	0,1	0,5	5	-	0,1
Pyridoxine, HCl(mg/l)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	0,5	0,5	0,5	-	0,1
Glycina(mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	-	-	3
Sucrosa(g/l)	30000	30000	-	-	-	-	-	-	30000	20000	-	30000	20000	-	-	20000
AIA(mg/l)	10	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	1-30	0,1	-	-	-
2iP(mg/l)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kinetina(mg/l)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001 – 10	-	-	0,4-10	-	-	-	-
Agar(g/l)	6000	-	-	-	-	-	-	-	10000	6000	-	1000	8000	-	-	-

Clave:

A: Anderson (1978)
 B5: Gamborg (1968)
 G: Gautheret (1942)
 HE: Heller (1953)
 HI: Hildebrandt Riker – Dugan (1946)
 HO: Hoaglan (1950)
 KN: Knop (1965)
 KU: Knudson C (1946)

LS: Lismanier – Skoog (1965)
 WPM: McCown – Lloyd (1980)
 MM: Morel Muller (1964)
 MS: Murashige – Skoog (1962)
 NI: Nitsch _ Nitsch (1969)
 SH: Schenk – Hildebrant (1972)
 VW: Vacin-Went (1949)
 WH: White (1963)

ABREVIATURAS

2,4-D Acido 2,4-dicloro fenoxiacético

A Adulto.

ABA Acido Absícico

AD agua destilada. KM-8p: medio de Kao & Michayluk (Kao & Michayluk, 1975).

ADN Ácido desoxirribonucleico

AIA Ácido Indolacético

AIB Acido Indolbutírico

AIP Acido indolpropiónico

ANA Acido Naftalén Acético

ANOVA Análisis de Varianza

ATP Adenosín Trifosfato

B5 Medio B5 de Gamborg (Gamborg, 1968).

BAP bencilaminopurina.

BHT Butyl Hidroxitolueno

BK1 medio de Brewbaker & Kwack modificado (Brewbaker & Kwack, 1963).

C.M. Coeficiente de multiplicación

CA carbón activado.

CH caseína hidrolizada.

v/v Volumen/volumen

DEPAC w/v Peso/ volumen

DKW Medio Driver Kuniyuki Walnut

DMSO dimetilsulfóxido.

EDTA Acido Etileno-diaminotetracético

FAA Formol Ácido acético Alcohol etílico

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations

G germinación.

GA3 Acido Giberélico

GD Gresshoff y Doy

HPLC Cromatografía Líquida de Alta Resolución

IAN Indol-3- Acetonitrilo

IAOx Indol-3-Acetaldoxime

IGP Indol-3-Glicerolfosfato

IPA Iso Pentenil Adenosina

J juvenil.

Kin ó Kn Kinetina

L Medio Lepoivre

LS Medio Linsmaier y Skoog

MA, MVA Micorriza arbuscular, Micorriza Vesículo Arbuscular

MeOH Metanol

MI microinjerto.

MPP micropropagación.

MS medio de Murashige & Skoog).

N medio de Nitsh (Nitsch & Nitsch, 1969).

NPK Nitrógeno, fósforo, potasio

OA organogénesis adventicia.

PROT protoplastos.

S.D. sin datos.

SH ó SyH Medio Schenk y Hildebrandt

WPM Woody Plant medium

Z Zeatina

ZR Ribósido de Zeatina

BIBLIOGRAFÍA

- Adelan, M. (27 de Noviembre de 2013). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de Migajas de tiempo: <http://migajasdetiempo.blogspot.com/2013/11/pasionaria-flor-de-la-pasion.html>
- Alvarez, J. (24 de Mayo de 2010). *Ciencias de Octavo grado, Herbarios*. Recuperado el 2 de Septiembre de 2014, de <http://biologiaoctavoherbarios.blogspot.com/2010/05/ajo.html>
- Alvarez, P., Barrio, M., Díaz, R., Riesco, G., Rigueiro, A., A, R., y otros. (2000). *Manual de Selvicultura de frondosas caducifolias*. España.
- AMPE . (Octubre de 2008). PERFIL DE MERCADO DEL LIMON (Citrus). *AMPEX*, 4.
- Anangonó, A. (24 de Junio de 2006). Quito, Ecuador.
- Azpeitia, A., Zapata, R., & Nava, A. (23 de Abril de 1993). PROPAGACION IN VITRO DE DURAZNO, Prunus persica (L.) Batsch A PARTIR DE YEMAS AXILARES. *INIFAP*, 19(1,2).
- Balbachas, A., & Rodriguez, H. (1982). Las plantas curan. Reformation Herald Pub.
- Barker, T., & Worgan, J. T. (1981). The utilization of palm oil processing effluents as substrates for microbial protein production by the fungus *Aspergillus oryzae*. *Microbio. & Biotechn*, 11(4), 234-240.
- Blancke, R. (1999). *Atlas color de plantas del Caribe y América Central*. Eugen Ulmer.
- Borgues García, M., Malaurie, B., Portales Viltres, S., & Calzadillas Campos, D. (Diciembre de 2008). Efecto de distintas concentraciones de sacarosa en la conservación in vitro de coco (cocos nuciferas L.). (R. C. Biotecnología, Ed.) *Redalyc*, X(2), 111-119.
- Bouzon, E. (2014). Recuperado el 12 de Junio de 2014, de Plantas y jardín: <http://plantasyjardin.com/2011/05/prunus-avium-cerezo-comun/>
- Bremer, B., Kare, B., Mark W, C., F, M., James L, R., Douglas E, S., y otros. (2009). Botanical Journal of the Linnean Society. *The Angiosperm Phylogeny Group III*, 161(2), 128-131.
- Brewster, J. (1994). Onions and other vegetables Allium. *CAB International*.

- Bunsawat, J., Elliott, N., Hertweck, K., Sproles, E., & Lawrence, A. (2004). Phylogenetics of *Mentha* (Lamiaceae). *Systematic Botany*, 29(4), 959-64.
- Cabañas, M., Lamothe, A., & Dominguez, Y. (2005). *Prácticas de Botánica Morfológica y Sistemática*.
- Cañizo, J. (2002). *Palmeras*. Mundi-Prensa.
- Carson, A. (11 de Julio de 2005). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de UNBC & Aleza Lake Research Forest:
http://web.unbc.ca/~fsty201/plant_page.php?familyname=ROSACEAE&plantname=Fragaria%20vesca&commonname=Wood%20strawberry&plantimage=Fragaria%20vesca-spring%20image-fruit.jpg
- Castro, D., & Sánchez, G. (8 de Junio de 2010). PROPAGACIÓN CLONAL IN VITRO DE *Eucalyptus pellita* F. Muell A PARTIR DE ÁRBOLES PLUS. *TEMAS AGRARIOS*.
- Castro, O. (2004). *Evaluación y selección inicial de accesiones de Brachiaria spp para suelos ácidos*.
- Cazabonne, C. (13 de Julio de 2011). La Mandarina (*Citrus reticulata*). *La jornada por un periodismo objetivo y pluralista*.
- Chemilevsky, G. (2013). Recuperado el 17 de Junio de 2014, de
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cucurbita_maxima_2012_G1.jpg
- Cherie, A. (29 de Septiembre de 2009). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de
<http://aubreecherie.com/horticulturebyheart/2009/09/plant-capsicum-annuum-chinese-five-color/>
- Classics. (s.f.). *The Tart or Sour Cherry should be required for every home*. Recuperado el 7 de Junio de 2014, de
<http://classics.uc.edu/~parker/hortus/plants.pictures/C/cerasus/images/Prunus.cerasus.2.jpg>
- Cock, J. (1989). *La yuca, nuevo potencial para un cultivo tradicional*. Cali: CIAT.
- Coderch, E. (7 de Junio de 2011). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de
<http://floresypalabras.blogspot.com/2011/06/brassica-suongo.html>
- Conabio. (2009). *Catálogo taxonómico de especies de México*. México: Conabio.

- Concepción, O., Nápoles, L., Pérez, A., Peralta, N., & Trujillo, R. (Diciembre de 2004). Regeneración de brotes adventicios en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*, VI(2), 54-61.
- Coria, N., Pérez, A., Sarquís, J., Cantú, I., González, H., & Gómez, M. (2004). REGENERACIÓN DE LA PLANTA DE PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) IN VITRO A PARTIR DEL ESTOLÓN. *CIENCIA UANL*, VII(3), 361-369.
- Croat, T. (1983). A Revision of the Genus *Anthurium* of Mexico and Central America. Panama: MBG Press.
- Cuenca, F. (2012). El limonero. *El huerto urbano :: El huerto en casa*.
- Delange. (21 de Mayo de 2005). Recuperado el 6 de Septiembre de 2014, de http://www.delange.org/Dwarf_Peach_Tree/Dwarf_Peach_Tree.htm
- Domínguez, R. (1990). *Tesis. Taxonomía Stresiptera e Himenóptera*. México.
- Dostert, N., Roque, J., Torre, M., & Weigend, M. (2012). Hoja Botánica: Cacao. Lima-Perú: Agencia de la GIZ en el Perú.
- Dwyer, J. (1980). Annals of the Missouri Botanical Garden. *Flora de Panamá*, 67, 1-522.
- Ecured. (2014). Recuperado el 26 de Junio de 2014, de http://www.ecured.cu/index.php/Thunia_alba
- ELICRISO. (2000). Recuperado el 24 de Junio de 2014, de <http://www.elicriso.it/es/orquideas/cattleya/>
- Elicriso. (2000). *Elicriso*. Recuperado el 12 de Junio de 2014, de http://www.elicriso.it/es/como_cultivar/geranio/
- Enciclopedia. (2007). *Allium schoenoprasum*. Recuperado el 17 de Junio de 2014, de http://enciclopedia.us.es/index.php/Allium_schoenoprasum
- Enríquez, J. A. (2001). RESCATE DEL GERMOPLASMA DE DURAZNO *Prunus persica* L. BATSCH. ESTABLECIDO EN ZACATECAS. *5as Jornadas de Investigación Universidad Autónoma de Zacatecas*.
- FEDEPALMA. (2002). *Guía ambiental para el subsector de la Agroindustria de la Palma de Aceite*. Bogotá.
- Fernández, C. (15 de Abril de 2012). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Asturnatura.com: <http://www.asturnatura.com/fotografia/flora/vicia-faba-1/12530.html>

- Fernandez, R. (27 de Marzo de 2012). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de http://rfernandezbarrueco.blogspot.com/2012_03_01_archive.html
- Ferraris, G., & Couretot, L. (2013). Área de Desarrollo Rural INTA EEA Pergamino, Proyecto Regional agrícola, CRBAN. *Pregon Agropecuario*.
- Ferrer, L. (9 de Septiembre de 2013). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://viverosvanguarden.blogspot.com/2013/09/orquideas-disponibles-xiv.html>
- Fireflyforest. (s.f.). *Glandularia*. Recuperado el 4 de Junio de 2014, de <http://www.fireflyforest.com/flowers/1159/glandularia-bipinnatifida-dakota-mock-vervain/>
- Flores, D., Jiménez, V., & Chacón, R. (2009). Cultivo de tejidos en Ficus carica con miniestacas. *Agronomía Mesoamericana*, 20(2), 319-325.
- Fonteriz, J. (25 de Abri de 2013). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de Villor: <http://plantasvillor.es/phalaenopsis-sp-falensis-orquideas-mariposa-orquidea-boca/>
- Foreword. (s.f.). *Sugar canecrops*. Recuperado el 3 de Junio de 2014, de <http://www.sugarcane crops.com/s/Foreword/>
- Gallardo, E. (29 de Mayo de 2011). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.estevegallardoblog.com/2011/05/pendiente-12.html>
- García, D., & Serrano, H. (2005). La piña, Ananas comosus (L.) Merr. (Bromeliaceae), algo más que un fruto dulce y jugoso. *Departamento de Ciencias de la Salud UAM-I*, 55-61.
- García, J. A. (14 de Febreo de 2013). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://kanobosur.blogspot.com/2013/02/arbol-frutal-chivacu.html>
- García, P. (2014). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de http://www.acao.org.ar/cultivo_de_cymbidium.html
- Giuseppe, A. (2003). *Jardin botanico*. Merida.
- Gómez, P. (5 de Agosto de 2010). *El Tamiz*. Recuperado el 3 de Septiembre de 2014, de <http://eltamiz.com/2010/08/05/el-cafe/>
- Graveson, R. (1999). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Guayaba: <http://www.sld.cu/fitomed/guayaba.htm>

- Greppi, J., & Hagiwara, J. (Junio de 2011). Sistemática y taxonomía de plantas vasculares. *Scielo*, 49(1).
- Guerrero, A. (2013). Recuperado el 9 de Septiembre de 2014, de Flora de la parroquia rural Pomasqui (Ch – Cy).: <http://pinzonesygorriones.blogspot.com/2014/01/flora-de-la-parroquia-rural-pomasqui-ch.html>
- Hanan, A., & Mondragón, J. (13 de Agosto de 2009.). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/fichas/ficha.htm>
- Hernández Zapata, H. (2012). Recuperado el 2 de Junio de 2014, de <http://maringatova.blogspot.com/2008/09/tagetes-patula-y-erecta.html>,
- Huerto Natural. (12 de Enero de 2010). Recuperado el 6 de Septiembre de 2014, de <http://huerto-natural.blogspot.com/2010/01/espinaca-bio.html>
- Isely, D. (1990). Leguminosae. *Vascular Flora of the Southeastern United States*, 3.
- Jiménez, J. (2002). *Manual práctico para el cultivo de la papaya*. Limón-Costa Rica: EATH.
- Johnson, Owen, More, & David. (2006). *Tree Guide*. (M. Pijoan Rotger, Trad.) Omega.
- Judd, W., Campbell, C., Kellogg, E., Stevens, P., & Donoghue, M. (2002). *Plant systematics*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Kent, T. H. (13 de Junio de 2010). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de http://www.florafinder.com/Species/Picea_glauca_var_albertiana_Conica.php
- Kosina, P. (6 de Diciembre de 2011). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <https://www.flickr.com/photos/clobrda/6495508453/>
- Lehmuskallio, J. (s.f.). Recuperado el 23 de Junio de 2014, de <http://www.luontoportti.com/suomi/es/kukkakasvit/veronica-espigada>
- Leugnerová, G. (2 de Febrero de 2008). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://botany.cz/en/pinus-sylvestris/>
- Leyva, H. (2012). *Manual para la producción y utilización forrajera*. México: Universidad Autónoma Chapingo.

- López, G. (2001). *Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Madrid: Mundi-Prensa.
- López, S. (29 de Mayo de 2014). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de Peces y plantas ornamentales:
<http://pecesormentalesmarinodulce.blogspot.com/2014/05/mangifera-indica-manguero.html>
- Luchi, R. (30 de Mayo de 2012). Recuperado el 14 de Septiembre de 2014, de
http://urandía.blogspot.com/2012/05/hierbas-del-planeta-sol-segun-william_30.html
- Luer, C.A. (1986). *Systematics of Pleurothallis, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* (Vol. 20).
- M, C., & Willson K, C. (1985). *Botany, biochemistry and production of beans and beverage*. London: Crom Helm.
- MacVean, A. (2007). *Arboretum*. Recuperado el 2014 de Septiembre de 2014, de Universidad Francisco Marroquín: <http://arboretum.ufm.edu/familia-de-planta/meliaceae/>
- Maringatova. (2008). Recuperado el 1 de Junio de 2014, de
<http://maringatova.blogspot.com/2008/09/tagetes-patula-y-erecta.html>
- Martinez, J. (5 de Octubre de 2011). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Botanofilia, el oráculo de la botánica:
<http://botanofilia.blogspot.com/2011/10/annona-muricata.html>
- Mejía, R. (1994). *Agrobiotecnología Fundamentos y aplicaciones. Propagación comercial 312 especies de plantas por cultivo in vitro*. Perú.
- Méndez, I. (2011). *Paquete Tecnológico Café Robusta (Coffea canephora P.) Establecimiento y mantenimiento*. México: Centro de Investigación Regional Pacífico Sur.
- Menéndez Valderrey, J. (26 de 8 de 2013). *Asturnatura*. Recuperado el 3 de Junio de 2014, de <http://www.asturnatura.com/especie/pinus-sylvestris.htm>.ISSN
- Menéndez, J. (20 de Abril de 2008). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de "Ficus carica": <http://www.asturnatura.com/especie/ficus-carica.html>
- Menéndez, J. (26 de 8 de 2013). Recuperado el 3 de Junio de 2014, de <http://www.asturnatura.com/especie/pinus-sylvestris.htm>.ISSN

- Mercado, J. (5 de Octubre de 2010). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://secadodeyuca.blogspot.com/>
- Merino Laguna, F. M. (14 de Septiembre de 2012). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.redjaen.es/francis/?m=c&o=929>
- Mifsud, S. (Diciembre de 2007). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de http://www.maltawildplants.com/MUSA/Musa_paradisiaca.php
- Millián, L. (2006). MICROPROPAGACIÓN DE CUATRO ESPECIES. España: UNIVERSIDAD DE SANTIAGO.
- Monroig, M. (s.f.). *Academic*. Recuperado el 6 de Junio de 2014, de <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id51.htm>
- Mora, J. (16 de Abril de 2011). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://caesalpiniaceae.blogspot.com/>
- Muñoz, F. (1996). *Plantas Medicinales y Aromáticas; estudio, cultivo y procesado*. Madrid-España: 2da Reimpresión. Editorial Mundi Prensa S.A.
- Navas, L. (1973). *Flora de la cuenca de Santiago de Chile* (Vol. TomoIII). Santiago: Universidad de Chile.
- Nietzsche, F. (28 de Junio de 2010). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.panoramio.com/photo/37290173>
- Nirmal, R. (6 de Octubre de 2007). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de Treknature: <http://es.treknature.com/gallery/photo134152.htm>
- Okumaning-Kade, G. (1995). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de http://www.virboga.de/Elaeis_guineensis.htm
- Ortíz, R. (5 de Septiembre de 2007). abc Color. *UN ÁRBOL DE INTERÉS COMERCIAL*.
- Otahola, A., & y González, V. (25 de Noviembre de 2010). Regeneración in vitro de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* y *Passiflora quadrangularis* utilizando dos tipos de explantes provenientes de plantas adultas y bencilaminopurina. *UDO Agrícola*, 10(1), 23-28.
- Owen, J., & More, D. (2006). *Arboles guía de campo*. Omega.

- Palacios, N., & Leech, M. (2004). Análisis de iridoides y expresión de genes que codifican enzimas tempranas en la síntesis de alcaloides indol terpenóicos en *Catharantus roseus*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(1), 36-42.
- Paltrinieri, G., & Figueroa, F. (1998). *Procesamiento de Frutas y Hortalizas mediante métodos artesanales y de pequeña escala*. Santiago de Chile: FAO.
- Pascoe, M. (2011). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.canadaplants.ca/display.php?id=3731>
- Pastor, E. (9 de Septiembre de 2012). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://www.espores.org/es/component/k2/art%3%ADculo-agricultura.html>
- Pellionis, R. (1999). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de http://www.nahuby.sk/obrazok_detail.php?obrazok_id=47836
- Pérez, M. (16 de Diciembre de 2012). Recuperado el 7 de Junio de 2014, de <http://www.botanicayjardines.com/camellia-sinensis/>
- Pérez, M. (13 de Diciembre de 2012). Recuperado el 2 de Septiembre de 2014, de <http://www.botanicayjardines.com/alnus-cordata/>
- Pérez, M. (2012). *Botánica y jardines*. Recuperado el 23 de Junio de 2014, de <http://www.botanicayjardines.com/allium-tuberosum/>
- Pérez, M. (2013). Recuperado el 17 de Junio de 2014, de http://es.wikipedia.org/wiki/Pinus_palustris
- Pérez, M. (29 de Enero de 2013). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.botanicayjardines.com/morus-nigra/>
- Pérez, R. (2014). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Digital File Manager: <http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfm/metas/view/18125>
- Pfaht, J. (Febrero de 2008). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?t=95761>
- Pirovics, B. (7 de Diciembre de 2008). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de <http://www.flickr.com/photos/bobypirovics/3095048591/>
- Purdue. (1989). *Compendio de Agronomía tropical*. Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y el Ministerio de Asuntos Extranjeros de Francia.

- Quintero, A., & Espinosa, E. (Septiembre de 2010). MÉTODO EFICIENTE DE REGENERACIÓN vitro DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia*, 44, 57-64.
- R., D. (s.f.). *Conabio*. Recuperado el 6 de Junio de 2014, de <http://conabio.inaturalist.org/taxa/bigotillo>
- Radivo, S. (26 de Diciembre de 2008). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de <http://www.actaplantarum.org/floraitaliae/viewtopic.php?t=8540>
- Ramírez, T. (2008). *Manual Técnico del cultivo cocotero (Cocos nucífera L.)*. Honduras: Fintrac.
- Ramos, G. (1991). *El Cultivo del ajo en el Estado Mérida*. Maracay: Serie Paquetes Tecnológicos N° 10.
- Riedemann, P., & Aldunate, G. (2004). *Flora nativa de valor ornamental*. Santiago: Andrés Bello.
- Rignanese, L. (1995). *Calphotos*. Recuperado el 5 de Junio de 2014, de http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=0000+0000+0808+0077
- Rignanese, L. (2005). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de CalPhotos: http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=0000+0000+0905+0572
- Rignanese, L. (2008). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=0000+0000+0808+0077
- Roig, J. (1988). *Plantas medicinales, aromáticas o venosas de Cuba*. Científico Técnica.
- Roldán, E. (2005). *ESTUDIO DE LOS NEMATODOS FORMADORES DE QUISTES EN PAPA Solanum tuberosum L., PARA DESCARTAR LA PRESENCIA DEL NEMATODO DORADO DE LA PAPA EN EL MUNICIPIO DE JALAPA, JALAPA.* . Guatemala.
- Rubio, J. (2014). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://www.planthogar.net/enciclopedia/documentos/4/varios/12/te-verde.html>
- Sabina, A. (27 de Abril de 2012). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de http://www.etnobotania.com/2012_04_01_archive.html
- Saunders, B. (2010). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de GardensOnline: http://www.gardensonline.com.au/GardenShed/PlantFinder/Show_939.aspx

- Scheper, J. (2007). Recuperado el 12 de Septiembre de 2014, de http://www.floridata.com/ref/c/cari_pap.cfm
- Shura, S. y. (5 de Mayo de 2009). *El Cacao y sus Derivados*. Recuperado el 3 de Septiembre de 2014, de <http://todosobrechocolate.blogspot.com/>
- Sierra, A. (15 de Abril de 2009). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de BioArchivo: <http://www.bioarchivo.com/index.php?q=content/imagen/pelargonium-spp>
- Soriano, B. (2012). *MORFOGÉNESIS IN VITRO Y OBTENCIÓN DE PLANTAS TRANSGÉNICAS DE MELÓN (Cucumis melo L.)*. Almería-España.
- Spiekman. (1993). *Polen atmosférico en Europa*. UCB.
- Starnes, S. (2007). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de http://www.hawaiiantropicalplants.com/PHOTOS/Ananas_comosus.jpg
- Tenorio, P. (16 de Julio de 2009). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/raphanus-sativus/fichas/ficha.htm>
- Tobón, A. (17 de Julio de 2008). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Banco de objetos de aprendizaje y de información: <http://aprendeonline.udea.edu.co/ova/?q=node/433>
- Tokura, Y., Rondón, M., Villanueva, G., & Botero, L. (1996). *Especies forestales del Valle del Cauca*. Cali-Colombia: Lenner.
- Tolosa, H. (19 de Mayo de 2012). *Flora Bonaerense*. Recuperado el 3 de Junio de 2014, de <http://florabonaerense.blogspot.com/2012/05/crataegus-pyracantha-coccinea.html>
- Torres P., M., Trujillo P., D., & Arahana B., V. (6 de Enero de 2010). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium Floribundum* Kunth). (P. S.de la Torre, Ed.) *Avances en ciencias e ingenierías*, 2, B9-B15.
- Torres, R. (1999). *Evaluación de fertilización al suelo con cobertura de polietileno y su efecto sobre mosca minadora y trips en arveja china*. Guatemala.
- tree, B. (2013). *Coffea canephora*. Recuperado el 6 de Junio de 2014, de <http://www.banana-tree.com/Product/COFFEA-Canephora-SKU417-408.htm>

Turcz, M. (11 de Noviembre de 2009). Recuperado el 13 de Septiembre de 2014, de Red Nacional de Jardines Botánicos: <http://www.biodiversidad.co/ficha/id/1022>

Ulloa Ulloa, C., & Maller Jorgensen, M. (s.f.). *Árboles y arbustos de los Andes del Ecuador*. Recuperado el 23 de Junio de 2014, de http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=134285

Universidad Católica de Oriente. (12 de 6 de 2008). *Catálogo virtual ilustrado de la flora del oriente antioqueño*. Recuperado el 12 de Junio de 2014, de <http://www.uco.edu.co/floraorienteanioquia/fagaceae/Quercus-humboldtii-Bonpl/Paginas/default.aspx>

Vásquez, A. B. (1980). Diccionario maya-español Cordemex. Yucatán.

Vásquez, V., Cárdenas, J., & Orozco, J. (2008). *Manual sobre el cultivo del maracuyá (Passiflora edulis) en Colombia*. Bogotá: Produmedios.

Vinueza, M. (s.f.). *Fichas técnicas de especies forestales*. Recuperado el 4 de Junio de 2014, de <http://ecuadorforestal.org/fichas-tecnicas-de-especies-forestales/ficha-tecnica-no-10-eucalipto/>

Zell, H. (27 de Marzo de 2010). Recuperado el 7 de Septiembre de 2014, de Zingiber officinale: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Zingiber_officinale_002.JPG