


Cultivo de microesquejes de parchita (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)

Microcutting culture of passionfruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)

Maribel RAMÍREZ VILLALOBOS ¹, Teresa Edith VARGAS² y Eva DE GARCÍA²

¹Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Departamento de Botánica. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. Apartado 15205. ZU4005. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela y

²Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Apartado 47114. Los Chaguaramos, Caracas 1041, Venezuela. E-mails: mcramire2008@yahoo.com y mcramire@cantv.net  Autor para correspondencia

Recibido: 30/05/2008 Fin de primer arbitraje: 05/03/2009 Primera revisión recibida: 27/05/2009
Fin de segundo arbitraje: 17/07/2009 Segunda revisión recibida: 30/09/2009 Aceptado: 05/10/2009

RESUMEN

La fruta de la parchita (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) es de gran importancia por sus múltiples usos como fruta fresca y en la agroindustria, y por su jugo que es rico en minerales (calcio y fósforo) y vitaminas (A y C). Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la benciladenina (BA) y de agentes gelificantes sobre la brotación de microesquejes de parchita. Las concentraciones de BA correspondieron a 0 y 2 mg/L y los agentes gelificantes agar-agar (7 y 9 g/L) y gelrite (2 g/L). Transcurridos treinta días de cultivo todos los tratamientos produjeron 100% de explantes brotados y enraizados, encontrándose diferencias significativas ($P < 0,05$) sólo en el número de brotes por explante. El cultivo de microesquejes en medio nutritivo con 2 mg/L de BA y solidificado con 7 g/L de agar-agar presentó el máximo número de brotes por explante (5,9). Los microesquejes presentaron alta respuesta de brotación, lo que muestra el potencial de este explante para el establecimiento de un sistema de propagación clonal *in vitro* de la parchita.

Palabras clave: Benciladenina, agar-agar, gelrite, microesquejes, brotación.

ABSTRACT

Passionfruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) is of great importance by its multiple uses as fresh fruit and in agroindustry, because its juice is rich in minerals (calcium and phosphorus) and vitamins (A and C). The objective of the present work was to evaluate the effect of the benziladenine (BA) and the solidifying agents, on the sprout of passionfruit microcuttings. The two concentrations of BA corresponded to 0 and 2 mg/L and the solidifying agents were agar-agar (7 and 9 g/L) and gelrite (2 g/L). After thirty days of culture in all the treatments explants produced 100% of sprouted and rooted explants, being significant differences ($P < 0.05$) only in the number of buds by explants. Microcuttings growing culture medium with 2 mg/L of BA and solidified with 7 g/L of agar-agar displayed the maximum number of sprout for explant (5, 9). Microcuttings showed a high efficient sprouting demonstrated the potential of this explant for the establishment of a system for *in vitro* clonal propagation of passionfruit.

Key words: benziladenine, agar-agar, gelrite, microcuttings, sprouting.

INTRODUCCIÓN

Passiflora edulis Sims f. *flavicarpa* Deg. (Parchita) nativa de Brasil es una variedad botánica de la *P. edulis* Sims, posiblemente originada de una mutación (Avilán *et al.*, 1992). El género *Passiflora* comprende varios cientos de especies nativas del trópico y subtropico de Sur América, las cuales están agrupadas en 21 subgéneros (Guzzo *et al.*, 2004). Este género es considerado como el más importante de la familia *Passifloraceae*, se conocen aproximadamente 450 especies, la mayoría de las cuales son endémicas y se distribuyen en el trópico

(Rodríguez y Perea, 2001). Varias especies son comestibles y algunas tienen valor medicinal y otras ornamental por sus atractivas flores (Hall *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2007; Bisalacchi *et al.*, 2008). Varias especies son investigadas por su importancia económica y ampliamente cultivadas para la producción de jugo de frutas (Guzzo *et al.*, 2004).

La parchita en especial es un cultivo de gran importancia económica y social en países tropicales y subtropicales del mundo debido a que representa fuente de alimento, empleo y divisas, y por sus múltiples usos como frutal, ornamental y propiedades

medicinales (Nhut *et al.*, 2007). Este especie ha sido utilizada como sedativo, diurético, antidiarreico, estimulante, tónico, así como tratamiento para la hipertensión, síntomas menopáusicos, cólicos de infantes en Sur América (Dhawan *et al.*, 2004). Los extractos acuosos de las hojas y fracciones derivadas (residuo acuoso y butanólico) han mostrado acción anti-inflamatoria en modelos experimentales *in vitro* y *ex vivo* (Pizzetti *et al.*, 2007). En estos extractos también se ha verificado la actividad antioxidante *in vitro* y *ex vivo*, la cual se ha correlacionado con compuestos fenólicos (Rudnicki *et al.*, 2007).

Los principales países productores de parchita son Brasil, Colombia, Ecuador y Perú, los cuales aportan el 90% de la producción mundial. Venezuela es otro país considerado importante con una superficie de 1000 ha y producción entre 15.000 y 20.000 t/año (Schwentenius y Gómez, 2005). Esta producción se encuentra distribuida en los estados Zulia, Mérida, Barinas, Cojedes, Aragua, Carabobo, Apure, Táchira, Monagas y Yaracuy, y está destinada para la industria de jugos y concentrados, que tienen gran aceptación en el mercado nacional. El cultivo de la parchita en Venezuela se ha incrementado en los últimos años, debido al aumento de la demanda de la fruta y a la notoriedad como cultivo de exportación, lo que ha motivado que muchos productores se interesen en su siembra (Pérez *et al.*, 2005).

La parchita es una de las frutas más apetecidas y apreciadas por su excelente sabor y aroma, tanto para consumo fresco como para la agroindustria de jugos, concentrados, refrescos, vinos, helados, dulces, entre otros. La cáscara del fruto (50% del peso total) deshidratada se utiliza como suplemento alimenticio animal, y las semillas contienen 10% de proteína y 20% de aceite comestible (Avilán *et al.*, 1992). El jugo de la fruta es rico en hidratos de carbono (2,4 g/100 ml), calcio (5 mg/100 ml), fósforo (17 mg/100 ml), vitamina A (648 mg/100 ml), vitamina C (20 mg/100 ml) y vitamina B2 (0,1 mg /100 ml), y además presenta cualidades farmacológicas como sedativo y antiespasmódico (Ruggiero *et al.*, 1996).

La mayoría de las plantaciones comerciales de parchita se establecen con plántulas obtenidas de semillas, lo cual genera variabilidad genética (Avilán *et al.*, 1992; Pérez *et al.*, 2005). Esta situación aunada a la vida útil de producción del cultivo, que es muy corta debido a la presencia de plagas y enfermedades (Avilán *et al.*, 1992), crea la necesidad de la

micropropagación de cultivares seleccionados sobresalientes con alto rendimiento libres de enfermedades (Isutsa, 2004), mediante un manejo integrado que podría incluir la microinjertación (Monteiro, 2009).

La aplicación de la biotecnología en los programas de mejoramiento genético de la parchita requiere de metodologías específicas que permitan regenerar plantas *in vitro*, la eliminación de patógenos, la micropropagación rápida de líneas superiores y la transformación de plantas. Adicionalmente, estas metodologías contribuirían en la implementación de bancos de germoplasma evitando la extinción de muchas especies, cuyo hábitat se encuentra amenazado (Rodríguez y Perea, 2001). El cultivo de microesquejes es un método sencillo, natural y seguro, sin problemas de mutaciones, debido a que permite la formación de un tallo con hojas y yemas en sus axilas a partir de la estimulación del desarrollo de la yema o las yemas que se encuentran presentes en el nudo del explante original (Hartmann y Kester, 2001).

Los sistemas de cultivo de tejido dependen del equilibrio de una serie de factores tales como reguladores del crecimiento, la luz, la temperatura, el pH, los nutrientes, el agente gelificante, entre otros (Monteiro *et al.*, 2000; Hartmann y Kester, 2001; Azadi *et al.*, 2007). En otras especies se ha encontrado que los agentes gelificantes tienen un marcado efecto sobre la brotación y el enraizamiento (Zsabados *et al.*, 1993; Azadi *et al.*, 2007).

Las citoquininas tienen gran importancia económica sobre todo en la industria de la micropropagación, la cual está basada en la capacidad de las citoquininas, solas o en combinación con las auxinas para promover la brotación de las yemas axilares (Segura, 2000). Varios trabajos en parchita reportan el efecto benéfico de las citoquininas en la formación de brotes en explantes cultivados *in vitro* (Casarrubias *et al.*, 2001; Isutsa, 2004). Dada la importancia de la parchita para el país en esta investigación se evaluó el efecto de la benciladenina y agentes gelificantes sobre la brotación de microesquejes de parchita cultivados *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

En esta investigación se utilizaron 60 plántulas de parchitas (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) de cuatro meses de edad cultivadas

en macetas bajo condiciones de umbráculo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela. De cada plántula se recolectó el brote terminal de 25 cm de largo, a los cuales se les eliminaron las hojas con cuidado, dejando parte del pecíolo para evitar dañar las yemas, y se seccionaron en esquejes de 10 cm. Se lavaron por 5 min con agua más 1 ml/L de jabón líquido (26,7% de Fenilsulfonato de sodio y 0,08% de Irgasan DP-300), se colocaron durante 15 min en 1 ml/L de Vitavax 200F (17% Carboxin + 17% Thiram) y por 10 min en 1 ml/L de Povidine (1,1 g/100 ml de iodo + 8,5 g/100 ml de Polivilpirrolidona). Luego, se efectuó un enjuague con agua destilada después del tiempo de exposición en cada producto para quitar el exceso. Después los esquejes se dejaron por 10 min en cloro comercial (hipoclorito de sodio 5,25% i.a) al 20% más 2 gotas/L de Tween 20 para romper la tensión superficial.

Luego bajo condiciones asépticas, en la cámara de flujo laminar, se realizaron tres enjuagues con agua destilada esterilizada y se procedió a cortar microesquejes semiduros, de un centímetro de largo y con una yema axilar, correspondientes entre la tercera y sexta posición con respecto al ápice del brote. La siembra de los explantes se hizo en frascos de vidrio (90 mm x 55 mm) con 30 ml del medio nutritivo de Murashige y Skoog (MS) (1962) más 30 g/L de sacarosa y la citocinina benciladenina (BA) a concentraciones de 0 y 2 mg/L. El medio se solidificó con gelrite a 2 g/L y con agar-agar a 7 y 9 g/L. El pH del medio se ajustó a 5,8 antes de esterilizarlo a 121° C y 1,1 kg/cm² de presión por 20 min. Las condiciones de incubación fueron bajo luz fluorescente continua y temperatura de 25±1° C.

Se utilizó un diseño experimental totalmente al azar con cinco repeticiones y seis explantes como unidad experimental. A los 30 días de cultivo se evaluaron las variables de estudio porcentajes de explantes contaminados (PEC), viables (PEV), brotados (PEB) y número de brotes (mayores de 3 mm) por explante (NB). El análisis de la variable NB se realizó mediante el procedimiento MLG (modelo lineal general) univariante del programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 12 (Pérez, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación se obtuvo 91,3% de explantes viables, libres de contaminación y sin

problemas de ennegrecimiento u oxidación de los tejidos, a los 30 días de cultivo. En todos los tratamientos se obtuvo 100% de explantes brotados y enraizados, sin embargo se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para el número de brotes por explante (Figuras 1 y 2). El cultivo de microesquejes en medio MS con 2 mg/L de BA y solidificado con 7 g/L de agar-agar permitió el máximo número de brotes por explante (Figura 1). Este tratamiento también se caracterizó por alcanzar 100% de explantes brotados a los siete días de cultivo, mientras que en los otros tratamientos dicha inducción ocurrió aproximadamente a los quince días.

Los microesquejes cultivados en medio MS sin BA y solidificado con 7 g/L de agar-agar mostraron bajo número de brotes por explantes, respuesta muy parecida a la de aquellos microesquejes en medios con BA y solidificados con 2 g/L de gelrite ó 9 g/L de agar-agar. El alto porcentaje de explantes brotados y enraizados logrado

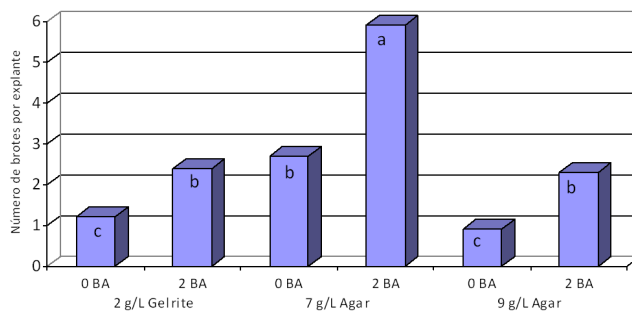


Figura 1. Medias de número de brotes por explante en microesquejes de parchita en medio de cultivo con benciladenina (2 mg/L de BA) y solidificado con gelrite o agar-agar, después de 30 días de establecidos. Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

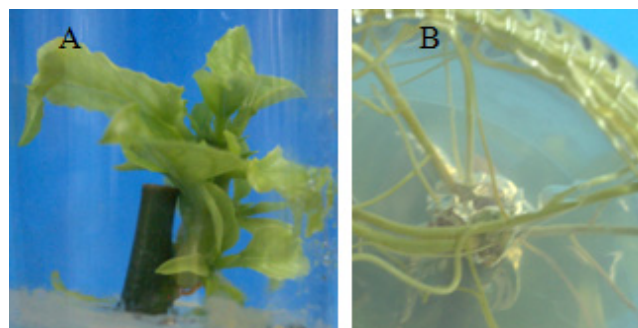


Figura 2. A) Microesqueje de parchita cultivado en medio con benciladenina y solidificado con 7 g/L de agar-agar, después de 30 días de establecidos. B) Microesqueje enraizado.

en todos los tratamientos de esta investigación evidenció que los microesquejes de parchita son explantes ideales para la micropropagación de esta especie. La alta respuesta de brotación obtenida se relaciona al regulador del crecimiento BA, que promueve la división celular y la proliferación de yemas, entre otros (Taiz y Zeiger, 2002, Raven *et al.*, 2005).

Existen pocas investigaciones en microesquejes de parchita, algunas de ellas señalan el potencial de este tipo de explante para la multiplicación *in vitro* de dicha especie, en medio de cultivo: Nitsch con 2 mg/L de cinetina (Moran, 1978), MS más 1 a 2 mg/L de BA (Biasi *et al.*, 2000), MS con 3 mg/L de BA (Monteiro *et al.*, 2000) y MS con 2 a 3 mg/L de BA (Rodríguez y Perea, 2001). Sin embargo estos trabajos no presentan porcentajes de microesquejes viables, brotados y enraizados. En otras *Passifloras* como *P. alata* se reporta un 82 % de microesquejes con brotes en medio WPM (Mc Cown y Lloid) suplementado con 2 mg/L de BA (Rodríguez *et al.*, 2007).

En esta investigación todos los microesquejes de parchita desarrollaron varios brotes y produjeron raíces en el medio nutritivo MS (1962) con o sin BA (2 mg/L) (Figura 1). En otros tipos de explantes de parchita como segmentos internodales se ha logrado la formación de brotes cuando se cultivaron en MS con 1 a 2 mg/L de BA y enraizaron en medio sin reguladores de crecimiento (Biasi *et al.*, 2000). En yemas apicales del vástago se indica la formación de brotes múltiples al implantar las yemas en medio MS más 5 mg/L de BA (Isutsa, 2004), o bien en 0,45, 1,13 y 4,5 mg/L de BA y el enraizamiento de los microesquejes en MS con o sin BA, pero añadiéndole 0,35 mg/L de AIA, (Faria y Segura, 1997).

El efecto favorable de las citocininas sobre la formación de vástagos en parchita también se ha observado para yemas axilares (43% de brotación de las yemas) cultivadas en medio MS con 2 mg/L de cinetina (Moran, 1978), en cotiledones de parchita en medio MS suplementado con 2,25 mg/L de BA y agua de coco al 10% (12,1 brotes/explante) (Hall *et al.*, 2000) y en secciones de hojas en medio MS con 0,6 mg/L de BA (44% de explantes con brotes) (Otahola, 2000) y en MS con 1 y 1,5 mg/L de BA (47,5 y 60% de las secciones foliares) (Trevisan y Mendes, 2005).

Es posible que en el tratamiento de 2 mg/L de BA y 7 g/L de agar-agar evaluado en parchita permitiera una incorporación más rápida de la benciladenina y los componentes del medio de cultivo en los explantes. Los medios de cultivo con o sin BA solidificados con 9 g/L de agar-agar ó 2 g/L de gelrite presentaron bajo número de brotes por explante (Figura 1). Al comparar estos resultados con los reportados en otras investigaciones en parchita, se encontró que no hay datos relacionados con el efecto de agentes gelificantes sobre la brotación de los explante. En otras especies como la rosa (*Rosa hybrida* cv. 'Rafaela') se ha obtenido un mayor número de brotes por explantes cuando se disminuye la concentración de agar a 4,4 g/L (Azadi *et al.*, 2007); y en yuca (*Manihot esculenta*) el gelrite, comparado con el agar, permitió un mayor crecimiento en microesquejes (Zsabados *et al.*, 1993).

CONCLUSIÓN

El cultivo de microesquejes de parchita en medio nutritivo MS (1962) con 2 mg/L de BA y solidificado con 7 g/L de agar-agar permitió a los treinta días de cultivo *in vitro* 100% de explantes brotados y enraizados, y 5,9 brotes por explante. Los microesquejes presentaron alta respuesta de brotación, lo que muestra el potencial de este explante para el establecimiento de un sistema de propagación clonal *in vitro* de la parchita, así como su uso para la microinjertación.

LITERATURA CITADA

- Avilán, L.; F. Leal y D. Bautista. 1992. Manual de Fruticultura. Principios y manejo de la producción. Segunda Edición. Editorial América C. A. Caracas, Venezuela. 1467 p.
- Azadi, P.; E. Khosh, E. Beyramizadeh and H. Bagheri. 2007. Optimization of factors affecting *in vitro* proliferation and rooting of *Rosa hybrida* L. cv. 'Rafaela'. International Journal of Agricultural Research 2: 626-631.
- Biasi, L.; M. Falco, A. Rodriguez and B. Mendes. 2000. Organogenesis from intermodal segments of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.) 57: 661-665.
- Bisacchi, H.; C. Severin, M. Gattuso, A. Aguirre, O. Di Sapio y S. Gattuso. 2008. Cultivo a campo de

- Passiflora caerulea* L. micropropagada: estudios histológicos y químicos. *BLACPM* 7: 257-263.
- Casarrubias, G.; M. Delgado, J. Vara, R. Suárez y J. Rascado. 2001. Propagación *in vitro* de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) utilizando diferentes concentraciones de auxinas, citoquininas y giberelinas. *Horticultura Mexicana* 8: 87.
- Dhawan, K.; S. Dhawan and A. Sharma. 2004. *Passiflora*: a review update. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 1-23
- Faria, J. and J. Segura. 1997. Micropropagation of yellow passionfruit by axillary bud proliferation. *HortScience* 32: 1276-1277.
- Guzzo, F.; S. Ceoldo, F. Andretta and M. Levi. 2004. *In vitro* culture from mature seeds of *Passiflora* species. *Scientia Agricola* (Piracicaba, Braz.) 61: 108-113.
- Hall, R.; R. Drew, C. Higgins and R. Dietzgen. 2000. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* fv. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. *Australian Journal of Botany* 48: 673-680.
- Hartmann, H. y D. Kester. 2001. Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. Octava Reimpresión. Editorial Continental. México. 760 p.
- Isutsa, D. 2004. Rapid micropropagation of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) varieties. *Scientia Horticulturae* 99: 395-400.
- Monteiro, A.; E. Higashi, A. Gonçalves and A. Rodríguez. 2000. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passionfruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). *In vitro Cell Developmental Biology-Plant* 36: 527-531.
- Monteiro, L. 2009. Técnicas de cultivo *in vitro* e microenxertia *ex vitro* visando a eliminação do Cowpea Aphid-Borne Mosaic virus em Maracujazeiro-Azedo. http://bdt.d.bce.unb.br/tesedimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=976. (15/03/2009).
- Moran, M. 1978. Multiplication végétative, *in vitro*, des bourgeons axillaires de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener et de *P. mollissima* Bailey. *Fruits* 33: 693-699.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nhut, D.; B. Khiet, N. Thi, D. Thuy, N. Duy, N. Hai and P. Huyen. 2007. High frequency shoot formation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) via thin cell layer (TCL) technology. *In: 417-426. Protocols for micropropagation of Wood tres and fruits*. Editor Springer Netherlands. Part 2. [http://springerlink.com/context/v36414616283k7u0/\(17/3/2009\)](http://springerlink.com/context/v36414616283k7u0/(17/3/2009)).
- Otahola, V. 2000. Regeneración de plantas de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) a partir del cultivo de discos de hojas. *Bioagro* 12: 71-74.
- Pérez, C. 2005. Técnicas Estadísticas con SPSS 12. Aplicaciones al análisis de datos. Madrid. Editorial Pearson Prentice Hall, Pearson Educación, S.A., 802 p.
- Pérez, S., M. Delis y L. Rosales. 2005. Prepare sus viveros de parchita: asegure plantas sanas y de calidad, de rápido establecimiento y desarrollo del cultivo. *Revista Digital CENIAP Hoy* 7, Aragua Venezuela. url: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n7/arti/perezd/arti/perez.d.htm (17/3/2009).
- Pizzetti, J.; A. Montanher, S. Zucolotto, E. Schenkel and T. Frode. 2007. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. *Food Chemistry* 104: 1097-1105.
- Raven, P.; R. Evert and S. Eichhorn. 2005. *Biology of plants*. Seventh edition. New York. W.H. Freeman and Company Publishers. 686 p.
- Rodríguez, M.; C. Severín, G. Giubileo, M. Gattuso, L. Pulido, O. Di Sapio y S. Gattuso. 2007. Cultivo *in vitro* de *Passiflora alata*, una forma de conservación genética. *Actas de Horticultura* 48: 69-72.
- Rodríguez, R. y M. Perea. 2001. Morfogénesis *in vitro* de Passifloras. *In: p. 177-183. Biotecnología Agrícola. Un enfoque hacia el mejoramiento de plantas*. M. Perea Dallos (ed.). Editora Guadalupe LTDA, Colombia.

- Rudnicki, M.; M. de Oliveira, T. Pereira, F. Reginatto, F. Dal-Pizzol and J. Fonseca. 2007. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. *Food Chemistry* 100: 719–724.
- Ruggiero, C.; A. São José, C. Volpe, J. De Oliveira, J. Durigan, J. Baumgartner, J. Da Silva, K. Nakamura, M. Ferreira, R. Kavati e V. Pereira. 1996. Maracajá para exportação: Aspectos técnicos da produção. Ministerio da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Programa de Apoio à produção e exportação de frutas, hortaliças, flores e plantas ornamentais. EMBRAPA – SPI, Brasil. 64 p.
- Schwentenius, R. y M. Gómez. 2005. Mercado mundial del maracuyá. Revista sobre desarrollo sustentable en México y América Latina. http://vinculado.org/mercado_maracuya.html (17/3/2009).
- Segura, J. 2000. Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal. *In:* p. 305-323. J. Azcón y M. Bieto (Eds). Fundamentos de fisiología vegetal. Primera Edición. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U. Edicions Universitat de Barcelona.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant physiology. Third Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland Massachusetts. 690 p.
- Trevisan, F. and B. Mendes. 2005. Optimization of *in vitro* organogenesis in passion fruit *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *Scientia Agricola* (Piracicaba Braz.) 62 : 346-350.
- Zsabados, L.; V. Núñez, L. Tello, G. Mafla, J. Roa y W. Roca. 1993. Agentes gelatinizadores en el cultivo de tejidos. *In:* 79-93. Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. W. Roca y L. Mroginski (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) No. 151. Cali, Colombia.