

EVALUACIÓN DE TIPO DE EXPLANTE PARA EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE MAJO (*Oenocarpus bataua* Mart.)

Evaluation of explant type for the *in vitro* establishment of majo (*Oenocarpus bataua* Mart.)

Maria Isabel Llusco Tarqui^{1*}, Félix Fernando Manzaneda Delgado², Marco Antonio Echenique Quezada³,
Juan José Aparicio Porres⁴, Jose Luis Calle Peralta⁵

RESUMEN

El majo (*Oenocarpus bataua* Mart.), como se la conoce en Bolivia, es una planta originaria de la zona neotropical (américa del sur). El estudio busca evaluar la eficiencia del establecimiento *in vitro* de la especie *Oenocarpus bataua* Mart. utilizando diferentes tipos de explantes: embrión y raíz. La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental Sapecho, del departamento de La Paz, Bolivia. El trabajo se realizó entre los meses de septiembre de 2023 a junio de 2024. El objetivo fue determinar el tipo de explante (embrión o raíz) más adecuado para el establecimiento *in vitro*. Se utilizaron explantes de embrión y raíz, sometidos a procesos de desinfección y cultivo *in vitro* en un medio de cultivo específico. Se midieron variables como el porcentaje de contaminación total, contaminación por hongos, bacterias y oxidación, así como el porcentaje de sobrevivencia y germinación. Los resultados mostraron que los explantes embrionarios presentaron una menor tasa de contaminación total (40,74 %), por hongos y bacterias en comparación con los explantes radiculares (66,67 %). Sin embargo, los explantes embrionarios presentaron una mayor tasa de oxidación (9,26 %). En cuanto a la sobrevivencia, los explantes embrionarios mostraron una mayor tasa de germinación (46,3 %), aunque no todos los explantes sobrevivieron. Se concluye que los explantes embrionarios de *O. bataua* Mart. son más adecuados para el establecimiento *in vitro* debido a menor susceptibilidad a la contaminación y una mayor tasa de germinación. Se recomienda realizar estudios adicionales en los explantes embrionarios.

Palabras clave: majo, establecimiento, explante, *in vitro*, contaminación.

ABSTRACT

The majo (*Oenocarpus bataua* Mart.), as it is known in Bolivia, is a plant native to the neotropical zone (South America). The study aims to evaluate the efficiency of *in vitro* establishment of the species *Oenocarpus bataua* Mart. using different types of explants: embryo and root. The research was carried out at the Biotechnology Laboratory of the Sapecho Experimental Station, in the department of La Paz, Bolivia. The work was carried out from September 2023 to June 2024. The objective was to determine the type of explant (embryo or root) most suitable for *in vitro* establishment. Embryo and root explants were used, subjected to disinfection processes and *in vitro* culture in a specific culture medium. Variables such as the percentage of total contamination, contamination by fungi, bacteria and oxidation, as well as the percentage of survival and germination were measured. The results showed that embryonic explants presented a lower rate of total contamination (40.74 %), fungal and bacterial contamination compared to root explants (66.67 %). However, embryonic explants presented a higher rate of oxidation (9.26 %). In terms of survival, embryonic explants showed a higher germination rate (46.3 %), although not all explants survived. It is concluded that embryonic explants of *O. bataua* Mart. are more suitable for *in vitro* establishment due to lower susceptibility to contamination and higher germination rate. Further studies on embryonic explants are recommended.

Keywords: majo, establishment, explant, *in vitro*, contamination.

Artículo original

DOI: <https://doi.org/10.53287/nedd1152pp51q>

Recibido: 13/11/2023

Aceptado: 27/12/2024

¹ *Autor de correspondencia: Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. mlluscotarqui@gmail.com

² Docente Investigador, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0169-2411>. fmanzaneda@umsa.bo

³ Docente Investigador, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y de Recursos Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7574-2258>. maechenique@umsa.bo

⁴ Docente Investigador, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y de Recursos Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-4037>. jjaparicio@umsa.bo

⁵ Docente, Carrera de Ingeniería en Producción y Comercialización Agropecuaria, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4558-601X>. calleperaltajose Luis@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El majo (*Oenocarpus bataua* Mart.), como se la conoce en Bolivia (milpesos en Colombia, ungurahua en Ecuador, ungurahui en Perú, patauá en Brasil, seje en Panamá y Venezuela), es una planta originaria de la zona neotropical, es una palmera que está ampliamente distribuida desde Panamá hasta Bolivia y Brasil desde el nivel del mar hasta los 1.400 m de altitud, se conoce popularmente como batauá, patauá (Brasil), milpesos, seje (Colombia), trupa (Colombia, Panamá), chapil (Ecuador), patawa (Guayana Francesa), turu (Guyana), ungurauí (Perú), komboe (Surinam), yagua (Trinidad) y aricaguá (Venezuela) (Henderson et al., 1995).

Es una palma maciza que llega a crecer hasta los 21 m de altura y de tronco solitario con hasta 30 cm de diámetro, que presenta fibras negras y gruesas en la base de las hojas y que en individuos preadultos conforma una red densa, “Es una especie típica de bosques húmedos de tierras bajas y en premontanos andinos entre 150-1.000 m de altitud” (Moraes, 2014a). Esta palmera es apreciada por diferentes propiedades y cualidades de uso múltiple. Las hojas para techado, como escoba, artesanías y utensilios domésticos (esteras, abanicos, etc.); se cosecha el palmito que es comestible (crudo o cocido); el –tronco, para horcones de viviendas, dinteles de puertas y ventanas, canaletas y paredes; los frutos hervidos, se preparan una bebida (llamada leche de majo) con sabor a chocolate y con efecto somnífero; de las semillas se extrae aceite con fines cosméticos y medicinales, también se extrae aceite para cocinar (Moraes, 2014b).

En el departamento de La Paz, Bolivia, “las unidades productivas involucradas en el proyecto de la localidad de Ixiamas aún no ha completado el proceso de organización y no existe información disponible sobre los avances de esta iniciativa relacionadas a la producción de aceite, sin embargo, es importante resaltar que la elaboración de artesanías es una fuerte potencialidad de estas comunidades, quienes muestran una gran destreza para el manejo de las raquillas” (Miranda et al., 2008).

Los huéspedes vegetales, vectores y patógenos virales se ven afectados por las repercusiones directas de los cambios climáticos, a saber, cambios en los patrones de lluvia, sequía, mayores velocidades del viento, aumento de la temperatura, emisiones de gases de efecto invernadero e indirectamente a través de factores como fluctuaciones regionales en las regiones cultivadas, rangos de cultivos, prácticas agrícolas, distribución de vectores y su abundancia, y también reservorios, huéspedes potenciales de malezas (Loya, 2023).

La biotecnología se utiliza para resolver problemas en todos los aspectos de la producción y elaboración agrícolas, incluido el fitomejoramiento, para elevar y estabilizar el rendimiento, mejorar la resistencia a plagas, animales y condiciones abióticas adversas como la sequía y el frío, y aumentar el contenido nutricional de los alimentos. Se utiliza también, con el fin de crear material de propagación/plantación de bajo costo y libre de enfermedades (Sharry et al., 2015).

“El término cultivo de tejidos vegetales (CTV) involucra diferentes técnicas de cultivo de tejidos, órganos o células vegetales. Consiste en regenerar plantas a partir de explantes o explantos (ápices de raíces o de tallos, primordios de hojas, primordios o partes inmaduras de flores, frutos inmaduros, órganos aislados, embriones maduros o inmaduros, segmentos de órganos de tallo o de hojas, ovarios, óvulos, anteras y polen) cultivados en medios nutritivos adecuados y en forma aséptica” (Sharry et al., 2015).

“La biotecnología comprende una amplia variedad de conocimientos y tecnologías que incluyen disciplinas básicas y aplicadas, tales como la genética, biología celular y molecular, química, bioprocesos, biofermentación, aplicaciones farmacéuticas, aplicaciones médicas, y recientemente, la genómica, bioinformática, ingeniería genética y la proteómica” (Valdez et al., 2004). “La micropropagación o propagación clonal, es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones” (Castillo, 2004).

El establecimiento *in vitro* permite mejorar el acceso a una gran cantidad de plantas a partir de cantidades mínimas de material vegetal (majo), su desarrollo productivo ayuda en la mejora de la calidad en la producción nacional e incrementando el rendimiento productivo en el país. Además, permite propagar especies de plantas que pueden presentar alguna dificultad por los métodos tradicionales. Permite eliminar enfermedades de las plantas que son causadas por virus, bacterias y hongos sin depender de la época del año.

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el tipo de explante para el establecimiento *in vitro* de majo (*Oenocarpus bataua* Mart). La investigación fue realizada en el marco del el Convenio Interinstitucional entre el Fondo Nacional de Desarrollo Forestal (FONABOSQUE) y la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) para la ejecución del Proyecto “Manejo integral y bioconservación ambiental de frutos del bosque en el norte amazónico del departamento de La Paz (FASE I)”.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental Sapecho (E.E.S.), dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés. Se ubica en la localidad de Sapecho, en el área 2 de la región del Alto Beni, provincia Sud Yungas del departamento de La Paz. Geográficamente se encuentra a 15°33' Latitud Sur y 67°20' Longitud Oeste, a una altitud de 400 metros sobre el nivel del mar y a 270 kilómetros de la ciudad de La Paz (Figura 1).



Figura 1. Mapa de ubicación del estudio.

Metodología

Material vegetal. Los explantes utilizados para la investigación son explantes de raíz y embrión proveniente de la semilla de majo.

Selección de planta madre. La selección de la planta madre se realizó de plantines de majo (*Oenocarpus bataua*) que tengan una altura de 40 a 60 cm para extraer las raíces y la selección de semillas de majo, las cuales fueron las más frescas, que no presenten pudrición o que no estén en punto de germinación.

Preparación de medio de cultivo. Dentro del laboratorio de biotecnología vegetal se realiza la preparación de la solución Stock, que está basada en las sales Murashige y Skoog (1962), las cuales están compuestas por cinco

soluciones: A, B, C, D y E, adicionando a este medio agar, azúcar, bencilaminopurina (BAP), ácido naftalenacetico (ANA), tiamina, mio-inositol, ácido nicotínico, 2,4-Diclorofenoxiacetico, carbón activo.

Esterilización de materiales. Los materiales utilizados fueron: cajas Petri, pinzas, bisturí, fueron lavados y secados. Para realizar su esterilización fueron envueltos en papel aluminio y papel madera, esterilizándolos en la autoclave a 120°C, también se puso frascos de agua destilada para su esterilización.

Se procedió a llevar los materiales ya esterilizados a la cámara de flujo laminar, junto a la indumentaria adecuada para lograr trabajar en condiciones asépticas y las soluciones para llevar a cabo la segunda etapa de desinfección del material vegetal, junto a otros materiales como el mechero, encendedor, vasos precipitados de 100 ml, agua destilada esterilizada, alcohol al 70 %, atomizador, papel film, bisturí, marcador indeleble, todo esto para su esterilización con radiación ultravioleta (15 min) y aire estéril por 15 minutos.

Desinfección del material vegetal

Se sometió a dos etapas de desinfección:

- Primera etapa. Para esta primera etapa de desinfección, los procesos fueron realizados fuera de la cámara de flujo laminar, la cual procede de la siguiente manera:
 1. De la semilla de majo, se extrajo el embrión, para lavar con agua corriente para eliminar restos de suciedad, posteriormente se lavó con jabón desinfectante por 10 minutos, enjuagar 3 veces con agua destilada esterilizada.
 2. Fue introducido en una solución de etanol al 70 % (v/v) en constante agitación durante el periodo de 1 minuto. Posterior a ello se procede a realizar el enjuague con agua destilada esterilizada 3 veces.
 3. El explante de los embriones de la semilla de majo, se sumergió en NaClO al 1% (v/v) durante 2 minutos.

Al finalizar cada uno de los periodos mencionados para los diferentes explantes, se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril durante el lapso de un minuto cada enjuague. Este método de desinfección, se repitió después de 6 horas, lo cual hace que sea doble desinfección.

- Segunda etapa. Para esta etapa de desinfección, todos los procesos fueron realizados dentro de la cámara de flujo laminar de la siguiente manera:
 4. El explante fue sumergido en soluciones de fungicida por un periodo de 4 minutos, posterior a ello se realizó el enjuague con agua destilada estéril por un minuto.

Posterior a ello, fue sumergido a una solución de bactericida durante 4 minutos, realizando tres enjuagues con agua destilada estéril durante un minuto.

5. Los explantes de embriones de semilla fueron sumergidos en la solución de formol durante un periodo de 30 segundos, ya que estas pueden proceder a quemarse fácilmente y realizamos el enjuague con agua destilada estéril durante un minuto tres veces.
6. Se realizó el corte de la parte apical del embrión. Las raíces se cortaron a una longitud de 0,5 cm a 1 cm de longitud.
7. Se establecieron los explantes en los medios de cultivo.

Diseño experimental

Se aplicó el diseño completamente al azar con arreglo bifactorial. Las variables de estudio fueron: porcentaje de contaminación total, contaminación por hongos, bacterias, oxidación, porcentaje de sobrevivencia, germinación y explantes que no presentaron respuesta. Los porcentajes de contaminación y sobrevivencia se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Contaminación (\%)} = \frac{\text{Número de plantas contaminadas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

Variables, se evaluaron diferentes variables como el porcentaje de contaminación total, contaminación por hongos, bacterias y oxidación, así como el porcentaje de sobrevivencia y germinación.

Tiempo, el trabajo se realizó entre los meses de septiembre 2023 a junio 2024.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados presentados en el análisis de varianza (ANVA) indican diferencia altamente significativa entre los tipos de explantes, con coeficiente de 7,58 lo que indica que los resultados son confiables y que la investigación fue realizada de forma correcta.

Porcentaje de contaminación total

Los resultados de contaminación total entre los tipos de explante de majo, muestra que se tuvo mayor contaminación en el explante de raíz y menor contaminación en el explante de embrión. La Figura 2 indica que el explante de embrión presenta los niveles de contaminación más bajos en comparación con el explante de raíz. Este hallazgo coincide con varios estudios que destacan la eficacia de técnicas de esterilización específicas y las características inherentes de los explantes embrionarios.

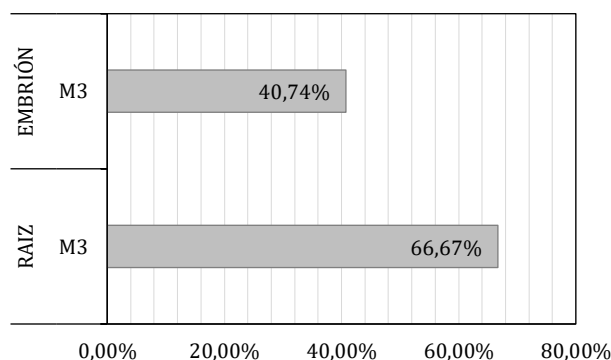


Figura 2. Porcentaje de contaminación total en dos tipos de explante de majo.

Estos resultados obtenidos se deben a diferentes factores, entre ellas, la verificación de la calidad de los medios de cultivo garantiza la validez de los ensayos donde estos son empleados (Burguet y Castillo, 2013). La esterilización con calor húmedo con vapor bajo presión en autoclave, es el procedimiento más empleado para la esterilización de los medios de cultivo (Sharry et al., 2015).

Es indispensable evitar la contaminación con microorganismos para lograr éxito en el establecimiento, incubación y manipulación del tejido *in vitro*, ya que éstos pueden destruir los explantes, retrasar su desarrollo al competir con ellos o generar modificaciones en el medio que afectan negativamente su sobrevivencia y desarrollo (Sánchez-Cuevas y Salaverría, 2004).

Porcentaje de contaminación por hongos

En la Figura 3, se observa que el explante de embrión no mostró contaminación por hongos, mientras que el explante radicular tuvo una tasa de contaminación del 16,6 7% puede atribuirse a varios factores relacionados con las técnicas de esterilización y la susceptibilidad inherente de los diferentes tejidos vegetales. La esterilización eficaz de la superficie es crucial en el cultivo de tejidos para minimizar la contaminación.

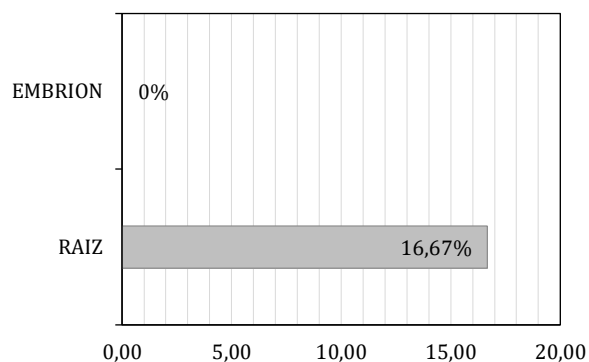


Figura 3. Contaminación por hongos en dos tipos de explantes de majo.

La mayoría de los tipos de organismos microbianos, y en particular las bacterias y los hongos, compiten negativamente con el material vegetal que crece *in vitro*. Por lo tanto, en la medida de lo posible, los explantes deben estar libres de contaminantes microbianos cuando se colocan por primera vez en un medio nutritivo (George, 2008). “Los pretratamientos de los explantes con fungicidas y bactericidas pueden utilizarse eficazmente para eliminar la contaminación superficial” (Kumar et al., 2023).

Porcentaje de contaminación por bacterias

El explante de embrión principal presenta una tasa de contaminación bacteriana del 31,48 %, notablemente inferior al 50 % de contaminación observado en los explantes de raíces (Figura 4). Esta diferencia pone de relieve la importancia del tipo de explante en la contaminación microbiana durante la propagación *in vitro*.

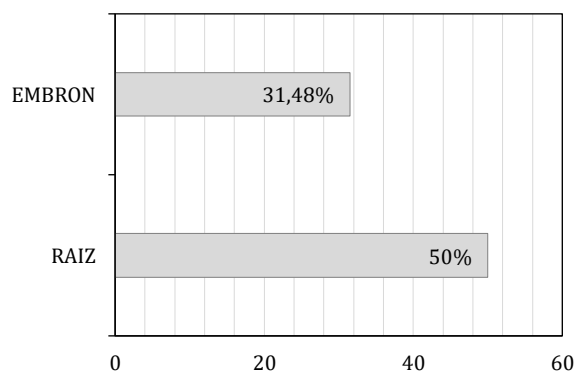


Figura 4. Contaminación por bacteria en dos tipos de explantes de majo.

Los estudios indican que la contaminación bacteriana es un desafío común en la propagación *in vitro*, afectando la viabilidad y el éxito de los cultivos. Por ejemplo, se ha documentado que, en otros cultivos, como el guayabo (*Psidium guajava*), hasta el 76.47 % de los explantes presentaron contaminación por bacteria, lo que limita su establecimiento *in vitro* (Portal et al., 2003). En contraste, los protocolos mejorados (reducción del tamaño del explante, el trabajo por líneas y la detección visual de contaminantes previo al subcultivo del material vegetal) para el manejo de la contaminación bacteriana han mostrado resultados positivos, logrando reducir significativamente las tasas de contaminación a niveles aceptables en otros tipos de explantes (Gutierrez et al., 2019).

Porcentaje de oxidación

Los niveles de oxidación observados en los explantes de embriones (Figura 5), específicamente del 9,26 %, destacan diferencias significativas en comparación con los explantes de raíces, que no mostraron datos de oxidación. Este fenómeno es fundamental, debido a que la oxidación puede afectar negativamente al desarrollo del embrión.

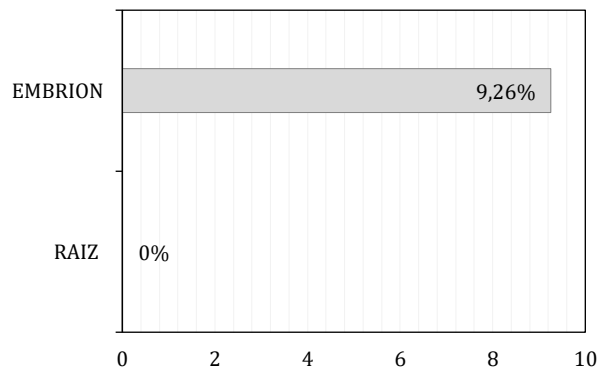


Figura 5. Oxidación de explantes.

Los antioxidantes se utilizan a veces si hay un excesivo oscurecimiento del explante, y retardan la oxidación del explante, como ejemplos de antioxidantes son el ácido cítrico, el ácido ascórbico, el pirogalol y el cloroglucinol (Smith, 2013).

Porcentaje de sobrevivencia

El porcentaje de germinación de los embriones en el cultivo *in vitro* pueden variar significativamente según la composición y las condiciones del medio. En el caso del embrión, se observó un porcentaje de germinación del 46,30 % (Figura 6), lo que indica una respuesta favorable al medio de cultivo. Sin embargo, el 12,96 % de los explantes no germinaron a pesar de estar libres de contaminación. Además, el porcentaje de sobrevivencia de las raíces fue del 33,33 %, lo que sugiere que, si bien algunos embriones prosperan, es posible que otros no respondan eficazmente a las condiciones *in vitro*.

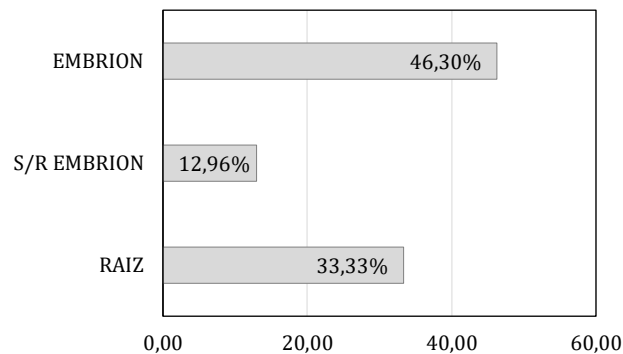


Figura 6. Porcentaje de germinación de embriones, embriones que no presentaron respuesta y raíces.

La adición de vitaminas y hormonas del crecimiento puede mejorar la germinación y el desarrollo de las raíces, aunque no siempre son imprescindibles (Figueiredo et al., 2018). Las diferentes composiciones de los medios, como las concentraciones variables de sacarosa, afectan significativamente a las tasas de germinación, como se ha observado en los embriones de coco, donde los medios sólidos mejoraron la germinación hasta un 91,66 % (Vidhanaarachchi et al., 2016).

CONCLUSIONES

Los explantes de embriones presentan una menor tasa de contaminación total (40,74 %) en comparación con los explantes radiculares (66,67 %). Esto sugiere que el tejido embrionario es menos susceptible a la contaminación microbiana, posiblemente debido a su menor superficie expuesta y a su estado de desarrollo más temprano.

Los explantes de embriones mostraron una ausencia completa de contaminación (0,0 %) por hongos, mientras que los explantes radiculares presentaron una tasa considerable (16,67 %). Esto indica que los hongos encuentran un ambiente menos propicio para su desarrollo en los tejidos embrionarios.

Aunque los explantes embrionarios también presentaron contaminación bacteriana (31,48 %), la tasa fue significativamente menor que en los explantes radiculares (50 %). Esto sugiere que las bacterias, aunque presentes, encuentran mayores dificultades para colonizar los tejidos embrionarios. Los explantes de embriones mostraron una mayor tasa de oxidación (9,26 %) en comparación al explantes de raíces (0,0 %). Esto puede ser debido a la mayor sensibilidad de los tejidos embrionarios a los procesos oxidativos, o a la presencia de compuestos fenólicos que promueven la oxidación.

Los explantes de embriones mostraron una mayor tasa de germinación (46,30 %), aunque no todos los explantes sobrevivieron. La composición del medio de cultivo y la presencia de contaminantes pueden influir significativamente en la tasa de supervivencia.

Agradecimientos

Se agradece al proyecto “Manejo Integral y Bioconservación Ambiental de Frutos del Bosque en el Norte Amazónico del Departamento de La Paz (Fase I)”, financiado por Fondo Nacional de Desarrollo Forestal FONABOSQUE y la Universidad Mayor de San Andrés, por el financiamiento y apoyo en el transcurso del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Burguet, N., & Castillo, L. (2013). Control de calidad de los medios de cultivo utilizados en el monitoreo ambiental de las áreas clasificadas de producción. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51(2), pp. 155-160. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032013000200004
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. INIA Uruguay. Montevideo, Uruguay: INIA Las Brujas. <https://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Figueiredo, N., Correa, A., De Moraes, A., Vianna, V., Di Mauro, A., & Uneda-Trevisoli, S. (2018). Influence of supplementation of the culture medium on in vitro development of *Jatropha curcas*. *Científica*, 46(4), pp. 398-402.
- George, E. (2008). Plant Tissue Culture Procederu - Background. En E. George, M. Hall, G. De Clerk, & (ed), *Plant propagation by Tissue Culture. Volume 1: The Background* (3rd Edition ed., pág. pp. 503. Dordrecht, Holanda: Springer.
- Gutierrez, Y., Folgueras, M., Santos, A., López, J., Medero, V., Reinaldo, D., & Alvarado-Capó, D. (2019). Manejo de la contaminación bacteriana en la propagación in vitro de yemas axilares de *Colocasia esculenta* cv. 'INIVIT MC2012'. *Revista Biotecnología vegetal*, 19(2), pp. 147-152. <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n2/2074-8647-bvg-19-02-147.pdf>
- Henderson, A., Galeano, G., & Bernal, R. (1995). *Field Guide to the Palms of the Americas*. New Jersey, USA: Princeton Legacy Library.
- Kumar, S., Sehrawat, S., Malik, A., Yashveer, S., Kumar, D., & Kumar, P. (2023). Optimizing surface sterilization for micropropagation of *Gerbera jamesonii*: A Study on Explant Survival and Contamination Control. *Plant Cell Biotechnology and molecular Biology*, 24(3-4), pp. 83 - 88.
- Loya, N., Sarda, K., Singh, R., Saha, S., Gupta, N., & Kumar, S. (2023). Plant virus diseases dynamics under modified environments and their impacts on host virus-vector landscape. *Advances in Global Change Research*, pp. 485-506.
- Miranda, J., Zenteno, F., Nina, H., Montaña, F., & Mercado, J. (2008). El majo (*Oenocarpus bataua*) una alternativa de biocomercio en Bolivia. La Paz, Bolivia.: Trópico - PNBS - FAN. Ediciones Trópico. https://www.researchgate.net/publication/237838479_El_majo_Oenocarpus_bataua_una_alternativa_de_Biocomercio_para_Bolivia_LIBRO_2008
- Moraes, R. M. (2014a). Palmeras de Tumupasa en La Paz, Bolivia. La Paz, Bolivia: Herbario Nacional de Bolivia. Instituto de Ecología. Universidad Mayor de San Andrés. https://www.researchgate.net/publication/269102249_Palmeras_de_Tumupasa_en_La_Paz_Bolivia
- Moraes, R. M. (2014b). Palmeras útiles de Bolivia. Las especies mayormente aprovechadas para diferentes fines y aplicaciones. La Paz, Bolivia: Herbario Nacional de Bolivia - Universidad Mayor de San Andrés, Plural editores. https://www.researchgate.net/profile/Monica-Moraes-R/publication/268981515_Palmeras_utiles_de_Bolivia/links/548071280cf25b80dd7236ba/Palmeras-utiles-de-Bolivia.pdf

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, pp. 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Portal G., N., Caraballoso, I., Alvarado C., Y., & Leiva M., M. (2003). Bacterias contaminantes en la fase de establecimiento in vitro del guayabo. *Revista Biotecnología Vegetal*, 3(3), pp. 4. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/251/html>
- Sánchez-Cuevas, M. C., & Salaverría, J. L. (2004). Control de la oxidación y la contaminación en el cultivo in vitro de fresa (*Fragaria X ananassa* Duch.). *Revista UDO Agrícola*, 4(1), pp. 21-26.
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015). Plantas de probeta. Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de La Plata. Editorial de la Universidad de La Plata. https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo_.pdf-PDFA.pdf?sequence=1
- Smith, R. H. (2013). *Plant Tissue Culture. Techniques and Experiments*. Elsevier. <https://books.google.com.bo/books?hl=en&lr=&id=By8psdGWgbkC&oi=fnd&pg=PP2&dq=Plant+Tissue+Culture.+Techniques+and+Experiments.+Thorpe&ots=nxU-QvdcrH&sig=MHzbRUbvZuqgxGzVxm8zu3rns5o#v=onepage&q=Plant%20Tissue%20Culture.%20Techniques%20and%20Experiments.%20>
- Valdez, M., López, R., & Jiménez, L. (2004). Estado actual de la biotecnología en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 52(3). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442004000300034
- Vidhanaarachchi, V., Suranjith, W., & Gunathilake, T. (2016). Effect of genotype, embryo maturity and culture medium on in vitro embryo germination of Sri Lankan coconut (*Cocos nucifera* L.) varieties. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 44(3), pp. 273-278.