

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA



PASANTIA DE INVESTIGACIÓN

Micropropagación *in vitro* de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum)

POR

BR. JUAN ALFONSO HERRERA ARÉVALO

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRONOMO

CIUDAD UNIVERSITARIA, 20 DE ABRIL DE 2026

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

M. SC. JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LIC. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO

M. SC. NELSON BERNABÉ GRANADOS ALVARADO

SECRETARIO

M. SC. EDGAR GEOVANY REYES MELARA

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

M. SC. OSCAR ALONSO RODRÍGUEZ GRACIAS

ASESOR INTERNO

ING. AGR. JENNY XIOMARA ÁNGEL MOLINA

**COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN DEL DEPARTAMENTO DE
FITOTECNIA**

ING. AGR. MARIO ALFREDO PEREZ ASCENCIO

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION

M. SC. EVER ALEXIS MARTÍNEZ AGUILAR

RESUMEN

La pasantía investigación se llevó a cabo en el periodo de abril a octubre de 2025, en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador. Se estableció un protocolo para la micropropagación de una planta herbácea específica, *Calathea macrosepala*. Se estudiaron dos tipos medios basales (Murashige & Skoog y Gamborg B-5), diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento en medios líquidos y semisólidos para la inducción de brotes. El material vegetal utilizado consistió en brotes regenerados *in vitro*, los cuales fueron acondicionados en un medio de cultivo homogéneo. Luego fueron transferidos a distintos tratamientos para evaluar el efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP (6-bencilaminopurina) y KIN (Kinetina), y sus combinaciones. La mayor cantidad de brotes se obtuvo en medio basal B5 con tipo de medio líquido suplementado con 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN + 30 gr/L de sacarosa + 2.5 gr/L de phytigel, el cual se usó como medio de multiplicación. La mayor inducción de hojas se registró en medio basal MS con tipo de medio semisólido suplementado con 1.5 mg/L de KIN. La mayor altura de plántulas se obtuvo en medio basal MS con tipo de medio semisólido, suplementado con 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN. Las plántulas regeneradas se aclimataron con éxito en condiciones de invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a Dios por sostenerme a lo largo de mi vida y estar conmigo en cada etapa dentro de la carrera. Sin él no pudiera lograr nada.

Agradezco a mi mamá Luz de María por ser un pilar fundamental para mi vida, por amarme sin condición, por animarme a seguir en los momentos más difíciles y porque nunca ha dejado de creer en mí y en lo que puedo lograr. Te amo mamá.

Agradezco a Nelson, a mi papá Juan Ramón y mis hermanos por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de mi carrera, sin el cual no hubiera sido posible terminar. También a mi perro Lucas porque se desvelaba conmigo.

Agradezco a mis amigos porque estuvieron conmigo de principio a fin sufriendo por la universidad al igual que yo. Especialmente a Jenni y Marvin.

Agradezco a mis demás compañeritos que me apoyaron en algún momento. Especialmente a Kike y Gissel.

En general le agradezco a todos los docentes que me formaron y por todo el conocimiento que compartieron conmigo.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	2
3. MARCO TEORICO	3
3.1. Clasificación taxonómica.....	3
3.2. Origen y distribución.....	3
3.3. Descripción botánica.....	3
3.3.1. Tallo.	3
3.3.2. Hoja.	4
3.3.3. Rizoma.	4
3.3.4. Inflorescencia.	5
3.3.5. Flor.	5
3.4. Cultivo de Tejidos Vegetales.....	6
3.4.1. Cultivo <i>in vitro</i>	6
3.4.2. Medios de cultivo.	6
3.4.3. Micropropagación	7
3.4.4. Efecto de los reguladores del crecimiento de las plantas	9
3.4.5. Organogénesis.....	9
3.4.6. Organogénesis en <i>Calathea</i> s.....	10
4. METODOLOGIA	11
4.1. Descripción del área de trabajo	11
4.2. Metodología de laboratorio.....	11
4.2.1. Material vegetal	11
4.2.2. Pretratamiento del material <i>in vitro</i>	11
4.2.3. Micropropagación de brotes.....	11
4.2.4. Descripción del lugar donde estaban los tratamientos.....	12
4.2.5. Evaluación de las variables.....	13
4.2.5.4 Evaluación del porcentaje de supervivencia en aclimatación.....	13

4.3. Metodología de campo	15
4.4. Metodología estadística	15
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
5.1. Condiciones para la micropropagación <i>in vitro</i> de Chufle	16
5.1.1. Número de brotes	16
5.1.2. Número de hojas	17
5.1.3. Altura de planta	18
5.1.4. Efecto de la Kinetina	19
5.1.5. Efecto del 6-Bencilaminopurina	20
5.1.6. Efecto de la interacción entre 6-Bencilaminopurina y Kinetina	21
5.1.7. Efecto del medio basal y tipo de medio	21
5.2. Aclimatación y supervivencia de plántulas	23
6. CONCLUSIONES	24
7. RECOMENDACIONES	25
8. BIBLIOGRAFIA	26
9. ANEXOS	31

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del Chufle.....	3
Cuadro 2. Condiciones in vitro evaluadas para la micropropagación de Chufle (Calathea macrosepala K. Schum) a partir de brotes.	12
Cuadro 3. Tratamientos en estudio	13
Cuadro 4. Resumen de resultados del efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en la micropropagación de Chufle.....	22

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hojas de Chufle	4
Figura 2. Rizomas del Chufle.....	4
Figura 3. Inflorescencia de Chufle	5
Figura 4. Flor de Chufle.....	5
Figura 5. Flores de Chufle	5
Figura 6. Semillas de Chufle.....	6
Figura 7. Flujograma de la estrategia experimental	14
Figura 8. Plántula con mayor número de brotes	16
Figura 9. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el número de brotes.....	16
Figura 10. Plántula con mayor número de hojas.....	17
Figura 11. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el número de hojas.....	17
Figura 12. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en la altura de plántula	18
Figura 13. Plántula con mayor altura.....	18
Figura 14. Plántula con menor altura	18
Figura 15. Efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el tipo de medio semisólido. a), e) y f) Plántulas con mayor cantidad de raíces, b) Formación de callo, c) y d) Formación de brotes por organogénesis	19

Figura 16. Efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el tipo de medio líquido. a), b) y f) Plántulas con mayor crecimiento de raíces, c) y d) Muestran mayor cantidad de brotes, e) Poco desarrollo radicular, g) y h)	20
Figura 17. Plantas aclimatadas	23

INDICE DE ANEXOS

Cuadro A- 1. Análisis de varianza para el número de hojas	31
Cuadro A- 2. Análisis de varianza para el número de brotes.....	31
Cuadro A- 3. Altura promedio de la plántula a los 30 días.....	32
Cuadro A- 4. Datos para evaluar estadísticamente Medio, Tipo de medio, BAP, KIN y la interacción entre BAP + KIN en hojas y brotes	33
Figura A- 1. Elaboración de medio de cultivo. a) y b) Extracción de Kinetina con micropipeta, c) Medio de cultivo	37
Figura A- 2. Proceso de subcultivo. a) Separación de hojas, b) Separación de brotes y raíces, c) Brote limpio, d) Brote en medio de cultivo, e) Rotulado de frasco	37
Figura A- 3. Brotes regenerados previamente al ensayo.....	38
Figura A- 4. Homogenización de brotes en 1 BAP	38
Figura A- 5. Montaje de tratamientos	38
Figura A- 6. Cultivo in vitro. a) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido sin reguladores. b) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 KIN. c) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 BAP.	39
Figura A- 7. Cultivo in vitro. a) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. b) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido sin reguladores. c) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 KIN.	39
Figura A- 8. Cultivo in vitro. a) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 BAP. b) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. c) Brotes a los 20 días en medio MS líquido sin reguladores	39

Figura A- 9. Cultivo in vitro. a) Brotes a los 20 días en medio MS líquido con 1.5 KIN. b) Brotes a los 20 días en medio MS líquido con 1.5 BAP. c) Brotes a los 20 días en medio MS líquido con 1.5 KIN + 1.5 BAP	40
Figura A- 10. Cultivo in vitro. a) Brotes a los 20 días en medio B5 líquido sin reguladores. b) Brotes a los 20 días en medio B5 líquido con 1.5 KIN. c) Brotes a los 20 días en medio B5 líquido con 1.5 BAP	40
Figura A- 11. Plántulas. a) Brotes a los 20 días en medio B5 líquido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. b) Plántulas a los 30 días, desarrolladas en medio MS semisólido sin reguladores. c) Plántulas a los 30 días, desarrolladas en medio B5 semisólido sin reguladores.	40
Figura A- 12. Composición química del medio de cultivo Murashige and Skoog.	41
Figura A- 13. Composición química del medio de cultivo Gamborg B5	42
Figura A- 14. Representación del estante metálico	43

GLOSARIO

Agar vegetal

El agar se define como un polisacárido derivado de algas rojas, compuesto principalmente de agarosa y agarpectina, que puede producir geles reversibles al enfriarse a partir de una solución acuosa caliente (Lomartire et al., 2023)

Aclimatación *ex vitro*

La aclimatación se refiere simplemente a la adaptación de las plántulas a un nuevo entorno. Las plántulas o brotes en los recipientes de cultivo se adaptan a un microambiente diferente (Bhatia, 2021).

Acervo génico

El acervo génico, también conocido como fondo génico o reservorio genético, se refiere al conjunto completo de alelos presentes en una población de organismos. En el ámbito de la biotecnología y la agricultura, el acervo génico es una herramienta clave para el mejoramiento genético de cultivos y animales domésticos. La introducción de variabilidad genética a través de la selección de variedades y razas con características deseables puede mejorar la resistencia a enfermedades, la productividad y la adaptabilidad a condiciones ambientales cambiantes (Clínica Universidad de Navarra [CUN], 2023a).

Célula somática

Las células somáticas se definen como los componentes celulares que forman los tejidos de un organismo, excluidas las células germinales, y están involucradas en los procesos de crecimiento, renovación y reparación dentro de los tejidos somáticos (Altshuler et al., 2023)

Callo

Corresponde a un conjunto de células procedentes de la desorganización de un tejido o de una suspensión de células. El callo tiene la peculiaridad de presentar células no diferenciadas para su última función pero que conservan el poder de dividirse (Esquivel & Escalant, 1996).

Citoquinina

Hormonas vegetales que influyen en el crecimiento y la estimulación celular. Las citoquininas se sintetizan en las raíces y suelen derivar de la adenina. Ascenden por el xilema (tejido leñoso) y llegan a las hojas y frutos, donde son necesarios para el crecimiento normal y la diferenciación celular (Britannica, 2025).

Explante

Fragmento de un tejido extraído de un ser vivo para cultivarlo en un medio artificial (Real Academia Española [RAE], 2023a).

Fotoperiodo

Cantidad de tiempo al día en que un animal o una planta está expuesto a la luz (RAE, 2023b)

Irradiancia

La irradiancia se define como la potencia radiante por unidad de área. Representa la tasa de energía recibida de la radiación sobre un área específica (Salameh, 2014).

Kinetina

La kinetina es una citoquinina, una hormona vegetal que promueve la división celular y el crecimiento de las plantas. Es un miembro de la clase de 6-aminopurinas que es adenina que lleva un sustituyente (furan-2-ilmetil) en el grupo amino exocíclico (National Center for Biotechnology Information, 2026).

Regulador de crecimiento

Sustancia orgánica distinta de los nutrientes, activa a muy bajas concentraciones, a veces producida en determinados tejidos y transportada a otro tejido, donde ejerce sus efectos, pero también puede ser activa en los propios tejidos donde es sintetizada (Fichet, 2017).

Sacarosa

La sacarosa, conocida comúnmente como azúcar de mesa, es un disacárido formado por la unión de una molécula de glucosa y una de fructosa. Se presenta como un polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento, con un sabor dulce característico (CUN, 2023b).

Tiamina

La vitamina B1, también conocida como tiamina, es una vitamina hidrosoluble esencial que desempeña un papel importante en el metabolismo celular y la producción de energía (CUN, 2023c).

Variación somaclonal

La variación somaclonal se define como la variación genética presente en plantas regeneradas a partir de cultivos de tejidos, la cual puede ocurrir de forma natural o ser inducida por el proceso de cultivo de tejidos. Esta variación afecta diversas características, como la altura de la planta, la morfología, la resistencia a enfermedades y el rendimiento, lo que la convierte en una valiosa fuente para el mejoramiento genético en la agricultura (Germanà et al., 2020).

6-Bencilaminopurina

La 6-Bencilaminopurina es una hormona vegetal que promueve el crecimiento de las plantas y estimula la producción de melanina al aumentar los niveles de proteínas específicas en las células (Blom van Staden & Lall, 2018).

1. INTRODUCCIÓN

El Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum) es un recurso fitogenético del que se aprovechan las inflorescencias, como fuente de alimento e ingresos económicos. Es una planta herbácea de tallo verde y hojas grandes (Montesdeoca Franco, 2017).

Marantaceae es una de las familias de monocotiledóneas más avanzadas del orden Zingiberales. Comprende 31 géneros y aproximadamente 550 especies de hierbas perennes y lianas, que se distribuyen en las selvas tropicales. De estos géneros, 14 se encuentran en América, 11 en África y Madagascar, y 8 en Asia. La gran mayoría de las especies (± 450) se localizan en los trópicos americanos, y la mayoría de ellas pertenecen al género *Calathea* (± 300) (Van Huylenbroeck et al., 2018).

La propagación de Chufle en campo puede realizarse mediante la reproducción asexual por medio de rizomas y mediante reproducción sexual por medio de semillas, que permiten obtener plantas con las mismas características fenotípicas y genotípicas. Sin embargo, estos métodos no permiten la multiplicación a gran escala de esta planta. La micropropagación *in vitro* de plantas de Chufle mediante el cultivo de tejidos permite la regeneración clonal rápida y masiva, además de la obtención de plantas libres de patógenos.

El medio B5 en estado líquido suplementado con 1.5 mg/L de BAP y 1.5 mg/L de KIN dio como resultado la mayor multiplicación de brotes *in vitro* de *Calathea macrosepala*.

La aclimatación es una etapa crítica para las plantas que han sido desarrolladas mediante la técnica de cultivo de tejidos, tienen que enfrentar distintos tipos de estrés y adaptarse a los cambios ambientales.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Micropropagar plantas de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum) en condiciones *in vitro* para su posterior aclimatación en campo.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar el medio basal de nutrientes para la regeneración *in vitro* de *Calathea macrosepala* K. Schum.
2. Evaluar diferentes combinaciones y concentraciones de reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de brotes y hojas de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum).
3. Determinar el porcentaje de supervivencia de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum) en condiciones *ex vitro*.

3. MARCO TEORICO

3.1. Clasificación taxonómica

A continuación, se presentan la clasificación taxonómica del Chufle:

Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Zingiberales
Familia:	Marantaceae
Género:	<i>Calathea</i>
Especie:	<i>Calathea macrosepala</i> K. Schum.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del Chufle

Fuente: (Adaptado de Global Biodiversity Information Facility, 2023)

3.2. Origen y distribución

La distribución precolombina del Chufle es desconocida. Sin embargo, reportes de literatura sugieren que es nativo de La Española, Puerto Rico, algunas Antillas Menores y el Norte de América del Sur. Se considera que la planta fue domesticada en el nuevo mundo previo a la llegada de los españoles (Montesdeoca Franco, 2017).

Calathea macrosepala se encuentra distribuida en algunos estados del sur de México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y en algunas zonas de Colombia y Ecuador. El rango de distribución altitudinal varía entre 5 – 300 msnm (Raz y Zamora, 2020).

3.3. Descripción botánica

3.3.1. Tallo.

Es una planta cuyo tallo tiene una altura que varía de 0.6 – 1.8 metros, con tallos aéreos foliosos, que se descomponen hasta el rizoma en la temporada seca (Grayum, 2014).

3.3.2. Hoja.

C. macrosepala posee 3 – 7 hojas basales y 1 o 2 caulinares, deciduas, frecuentemente sin pecíolo; pulvínulo (0.6-) 1.1 – 5.5 centímetros, lateralmente comprimido, color verde aceituna claro, con una fila de tricomas a lo largo del haz; lámina 24 – 90 x 8 x 35 centímetros, basalmente obtusa a redondeada, el haz usualmente es color verde, decorado con plumas color verde amarillento a lo largo del nervio medio, con una fila de tricomas en el nervio medio; el envés es color verde grisáceo pálido, frecuentemente con 2 bandas longitudinales moradas, puberulento a subglabro (Grayum, 2014).



Figura 1. Hojas de Chufle

Fuente: (Tomado de *Calathea macrosepala* K. Schum., de R. Aguilar, 2014)

3.3.3. Rizoma.

La planta se reproduce por rizomas, de cuyos nudos inferiores salen raíces fibrosas, duras y retorcidas, al final de las cuales se forman raíces tuberosas elipsoides a ovoides (Barrios Ramírez, 2015).



Figura 2. Rizomas del Chufle

3.3.4. Inflorescencia.

El Chufle produce una inflorescencia por planta, con un tamaño de 4 – 10 x 2.5 – 5 centímetros, ovoide a elipsoide; brácteas (5-) 7 – 41, espiraladas, color verde claro, ocasionalmente teñidas de morado, el margen apical es erecto o recurvado, la superficie exterior es diminutamente tomentosa, la superficie interior es glabra o con el margen recurvado puberulento (Grayum, 2014).



Figura 3. Inflorescencia de Chufle
Fuente: (Tomado de *Calathea macrosepala* K. Schum., de R. Aguilar, 2014)

3.3.5. Flor.

Flores cerradas, pétalos de 18 – 28 milímetros, color blanco crema o lila; corola con tubo 23 – 29 milímetros, los lóbulos son color dorado claro o lila; estaminodio externo color crema a blanco, el estaminodio interno es calloso color dorado anaranjado con el ápice color morado oscuro. Sépalos persistentes y semillas grises (Figura 6), con testa endurecida (Grayum, 2014).

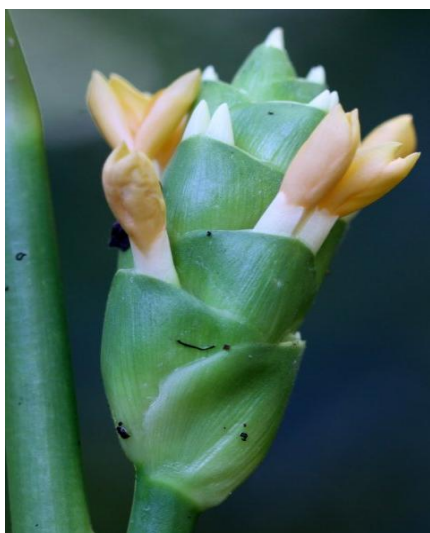


Figura 4. Flor de Chufle
Fuente: (Tomado de *Calathea macrosepala* K. Schum., de I. Coronado, 2009)



Figura 5. Flores de Chufle
Fuente: (Tomado de *Calathea macrosepala* K. Schum., de O. M. Montiel, 2009)



Figura 6. Semillas de Chufle

3.4. Cultivo de Tejidos Vegetales

3.4.1. Cultivo *in vitro*.

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia y el control de los factores que afectan el crecimiento. El cultivo de tejidos vegetales ha demostrado gran utilidad para estudiar, propagar y conservar especies hortícolas, ornamentales y principalmente aquellas que presentan problemas en su conservación como cactáceas y árboles (Sharry et al., 2015).

3.4.2. Medios de cultivo.

Existen un gran número de medios de cultivo de vegetales *in vitro*. Estos medios están compuestos por sales minerales, vitaminas, aminoácidos, azúcares y reguladores de crecimiento. La composición mineral se define en forma precisa en cada uno de los medios y está dada tanto por los macroelementos (N, P, K, S, Mg, y Ca) como por los microelementos (B, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, I y Fe). Estos nutrientes deben estar en una concentración tal que permita el adecuado crecimiento celular (Llorente, 2003).

3.4.2.1. Medio de cultivo Murashige & Skoog (MS).

El medio MS es un medio nutritivo utilizado para el cultivo *in vitro* de células, tejidos y órganos vegetales. Fue desarrollado inicialmente en 1962 por Toshio Murashige y Folke Skoog, desde entonces, se ha convertido en uno de los medios más utilizados para el cultivo de tejidos vegetales. Los macronutrientes se proporcionan en forma de sales inorgánicas, como el nitrato

de amonio (NH_4NO_3), el fosfato de potasio (KH_2PO_4), el cloruro de calcio (CaCl_2), el sulfato de magnesio (MgSO_4) y el sulfato de potasio (K_2SO_4). Los micronutrientes se proporcionan en forma de diversas sales, como el sulfato de hierro (FeSO_4), el sulfato de manganeso (MnSO_4), el sulfato de zinc (ZnSO_4), el sulfato de cobre (CuSO_4), el ácido bórico (H_3BO_3) y el molibdato de sodio (Na_2MoO_4). Las vitaminas agregadas al medio MS incluyen tiamina, piridoxina, ácido nicotínico y riboflavina (Singh, 2023). La composición nutricional se puede observar en la figura A-12.

3.4.2.2. Medio de cultivo Gamborg B5

El medio de cultivo Gamborg B5 fue diseñado en 1968 para el cultivo de callos de soya, y contiene menos cantidades de nitratos y particularmente sales de amonio que el medio MS. Sin embargo, el medio B5 fue originalmente desarrollado con el propósito de obtener callos o para el uso en cultivos en suspensión, es adecuado para trabajar como medio basal en la regeneración de plantas completas (Universidad Abierta y a Distancia de México, 2022). La composición nutricional se puede observar en la figura A-13

3.4.3. Micropropagación

La micropropagación de plantas es un proceso integrado en el que se aíslan células, tejidos u órganos de plantas seleccionadas, se esterilizan superficialmente y se incuban en un ambiente aséptico que promueve el crecimiento. La técnica de clonación de células individuales aisladas *in vitro* demostró el hecho de que las células somáticas, en condiciones apropiadas, pueden diferenciarse en una planta completa. Este potencial de una célula para crecer y desarrollarse como un organismo multicelular se denomina totipotencia celular. Este potencial de las células o tejidos para formar todos los tipos de células y regenerar una planta es el principio básico del cultivo de tejidos *in vitro*. Esta técnica puede emplearse para la propagación a gran escala de clones libres de enfermedades y la conservación del acervo génico (Kumar & Reddy, 2011). Según Castillo (2004) la micropropagación de plantas *in vitro* consta de varias fases o etapas, las cuales son:

- Fase 0. Preparación de la planta madre: Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo

adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades.

- Fase 1. Desinfección del material vegetal: Una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes. Los explantes pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia.
- Fase 2. Introducción del material *in vitro*: Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo *in vitro*.
- Fase 3. Multiplicación de brotes: Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la fase 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o división de las plantas.
- Fase 4. Elección de un medio de enraizamiento de los explantes: Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde

desarrollan yemas nuevas, por lo tanto, el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea.

- Fase 5. Aclimatación de los explantes enraizados: Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso depende de la aclimatación. En esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales. Es el momento en que se extraen los explantes o plantines enraizados de los frascos, no adaptados a crecer en condiciones ambientales externas.

3.4.4. Efecto de los reguladores del crecimiento de las plantas

Los reguladores de crecimiento de las plantas desempeñan un papel importante en la programación celular en la manipulación de tejidos celulares *in vitro*, a través de los cuales se producen cambios morfogénicos (organogénesis, rizogénesis, embriogénesis, etc.). Ejemplo de ellos es la incorporación de citoquinina exógena en el medio de cultivo, la cual mejora la formación de brotes (Abdin et al., 2017).

3.4.5. Organogénesis

La organogénesis, en términos de cultivo de tejidos vegetales, puede definirse como la “génesis” o formación de órganos a partir de partes inusuales, es decir, desarrollo adventicio de órganos. El origen adventicio puede atribuirse a la diferenciación directa de células y tejidos (explantes) para formar un órgano o a través de células que experimentan ciclos de dediferenciación y rediferenciación. En condiciones normales *in vitro* y bajo la influencia de diversos factores, la organogénesis es un proceso de dos etapas en el que la primera es el desarrollo de brotes y luego ocurre el desarrollo de raíces, dando lugar a una plántula completa. La técnica del cultivo de tejidos se basa en ciertos factores internos y externos que determinan la organogénesis. Los factores internos incluyen principalmente el genotipo y los niveles endógenos de los reguladores de crecimiento. Entre los factores externos, el tipo de explante, la época de recolección de los explantes y las condiciones de la sala de cultivo de tejidos (temperatura, luz, humedad, etc.) desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de las plantas cultivadas (Abdin et al., 2017).

3.4.6. Organogénesis en *Calathea*s

Según Badawy et al. (2020) realizaron un estudio en *Calathea medellion* donde se examinaron medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento de las plantas y los efectos que producen en la inducción de brotes. Los brotes de crecimiento activo del material vegetal se extrajeron de plantas adultas de *Calathea medallion* y se utilizaron como donantes que suministran los explantes iniciales con yemas laterales. Se evaluó diferentes concentraciones y combinaciones de Kinetina (Kin) y BAP (6-Bencilaminopurina) y se obtuvo como mejor resultado que la organogénesis directa para la inducción de brotes fue en el medio basal MS suplementado con 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN, 3% de sacarosa y 6 g/L de agar vegetal, el cual se utilizó como medio de micropropagación *in vitro*.

En la investigación realizada por Rozali et al. (2014) establecieron un protocolo para la micropropagación *in vitro* en dos variedades seleccionadas de *Calathea crotalifera*. Estudiaron los efectos de diferentes técnicas de esterilización, tipo de explante y la combinación y concentración de reguladores del crecimiento en la inducción de brotes. Se utilizaron dos fuentes distintas de brotes jóvenes como explantes en este estudio. La primera fuente de explantes fueron brotes jóvenes apicales obtenidos directamente de las plantas maduras en el suelo. La segunda fuente de explantes se obtuvo de los brotes jóvenes axilares que brotaron de rizomas limpios después de dos semanas en condiciones sin suelo. El mayor número de brotes se obtuvo en medio basal MS suplementado con 3.5 mg/L de BAP, 1.0 mg/L de ácido 1-naftalenacético (ANA), 3% de sacarosa y 6 g/L de agar vegetal para ambas variedades y se utilizó como medio de multiplicación. En general, el cultivo *in vitro* de explantes de yemas apicales y axilares en medio MS suplementado con auxina y citoquinina comenzó a mostrar resultados después de dos semanas de cultivo. La organogénesis de brotes a partir de yemas axilares fue más rápida (cuatro semanas) en comparación a la organogénesis de brotes a partir de yemas apicales (después de ocho semanas).

4. METODOLOGIA

4.1. Descripción del área de trabajo

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, ubicado en las coordenadas 13°43'08.7"N y 89°12'01.6"W.

4.2. Metodología de laboratorio

4.2.1. Material vegetal

El material vegetal fue proporcionado por el laboratorio de Biotecnología utilizando brotes cultivados *in vitro* de Chufle, que fueron desarrollados en el año 2024. Dichos brotes se regeneraron a partir de semillas de *Calathea* recolectadas en el cantón Hacienda Vieja, municipio de San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz.

4.2.2. Pretratamiento del material *in vitro*

Para la micropropagación *in vitro* de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum) se realizaron ensayos de laboratorio en el periodo de abril a octubre del año 2025. El pretratamiento para el acondicionamiento y homogenización de los brotes consistió en cultivar brotes en frascos de vidrio de ocho onzas, con 25 ml de medios de cultivo compuestos por las sales minerales y vitaminas de MS con una proporción de 4.43 gr/L, suplementadas con 30 gr/L de sacarosa, 8 gr/L de Agar (Sigma®) y 1 mg/L de BAP (6-Bencilaminopurina). El pH del medio fue ajustado a 5.7 previo a la esterilización en autoclave a 121°C y 0.15 MPa. Los brotes se regeneraron en condiciones *in vitro* en un periodo de 30 días, con un fotoperiodo de 16 horas luz / 8 horas oscuridad, 2000 lumen y a 25 ± 1°C. (Figuras A-1, A-2, A-3, A-4)

4.2.3. Micropropagación de brotes

Una vez acondicionados los brotes se inicia el proceso de micropropagación. Se utilizaron brotes con una altura de siete centímetros y se transfirieron a frascos de vidrio de ocho onzas, con 30 ml de medios de cultivo compuestos por las sales minerales de MS (Murashige & Skoog, 1962) a una proporción de 4.43 gr/L o B5 (Gamborg et al., 1968) a una proporción de 3.21 gr/L, suplementadas con 30 gr/L de sacarosa, 2.5 gr/L de Phytigel (Sigma®), pH ajustado a 5.7 y diferentes concentraciones de BAP y KIN (Kinetina) (Cuadro 2).

4.2.4. Descripción del lugar donde estaban los tratamientos

La figura A-14 muestra un esquema del montaje del experimento, se utilizó un estante metálico cuyas dimensiones eran de 1.90 metros de alto x 1.10 metros de ancho x 0.40 metros de profundo. Se utilizaron dos de los cinco niveles para distribuir los 16 tratamientos a evaluar. En la parte superior de cada nivel se instalaron 2 lámparas led color blanco, las cuales proporcionaban la luz necesaria para el desarrollo *in vitro* de los brotes.

Cuadro 2. Condiciones *in vitro* evaluadas para la micropropagación de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum) a partir de brotes.

Medio basal	Tipo de medio	Regulador de crecimiento (mg/L)	
		*BAP	*KIN
*MS	Semisólido	0	0
		0	1.5
		1.5	0
		1.5	1.5
		0	0
		0	1.5
*B5	Líquido	0	0
		0	1.5
		1.5	0
		1.5	1.5
		0	0
		0	1.5
MS	Líquido	0	0
		0	1.5
		1.5	0
		1.5	1.5
		0	0
		0	1.5
B5	Líquido	0	0
		0	1.5
		1.5	0
		1.5	1.5
		0	0
		0	1.5

*MS: Medio de cultivo Murashige & Skoog, 1962

*B5: Medio de cultivo Gamborg

*BAP: 6-Bencilaminopurina, regulador del crecimiento de las plantas

*KIN: Kinetina, regulador del crecimiento de las plantas

Cuadro 3. Tratamientos en estudio

T1: MS semisólido, sin reguladores	T2: MS semisólido 1.5 KIN	T3: MS semisólido 1.5 BAP	T4: MS semisólido 1.5 BAP + 1.5 KIN
T5: B5 semisólido, sin reguladores	T6: B5 semisólido 1.5 KIN	T7: B5 semisólido 1.5 BAP	T8: B5 semisólido 1.5 BAP + 1.5 KIN
T9: MS líquido, sin reguladores	T10: MS líquido 1.5 KIN	T11: MS líquido 1.5 BAP	T12: MS líquido 1.5 BAP + 1.5 KIN
T13: B5 líquido, sin reguladores	T14: B5 líquido 1.5 KIN	T15: B5 líquido 1.5 BAP	T16: B5 líquido 1.5 BAP + 1.5 KIN

El cuadro 3 presenta las combinaciones de hormonas, el medio y el tipo de medio que se utilizaron en cada uno de los 16 tratamientos.

4.2.5. Evaluación de las variables

Transcurridos los 30 días de cultivo *in vitro* se evaluaron por regenerante el número de brotes, número de hojas y altura de plántulas.

4.2.5.1. Número de brotes

El conteo de brotes se realizó tomando en cuenta que debían tener al menos 0.5 cm de alto.

4.2.5.2. Número de hojas

Para el conteo de hojas se tomaron en cuenta únicamente las hojas completamente desarrolladas.

4.2.5.3. Altura de plántulas

La altura de las plántulas se midió con la ayuda de una base de corte PVC graduada en centímetros; colocando las plántulas extendidas sobre la superficie (Figura A-11).

4.2.5.4 Evaluación del porcentaje de supervivencia en aclimatación

Para obtener el porcentaje de supervivencia en aclimatación se utilizó el método de conteo para determinar el número total de plántulas vivas. Se establecieron 144 plántulas a condiciones de invernadero durante 30 días, pasado este periodo se contabilizaron 144 plántulas, es decir, el 100% de las plantas sobrevivieron a la etapa de aclimatación.

A continuación, se describe la estrategia experimental realizada en la investigación (Figura 7):

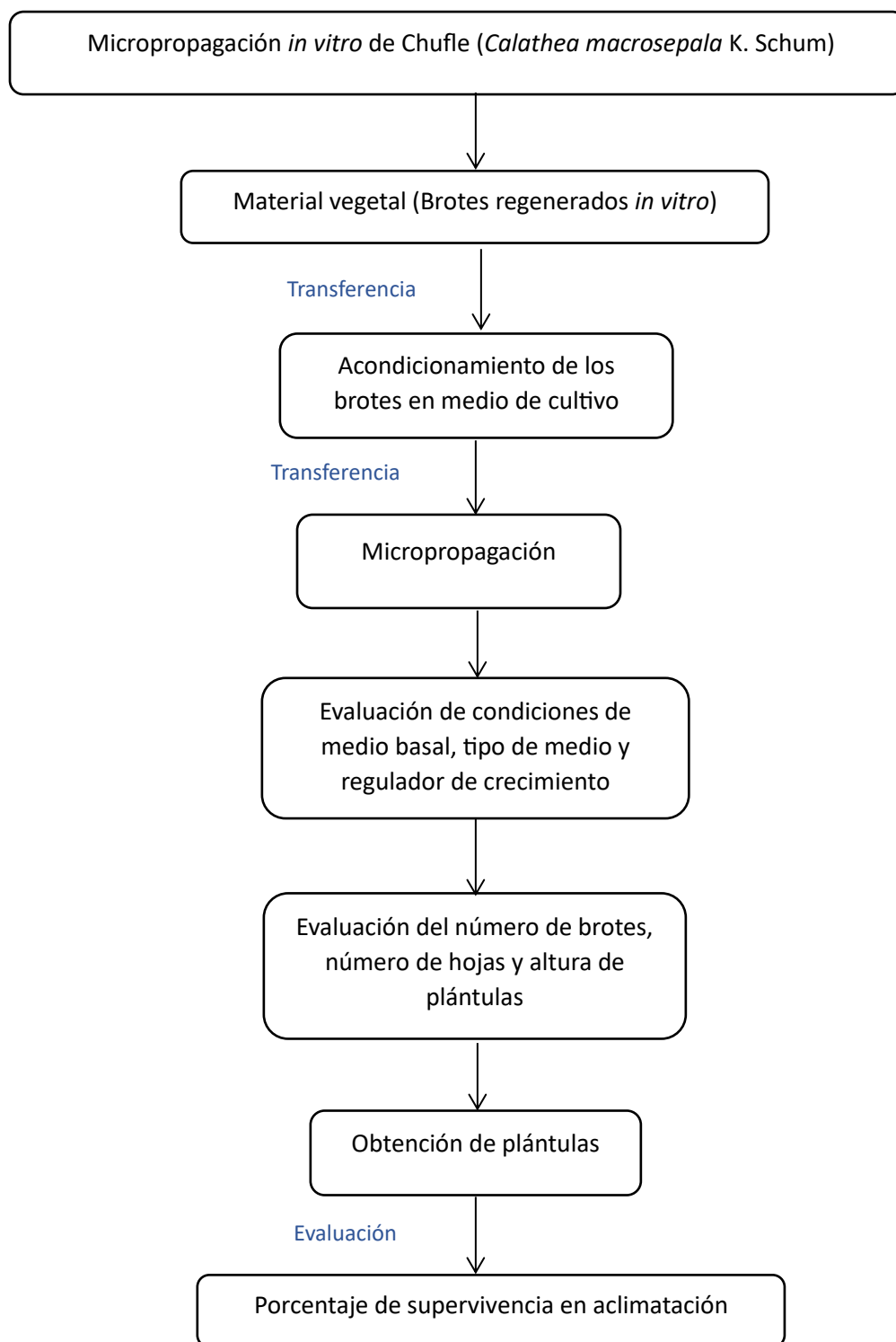


Figura 7. Flujograma de la estrategia experimental

4.3. Metodología de campo

Finalizada la fase de micropropagación *in vitro*, el material vegetal fue trasladado al propagador del vivero de la facultad de Ciencias Agronómicas, donde se estableció el inicio de la fase de aclimatación. Las plántulas con raíces completamente desarrolladas se les removió el medio de cultivo con agua de chorro, luego fueron sembradas en bolsas plásticas de 6 x 8 pulgadas que previamente fueron llenadas con sustrato compuesto de una mezcla de 80% de tierra negra y 20% de materia orgánica. Se designo un cantero de 0.80 metros de ancho x 3.50 metros de largo. Las condiciones de aclimatación fueron de 70% - 100% de humedad relativa, fotoperiodo natural y 60% de bloqueo de luz solar. La supervivencia de las plantas de Chufle en el proceso de aclimatación fue evaluado a los 30 días.

4.4. Metodología estadística

Dentro de las variables se evaluaron y analizaron estadísticamente mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) bajo el Diseño Completamente al Azar (DCA) y un arreglo trifactorial (2x2x4).

Modelo Estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Variable respuesta de la j-esima unidad experimental

μ : Efecto de la media general

α_i : Efecto del i-esimo tratamiento sobre la media general

ε_{ij} : Efecto del error experimental asociado a la i-esima unidad experimental

Se establecieron 16 tratamientos con 9 bloques cada uno, para un total de 144 unidades experimentales. Se aplicaron las pruebas estadísticas de Bonferroni y comparación de medias de Tukey, con un nivel de significancia estadística del 1% (0.01) mediante la utilización del programa estadístico INFOSTAT® 2017, a las variables “Número de brotes y Número de hojas”, también se aplicaron estas pruebas al Efecto de la interacción entre BAP + KIN. Se aplicó estadística descriptiva a la variable “Altura de plántula”, al Efecto de la Kinetina y al Efecto del 6-Bencilaminopurina.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Condiciones para la micropropagación *in vitro* de Chufle

5.1.1. Número de brotes

El análisis de varianza para el número de brotes, demostró que en los reguladores de crecimiento BAP y KIN existen diferencias altamente significativas (<0.01) al número de brotes (Cuadro A-2). El tratamiento (T16) obtuvo el mayor número de brotes (3.0) como resultado de implementar medio de cultivo B5 líquido suplementado con 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L



Figura 8. Plántula con mayor número de brotes

de KIN (Figura 8). Según Badawy et al. (2020) en la investigación “Micropropagation of *Calathea Medallion* an ornamental plant” obtuvieron resultados distintos al obtener un promedio de 21.2 brotes al implementar medio de cultivo semisólido MS suplementado con 1 mg/L de Ácido alfa-naftalenacético (ANA) + 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN. El menor número de brotes obtenidos en la investigación podría estar relacionado con la ausencia de ANA en el medio de cultivo, debido a que el ANA estimula la división celular inicial, además de actuar sinérgicamente con citoquininas en bajas concentraciones, lo que resulta en mejorar la inducción de brotes. La figura 9 muestra que el número de brotes estuvo influenciado por la concentración de BAP y KIN (<0.01). EL tratamiento más eficiente fue 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN en medio B5, donde se obtuvo el mayor número de brotes. Además, el BAP mostró mayor capacidad inductora que KIN cuando se aplicó individualmente.

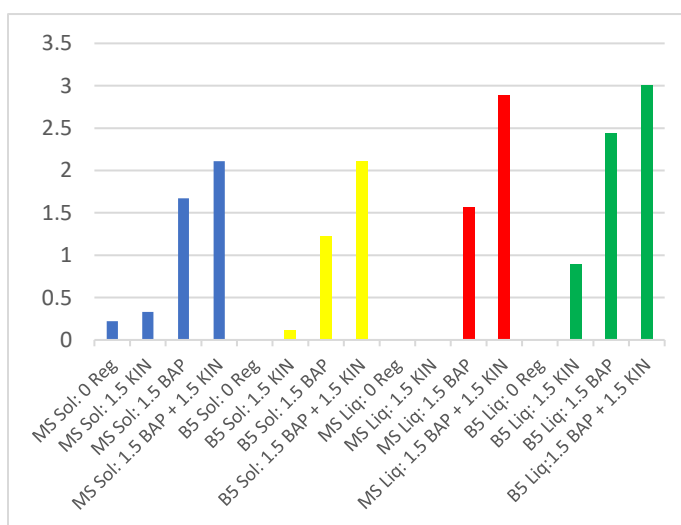


Figura 9. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el número de brotes

5.1.2. Número de hojas

El análisis de varianza para el número de hojas, determinó que, en el medio y los reguladores de crecimiento, existen diferencias altamente significativamente (<0.01) en el número de hojas (Cuadro A-1). El tratamiento dos (T2) el cual consistió en un medio de cultivo MS semisólido suplementado con 1.5 mg/L de KIN obtuvo 4.67



hojas en promedio (Figura 10). El tipo de medio no afecta significativamente al desarrollo de hojas, el cual puede ser semisólido o líquido. Este resultado difiere con Badawy et al. (2020), utilizaron medio de cultivo MS suplementado con 1 mg/L de ANA + 1.5 mg/L de KIN obteniendo un promedio de 2.36 hojas. Probablemente la adición de ANA en el estudio comparativo pudo haber modificado la respuesta morfológica reduciendo el número de hojas.

La figura 11 muestra los resultados obtenidos en los 16 tratamientos, en los cuales resaltan los tratamientos con 1.5 mg/L de KIN sin combinaciones, esta concentración proporcionó el equilibrio hormonal más favorable para organogénesis foliar. El alto desempeño del

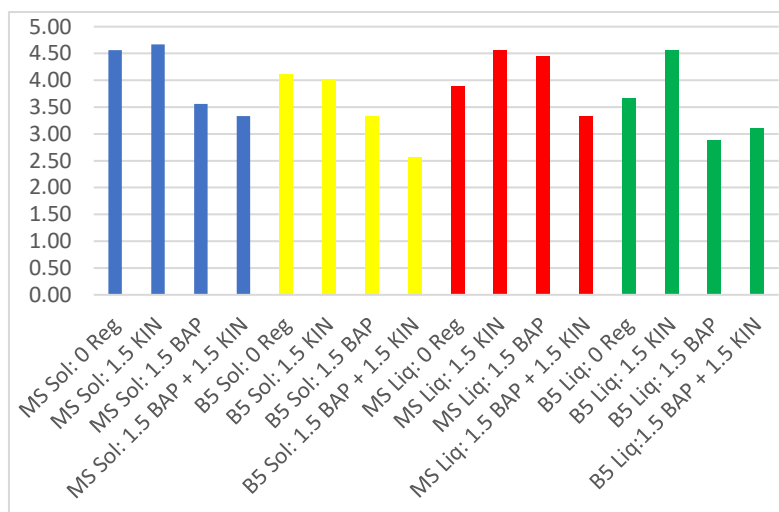


Figura 11. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el número de hojas

tratamiento sin reguladores sugiere una adecuada concentración endógena de hormonas en el explante, esto podría indicar que *C. macrosepala* es altamente dependiente del equilibrio hormonal interno y que la adición externa solo mejora la respuesta fisiológica cuando se alcanza una concentración óptima.

5.1.3. Altura de planta

En la figura 12 se observan tallos verdes, engrosados, con múltiples raíces. La plántula con mayor altura (25 cm) se obtuvo de la utilización del medio de cultivo B5 en estado líquido sin reguladores de crecimiento (T13).

En la figura 13 se observa la plántula con menor altura (13 cm), la cual se obtuvo de la utilización del medio de cultivo MS en estado semisólido, suplementado con 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN (T4). Según Badawy et al. (2020) en su investigación, obtuvo la mayor altura (6.56 cm) utilizando el medio de cultivo MS en estado semisólido suplementado con 1 mg/L de ANA + 1.5 mg/L de KIN + 1.5 mg/L de BAP. En cuanto a la plántula con menor altura (3.63 cm) utilizando el medio MS semisólido suplementado con 1 mg/L de ANA + 1.5 mg/L de BAP.

El desarrollo de las plántulas más altas fue el resultado de no utilizar citoquininas (BAP y KIN), esto podría explicarse debido a que las concentraciones en el medio de cultivo son óptimas para la especie en particular, o porque la plántula produce suficientes reguladores para su desarrollo. La combinación de BAP y KIN en concentraciones iguales produjo un efecto limitante sobre la división y alargamiento celular, lo que resulto en plántulas poco desarrolladas. La figura 14 demuestra que la elongación de la plántula depende de su balance hormonal endógeno. Probablemente la suplementación con citoquininas, ya sea individual o combinada, alteró dicho equilibrio.



Figura 13. Plántula con mayor altura



Figura 14. Plántula con menor altura

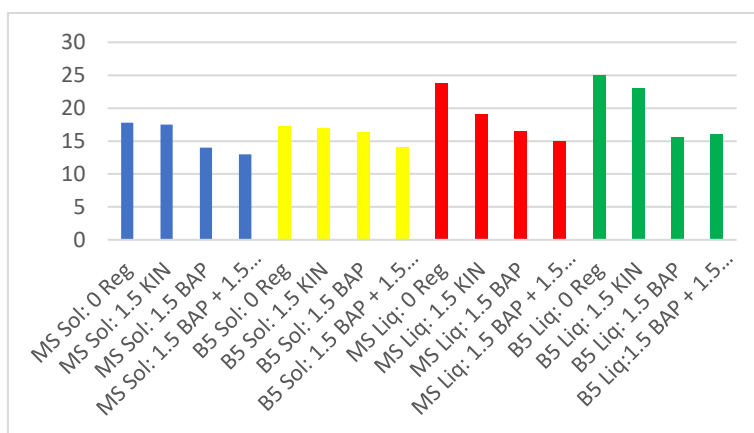


Figura 12. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en la altura de plántula

5.1.4. Efecto de la Kinetina

La aplicación de 1.5 mg/L de KIN individualmente en los medios de cultivo favoreció el desarrollo de un mayor número de hojas en comparación con la aplicación de BAP o la combinación de BAP + KIN. En el cuadro 4 se observa que el tratamiento MS semisólido suplementado con 1.5 mg/L de KIN (T2) presentó el mayor promedio de hojas (4.67), lo que sugiere que esta concentración promovió eficientemente la división celular y la diferenciación foliar. Estos resultados difieren de lo reportado por Badawy et al. (2020), quienes obtuvieron un promedio de 2.36 hojas utilizando medio de cultivo MS semisólido suplementado con 1.5 mg/L de KIN + 1.0 mg/L de ANA. Esta diferencia podría atribuirse a la adición de ANA, la cual modifica el balance hormonal del medio, lo que puede alterar la respuesta morfogénica y reducir la diferenciación foliar.

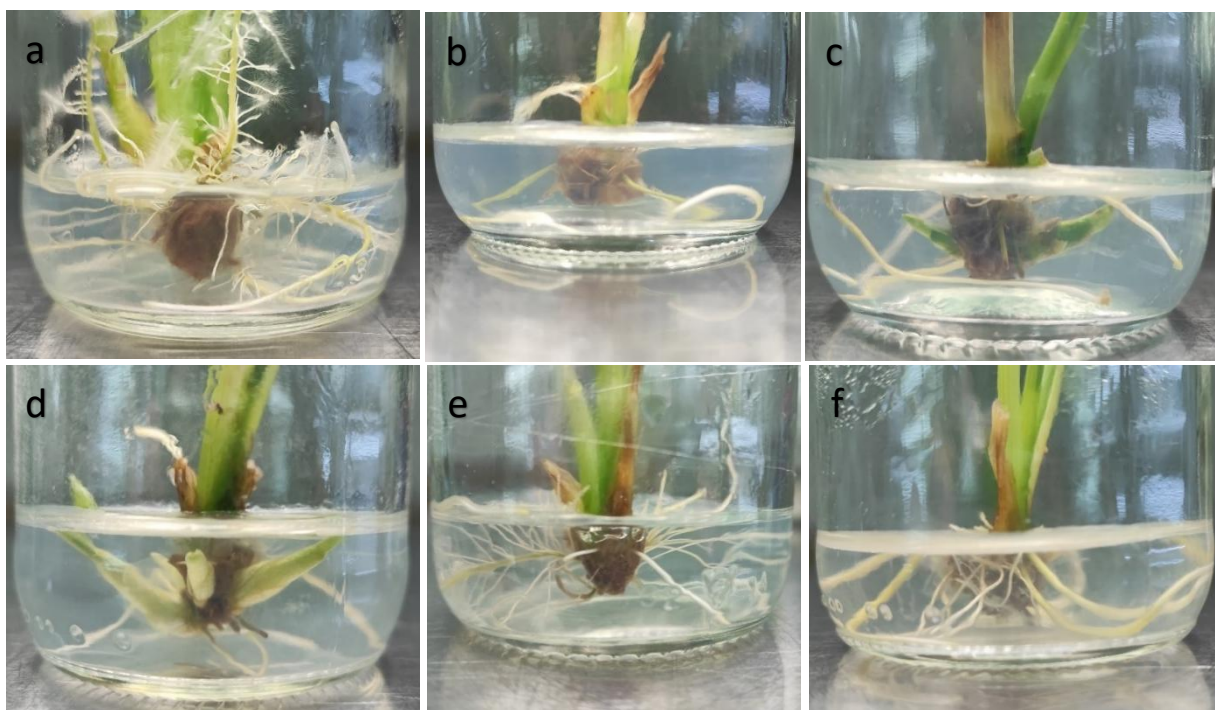


Figura 15. Efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el tipo de medio semisólido. a), e) y f) Plántulas con mayor cantidad de raíces, b) Formación de callo, c) y d) Formación de brotes por organogénesis

5.1.5. Efecto del 6-Bencilaminopurina

La aplicación de 1.5 mg/L de BAP de forma individual en los medios de cultivo indujo una mayor regeneración de brotes en comparación con la aplicación individual de KIN. En el Cuadro 4 se observa que el tratamiento B5 líquido suplementado con 1.5 mg/L de BAP (T15) presentó un promedio de 2.44 brotes, evidenciando la capacidad del BAP para estimular la división celular y la formación de yemas axilares. En la investigación realizada por Rozali et al. (2014), obtuvieron un promedio de 2 brotes al utilizar medio de cultivo MS semisólido suplementado con 3 mg/L de BAP sin combinar con otros reguladores de crecimiento. Esto sugiere que el BAP posee un efecto más eficiente en la inducción de brotes en comparación con otras citoquininas, debido a su mayor estabilidad y capacidad para estimular la organogénesis en cultivos *in vitro*.

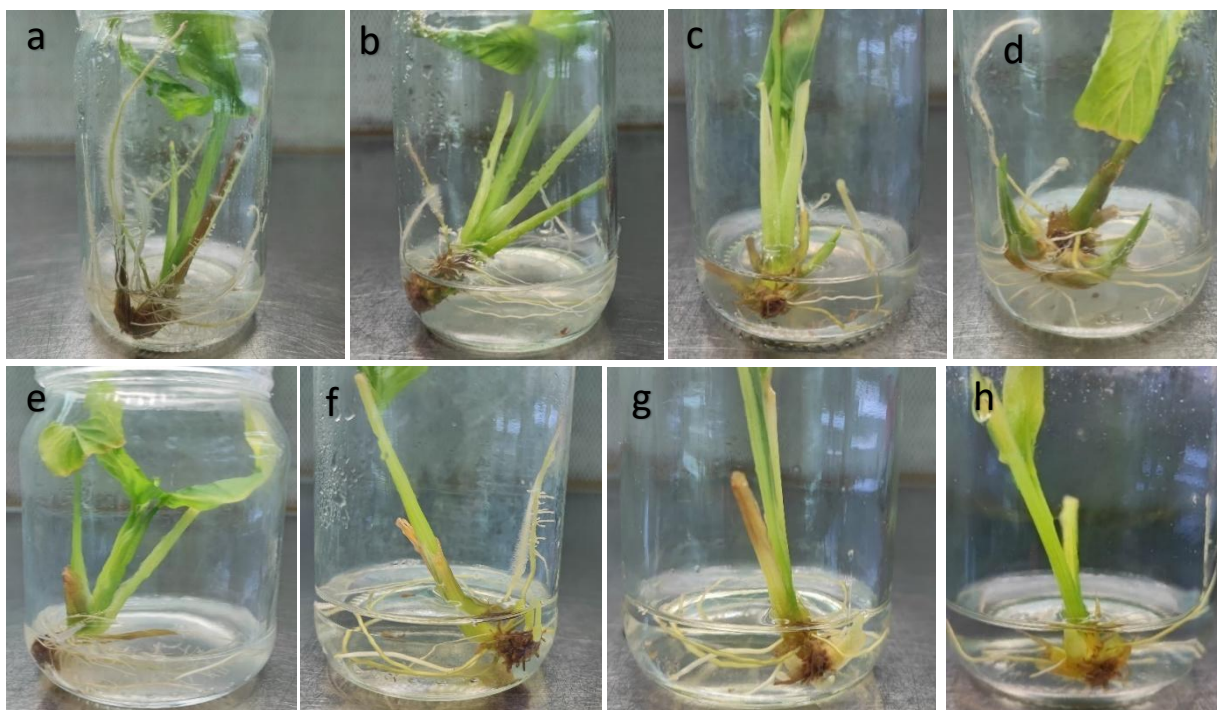


Figura 16. Efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en el tipo de medio líquido. a), b) y f) Plántulas con mayor crecimiento de raíces, c) y d) Muestran mayor cantidad de brotes, e) Poco desarrollo radicular, g) y h)

5.1.6. Efecto de la interacción entre 6-Bencilaminopurina y Kinetina

La aplicación de la prueba estadística de comparación de medias entre la interacción del BAP y KIN demostró una diferencia altamente significativa (<0.01) (Cuadro A-2), en donde los tratamientos que combinan ambas hormonas aumentaron la multiplicación de brotes a diferencia a cuando se utilizan individualmente. Ambas hormonas promueven la división celular y la formación de brotes, en algunos casos la KIN puede disminuir la actividad del BAP; al utilizar ambas hormonas en una proporción de concentraciones de 1.5 BAP + 1.5 KIN promueven la regeneración de brotes. Según Badawy et al. (2020), en la multiplicación de brotes de *Calathea medallion*, la mejor respuesta a la generación de brotes fue la combinación de 1 mg/L de ANA + 1.5 mg/L de BAP + 1.5 mg/L de KIN.

5.1.7. Efecto del medio basal y tipo de medio

Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas (< 0.01) entre los medios de cultivo MS y B5 en el número de hojas (Cuadro A-1). El medio de cultivo MS semisólido produjo un mayor número de hojas (4.67), en comparación con el medio B5, lo cual podría atribuirse a que el medio Murashige and Skoog contiene mayores concentraciones de sales minerales y nutrientes, favoreciendo la división celular y la diferenciación de tejidos durante el desarrollo *in vitro*. Por otra parte, el medio B5 líquido presentó el mayor promedio en la altura de las plántulas, lo que sugiere que este tipo de medio favorece la elongación vegetal.

Cuadro 4. Resumen de resultados del efecto de diferentes medios basales, concentraciones de BAP y KIN y sus combinaciones en la micropropagación de Chufle.

Medio basal	Tipo de medio	Regulador de crecimiento (mg/L)		Número de brotes	Número de hojas	Altura de las plántulas (CM)
		BAP	KIN			
MS	Semisólido	0	0	0.22	4.56	17.8
		0	1.5	0.33	4.67	17.5
		1.5	0	1.67	3.56	14
		1.5	1.5	2.11	3.33	13
B5	Semisólido	0	0	0.00	4.11	17.3
		0	1.5	0.11	4.00	17
		1.5	0	1.22	3.33	16.3
		1.5	1.5	2.11	2.56	14.1
MS	Líquido	0	0	0.00	3.89	23.8
		0	1.5	0.00	4.56	19
		1.5	0	1.56	4.44	16.5
		1.5	1.5	2.89	3.33	15
B5	Líquido	0	0	0.00	3.67	25
		0	1.5	0.89	4.56	23
		1.5	0	2.44	2.89	15.5
		1.5	1.5	3.00	3.11	16

5.2. Aclimatación y supervivencia de plántulas.

La aclimatación se divide en tres rangos según la tasa de supervivencia: Óptimo (>90%) representa una transición biológica exitosa y viabilidad comercial (George et al., 2008). Estándar (70% - 89%), considerado el estándar operativo aceptable para la mayoría de las especies (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organismo Internacional de Energía Atómica, 2004). Deficiente (<70%), evidencia fallos críticos en el control de la transpiración o el endurecimiento de la planta (Hazarika, 2003).

En la fase de aclimatación, en la cual se sembraron 144 plantas el porcentaje de supervivencia fue del 100%. Según la investigación realizada por Rozali et al. (2014), lograron aclimatar con éxito plántulas *in vitro* de alta calidad de *Calathea crotalifera* con un 75% de supervivencia después de cuatro semanas. En cambio, la investigación realizada por Badawy et al. (2020), reportaron un porcentaje de sobrevivencia del 95%.



Figura 17. Plantas aclimatadas

6. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico, se determinó que el medio de cultivo B5 líquido suplementado con 1.5 mg/L de KIN + 1.5 mg/L de BAP fue el que obtuvo mejores resultados en la regeneración de brotes (3.0), en comparación al medio de cultivo B5 sin reguladores.

Para el número de hojas el medio de cultivo MS semisólido suplementado con 1.5 mg/L de KIN produjo 4.67 hojas (T2), el tratamiento 1 que consistió en medio de cultivo MS semisólido sin reguladores produjo 4.56 hojas y el medio de cultivo B5 líquido suplementado con 1.5 mg/L de KIN produjo 4.56 hojas.

En la fase de aclimatación se obtuvo el 100% de supervivencia *ex vitro* de las plantas de Chufle.

En condiciones de laboratorio es posible inhibir la dormancia del Chufle, la cual se hace presente en los meses de época seca en El Salvador. Dicha condición se hace presente nuevamente al trasladar la planta a condiciones *ex vitro*.

7. RECOMENDACIONES

Utilizar medio de cultivo MS para la regeneración de brotes, debido a que el medio B5 tiene un costo superior.

Debido a que no existen diferencias significativas en el tipo de medio, se recomienda implementar el tipo de medio líquido en lugar del semisólido.

Para el número de hojas se recomienda utilizar únicamente el medio de cultivo MS sin reguladores de crecimiento, debido a que favoreció el número de hojas.

Para la aclimatación *ex vitro* es recomendable dejar un periodo de pre aclimatación para reducir gradualmente los reguladores de crecimiento y otras sustancias presentes en el medio de cultivo.

Mantener las condiciones de asepsia dentro del laboratorio es fundamental para evitar la contaminación del material vegetal.

El momento de la aclimatación de las plántulas desarrolladas *in vitro* debe ser a inicios de la época lluviosa.

8. BIBLIOGRAFIA

- Abdin, M. Z., Kiran, U., Kamaluddin, & Ali, A. (Eds.). (2017). *Plant Biotechnology: Principles and Applications*. Springer Singapore <https://doi.org/10.1007/978-981-10-2961-5>
- Aguilar, R. (2014). Inflorescencia de *Calathea macrosepala* K. Schum. [Fotografía]. <http://legacy.tropicos.org/Image/101322977?projectid=66>
- Aguilar, R. (2014). Hojas de *Calathea macrosepala* K. Schum. [Fotografía]. <http://legacy.tropicos.org/Image/101322976?projectid=66>
- Altshuler, A., Wickström, S. A., & Shalom-Feuerstein, R. (2023). Spotlighting adult stem cells: advances, pitfalls, and challenges. *Trends in Cell Biology*, 33(6), 477–494. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.09.007>
- Badawy, E. S. M., El-Meadawy, E.E. & El-Ezawy, W. H. (2020). MICROPROPAGATION OF *CALATHEA MEDALLION* AN ORNAMENTAL PLANT [Archivo PDF]. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20219822749>
- Barrios Ramírez, M. J. (2015). *Evaluación de densidades de siembra y programas de fertilización en el rendimiento de Chufle (Calathea allouia (Aubl.) Lindl., Marantaceae)* [Tesis de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://es.slideshare.net/slideshow/tesis-chufle-guat/65896299#49>
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia. (2025). *Cytokinin*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/cytokinin>
- Bhatia, N. (2021). *What is acclimatization in plant tissue culture?* Lab Associates. <https://labassociates.com/what-is-acclimatization-in-plant-tissue-culture>

- Blom van Staden, A.& Lall, N. (2018). Medicinal plants as alternative treatments for progressive macular hypomelanosis. En N. Lall (Ed.), *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being* (pp. 145–182). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812475-8.00005-6>
- Coronado, I. (2009). Inflorescencia de *Calathea macrosepala* K. Schum. [Fotografía]. <http://legacy.tropicos.org/Image/100359383?projectid=7>
- Clínica Universidad de Navarra. (2023a). Acervo génico. En *Diccionario médico*. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/acervo-genico>
- Clínica Universidad de Navarra. (2023b). Sacarosa. En *Diccionario médico*. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/sacarosa>
- Clínica Universidad de Navarra. (2023c). Vitamina B1. En *Diccionario médico*. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/vitamina-b1>
- Esquivel, A. & Escalant, V. (1996). *Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales*. https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/888/Conceptos_basicos_del_cultivo_de_tejidos_vegetales.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Fichet, L.T. (2017). *Biosíntesis de las Fitohormonas y Modo de Acción de los Reguladores de Crecimiento*. Serie Nutrición Vegetal Núm. 92. Artículos Técnicos de INTAGRI. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/biosintesis-de-las-fitohormonas-y-reguladores-de-crecimiento>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and International Atomic Energy Agency. (2004). *Status of codling moth management, deployment and breeding of codling moth variants* (IAEA-TECDOC-1384). https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1384_web.pdf

- Gamborg, O.L., Mille, R. A. & Ojima, K. (1968). *Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells*. *Experimental Cell Research*, 50(1), 151-158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). Adventitious Regeneration. En E. F. George, M. A. Hall & G.-J. De Klerk (Eds.), *Plant Propagation by Tissue Culture* (3.^a ed., Vol. 1, pp. 355-401). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_10
- Germanà, M. A., Aleza, P., Grosser, J. W., Dutt, M., Wang, N., Cuenca, J., & Kaur, P. (2020). Citrus biotechnology. En M. Talon, M. Caruso, & F. G. Gmitter, Jr. (Eds.), *The Genus Citrus* (pp. 171–192). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812163-4.00009-7>
- Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Calathea macrosepala* K. Schum. Backbone Taxonomy. Checklist dataset. <https://www.gbif.org/species/2761834>
- Grayum, M. H. (2014). *Manual de Plantas de Costa Rica. Vol. II: Monocotiledóneas*. <http://legacy.tropicos.org/NamePage.aspx?nameId=19700065&projectId=66>
- Hazarika, B. N. (2003). Acclimatization of tissue-cultured plants. <https://www.jstor.org/stable/24109975>
- Kumar, N. & Reddy, M. P. (2011). In vitro Plant Propagation: A Review. *Journal of Forest and Environmental Science*, 27(2), 161-172. https://www.researchgate.net/publication/263638941_In_vitro_Plant_Propagation_A_Review
- Llorente, B. (2003). *Cultivo in vitro* [Archivo PDF]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2211/4_-_Cultivo_in_vitro.pdf?sequence=6

- Lomartire, S., Gomes, L., Cotas, J., Marques, J. C., Pereira, L., & Gonçalves, A. M. M. (2023). Algae-based bioplastics: Expanding algal polymers as materials for industrial applications. En K. Arunkumar, A. Arun, R. Raja, & R. Palaniappan (Eds.), *Algae Materials: Developments in Applied Microbiology and Biotechnology* (pp. 133–156). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18816-9.00024-1>
- Montesdeoca Franco, J. R. (2017). Evaluación de niveles de nitrógeno, fósforo y potasio en dos sistemas de producción, sobre el rendimiento del cultivo de Chufle (*Calathea macrosepala* K. Schum.) en granja docente “Zahori”, Cuyotenango, Suchitepéquez [Tesis de Pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/6347/1/Documento%20de%20Graduaci%C3%B3n.pdf>
- Montiel, O. M. (2009). Inflorescencia de *Calathea macrosepala* K. Schum. [Fotografía]. <http://legacy.tropicos.org/Image/100178954?projectid=7>
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- National Center for Biotechnology Information. (2026). *PubChem Compound Summary for CID 3830, Kinetin*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kinetin>
- Raz, L. y Agudelo Zamora, H. (2020). *Catálogo de Plantas y Líquenes de Colombia*. Versión 1.3. [Universidad Nacional de Colombia]. Acceso vía GBIF. <https://www.gbif.org/species/166217825>
- Real Academia Española. (2023a). Explante. En *Diccionario de la lengua española* (Edición del Tricentenario, actualización 23.8). <https://dle.rae.es/explante>
- Real Academia Española. (2023b). Fotoperíodo. En *Diccionario de la lengua española* (Edición del Tricentenario, actualización 23.7). <https://dle.rae.es/fotoper%C3%A9odo>

- Rozali, S. E., Rashid, K. A. & Mat Taha, R. (2014). Micropropagation of an Exotic Ornamental Plant, *Calathea crotalifera*, for Production of High Quality Plantlets. *The Scientific World Journal*, 2014, Artículo 457092. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/457092>
- Salame, Z. (2014). Photovoltaic. En Z. Salameh (Ed.), *Renewable Energy System Design* (pp. 33-113). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374991-8.00002-7>
- Singh, A. 2023. For Beginners: *For beginners: Definition, preparation and applications of MS media*. Plant Cell Technology. <https://plantcelltechnology.com/blogs/blog/blogfor-beginners-definition-preparation-and-applications-of-ms-media>
- Sigma-Aldrich Corp. (2010). Murashige and Skoog Basal Medium. https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/361/537/m5519pis.pdf?srltid=AfmBOoqsdQ62tZmGKc2-gdOx6rbPH0-vOHVBJVgOeOT81fEXLJ7_YBCz
- Universidad Abierta y a Distancia de México. (2022). *Biotecnología vegetal I. Unidad 2. Cultivo de tejidos vegetales* [Archivo PDF]. https://dmd.unadmexico.mx/contenidos/DCSBA/BLOQUE2/BI/06/BCTV1/unidad_02/descargables/BCTV1_U2_Contenido.pdf
- Van Huylenbroeck, J., Calsyn, E., Van den Broeck, A., Denis, R. & Dhooghe E. (2018). *Calathea*. En J. Van Huylenbroeck (Ed.), *Ornamental Crops* (Handbook of Plant Breeding, Vol. 11, pp. 303-318). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_13

9. ANEXOS

Cuadro A- 1. Análisis de varianza para el número de hojas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	59.44	15	3.96	8.33	<0.0001
Medio	9.51	1	9.51	19.99	<0.0001
Tipo de medio	0.06	1	0.06	0.13	0.7176
Reg. Bap + Kin	37.91	3	12.64	26.56	<0.0001
Medio*Tipo de medio	0.01	1	0.01	0.01	0.9040
Medio*Reg. Bap + Kin	1.85	3	0.62	1.30	0.2776
Tipo de medio*Reg. Bap + Kin	4.30	3	1.43	3.01	0.0326
Medio*Tipo de medio*Reg. Bap + Kin	5.80	3	1.93	4.06	0.0085
Error	60.89	128	0.48		
Total	120.33	143			

Cuadro A- 2. Análisis de varianza para el número de brotes

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	165.33	15	11.02	11.20	<0.0001
Medio	0.56	1	0.56	0.57	0.4511
Tipo de medio	5.06	1	5.06	5.14	0.0250
Reg. Bap + Kin	147.24	3	49.08	49.86	<0.0001
Medio*Tipo de medio	4.34	1	4.34	4.41	0.0377
Medio*Reg. Bap + Kin	1.02	3	0.34	0.35	0.7923
Tipo de medio*Reg. Bap + Kin	4.52	3	1.51	1.53	0.2097
Medio*Tipo de medio*Reg. Bap + Kin	2.58	3	0.86	0.87	0.4573
Error	126.00	128	0.98		
Total	291.33	143			

Cuadro A- 3. Altura promedio de la plántula a los 30 días

Tratamientos	Altura (cm)
T1	17.8
T2	17.5
T3	14
T4	13
T5	17.3
T6	17
T7	16.3
T8	14.1
T9	23.8
T10	19
T11	16.5
T12	15
T13	25
T14	23
T15	15.5
T16	16

Cuadro A- 4. Datos para evaluar estadísticamente Medio, Tipo de medio, BAP, KIN y la interacción entre BAP + KIN en hojas y brotes

ID	Tratamiento	Medio	Tipo de medio	Reg. BAP	Reg. KIN	Número de brotes	Número de hojas
1	1	MS	S	0	0	0	5
2	1	MS	S	0	0	0	5
3	1	MS	S	0	0	0	4
4	1	MS	S	0	0	0	4
5	1	MS	S	0	0	0	4
6	1	MS	S	0	0	0	5
7	1	MS	S	0	0	0	4
8	1	MS	S	0	0	1	5
9	1	MS	S	0	0	1	5
10	2	MS	S	0	1.5	1	5
11	2	MS	S	0	1.5	0	4
12	2	MS	S	0	1.5	0	4
13	2	MS	S	0	1.5	0	4
14	2	MS	S	0	1.5	0	5
15	2	MS	S	0	1.5	0	5
16	2	MS	S	0	1.5	1	5
17	2	MS	S	0	1.5	1	6
18	2	MS	S	0	1.5	0	4
19	3	MS	S	1.5	0	0	3
20	3	MS	S	1.5	0	1	3
21	3	MS	S	1.5	0	3	4
22	3	MS	S	1.5	0	4	3
23	3	MS	S	1.5	0	1	3
24	3	MS	S	1.5	0	2	4
25	3	MS	S	1.5	0	3	4
26	3	MS	S	1.5	0	0	5
27	3	MS	S	1.5	0	1	3
28	4	MS	S	1.5	1.5	4	2
29	4	MS	S	1.5	1.5	5	5
30	4	MS	S	1.5	1.5	1	3
31	4	MS	S	1.5	1.5	1	3
32	4	MS	S	1.5	1.5	1	4
33	4	MS	S	1.5	1.5	1	4
34	4	MS	S	1.5	1.5	3	3
35	4	MS	S	1.5	1.5	2	3
36	4	MS	S	1.5	1.5	1	3

37	5	B5	S	0	0	0	4
38	5	B5	S	0	0	0	4
39	5	B5	S	0	0	0	5
40	5	B5	S	0	0	0	4
41	5	B5	S	0	0	0	4
42	5	B5	S	0	0	0	4
43	5	B5	S	0	0	0	4
44	5	B5	S	0	0	0	4
45	5	B5	S	0	0	0	4
46	6	B5	S	0	1.5	0	4
47	6	B5	S	0	1.5	0	4
48	6	B5	S	0	1.5	1	4
49	6	B5	S	0	1.5	0	4
50	6	B5	S	0	1.5	0	5
51	6	B5	S	0	1.5	0	4
52	6	B5	S	0	1.5	0	3
53	6	B5	S	0	1.5	0	4
54	6	B5	S	0	1.5	0	4
55	7	B5	S	1.5	0	1	3
56	7	B5	S	1.5	0	1	4
57	7	B5	S	1.5	0	1	3
58	7	B5	S	1.5	0	2	3
59	7	B5	S	1.5	0	1	2
60	7	B5	S	1.5	0	1	3
61	7	B5	S	1.5	0	1	3
62	7	B5	S	1.5	0	0	4
63	7	B5	S	1.5	0	3	5
64	8	B5	S	1.5	1.5	4	2
65	8	B5	S	1.5	1.5	2	3
66	8	B5	S	1.5	1.5	2	2
67	8	B5	S	1.5	1.5	3	2
68	8	B5	S	1.5	1.5	1	2
69	8	B5	S	1.5	1.5	2	3
70	8	B5	S	1.5	1.5	1	3
71	8	B5	S	1.5	1.5	2	3
72	8	B5	S	1.5	1.5	2	3
73	9	MS	L	0	0	0	3
74	9	MS	L	0	0	0	4
75	9	MS	L	0	0	0	3
76	9	MS	L	0	0	0	5
77	9	MS	L	0	0	0	4

78	9	MS	L	0	0	0	5
79	9	MS	L	0	0	0	4
80	9	MS	L	0	0	0	4
81	9	MS	L	0	0	0	3
82	10	MS	L	0	1.5	0	5
83	10	MS	L	0	1.5	0	4
84	10	MS	L	0	1.5	0	5
85	10	MS	L	0	1.5	0	4
86	10	MS	L	0	1.5	0	4
87	10	MS	L	0	1.5	0	5
88	10	MS	L	0	1.5	0	4
89	10	MS	L	0	1.5	0	5
90	10	MS	L	0	1.5	0	5
91	11	MS	L	1.5	0	0	5
92	11	MS	L	1.5	0	2	5
93	11	MS	L	1.5	0	3	5
94	11	MS	L	1.5	0	1	4
95	11	MS	L	1.5	0	0	4
96	11	MS	L	1.5	0	2	4
97	11	MS	L	1.5	0	2	4
98	11	MS	L	1.5	0	2	4
99	11	MS	L	1.5	0	2	5
100	12	MS	L	1.5	1.5	4	3
101	12	MS	L	1.5	1.5	4	3
102	12	MS	L	1.5	1.5	4	3
103	12	MS	L	1.5	1.5	2	4
104	12	MS	L	1.5	1.5	1	4
105	12	MS	L	1.5	1.5	3	3
106	12	MS	L	1.5	1.5	1	3
107	12	MS	L	1.5	1.5	6	4
108	12	MS	L	1.5	1.5	1	3
109	13	B5	L	0	0	0	4
110	13	B5	L	0	0	0	4
111	13	B5	L	0	0	0	5
112	13	B5	L	0	0	0	3
113	13	B5	L	0	0	0	3
114	13	B5	L	0	0	0	5
115	13	B5	L	0	0	0	3
116	13	B5	L	0	0	0	4
117	13	B5	L	0	0	0	2
118	14	B5	L	0	1.5	0	4

119	14	B5	L	0	1.5	1	4
120	14	B5	L	0	1.5	1	4
121	14	B5	L	0	1.5	1	4
122	14	B5	L	0	1.5	0	5
123	14	B5	L	0	1.5	1	4
124	14	B5	L	0	1.5	4	6
125	14	B5	L	0	1.5	0	5
126	14	B5	L	0	1.5	0	5
127	15	B5	L	1.5	0	3	4
128	15	B5	L	1.5	0	4	3
129	15	B5	L	1.5	0	1	2
130	15	B5	L	1.5	0	1	3
131	15	B5	L	1.5	0	3	1
132	15	B5	L	1.5	0	1	4
133	15	B5	L	1.5	0	2	3
134	15	B5	L	1.5	0	2	3
135	15	B5	L	1.5	0	5	3
136	16	B5	L	1.5	1.5	3	3
137	16	B5	L	1.5	1.5	3	3
138	16	B5	L	1.5	1.5	3	4
139	16	B5	L	1.5	1.5	2	3
140	16	B5	L	1.5	1.5	1	2
141	16	B5	L	1.5	1.5	5	4
142	16	B5	L	1.5	1.5	4	3
143	16	B5	L	1.5	1.5	4	3
144	16	B5	L	1.5	1.5	2	3

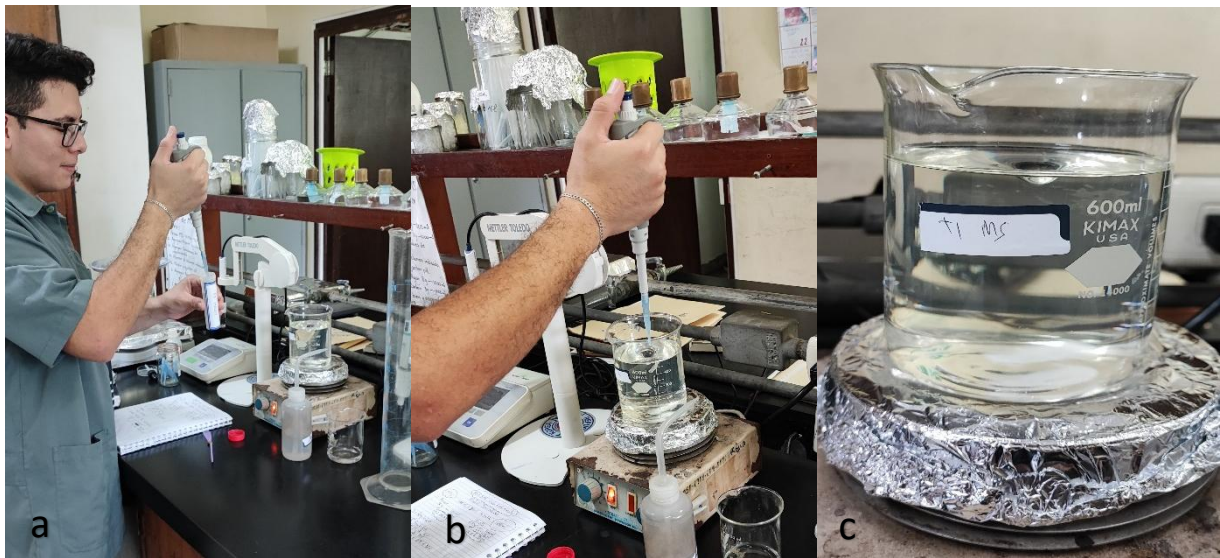


Figura A- 1. Elaboración de medio de cultivo. a) y b) Extracción de Kinetina con micropipeta, c) Medio de cultivo

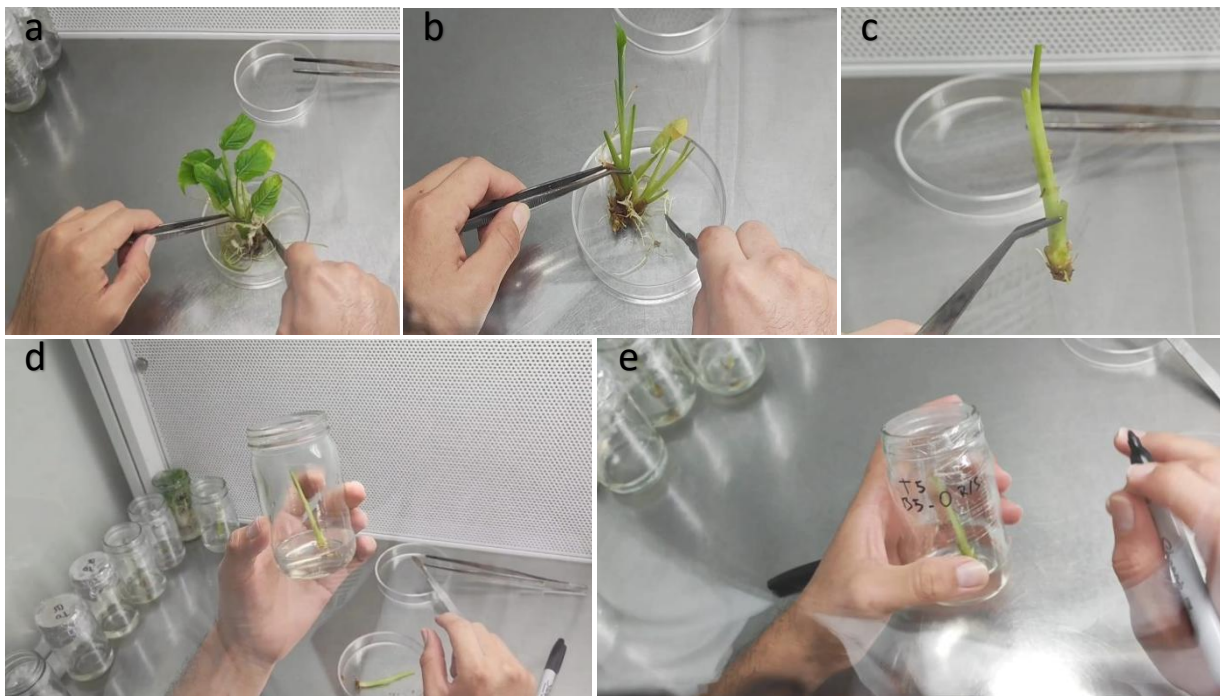


Figura A- 2. Proceso de subcultivo. a) Separación de hojas, b) Separación de brotes y raíces, c) Brote limpio, d) Brote en medio de cultivo, e) Rotulado de frasco

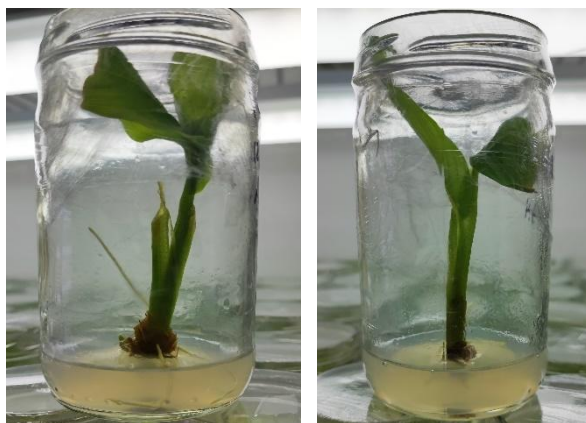


Figura A- 3. Brotes regenerados previamente al ensayo



Figura A- 4. Homogenización de brotes en 1 BAP

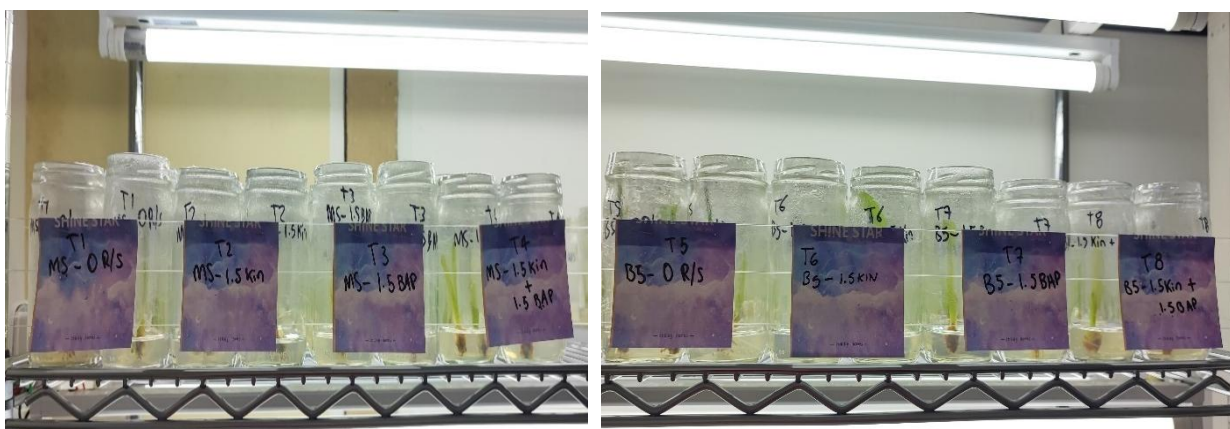


Figura A- 5. Montaje de tratamientos

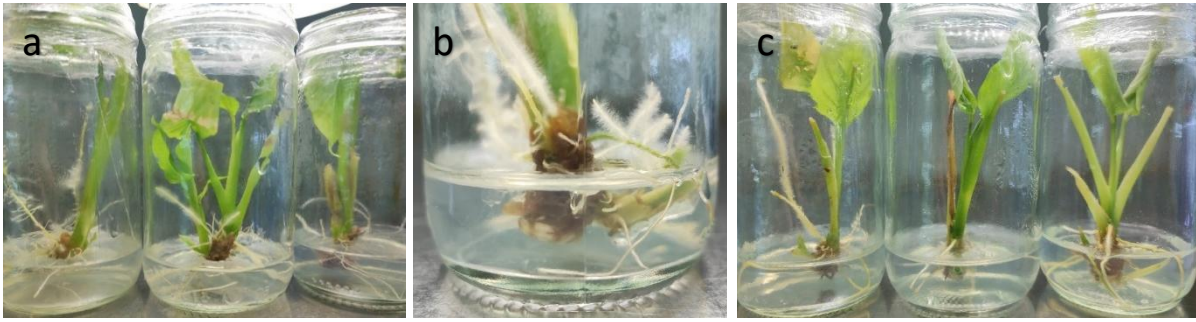


Figura A- 6. Cultivo *in vitro*. a) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido sin reguladores. b) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 KIN. c) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 BAP.

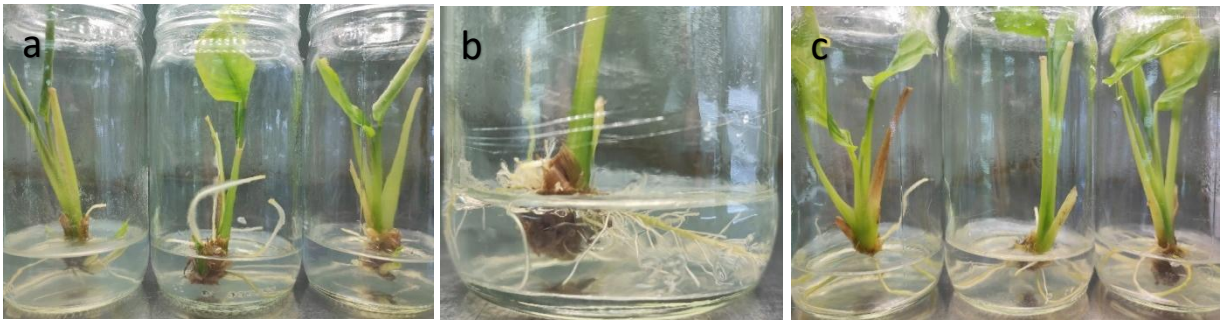


Figura A- 7. Cultivo *in vitro*. a) Brotes a los 20 días en medio MS semisólido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. b) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido sin reguladores. c) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 KIN.

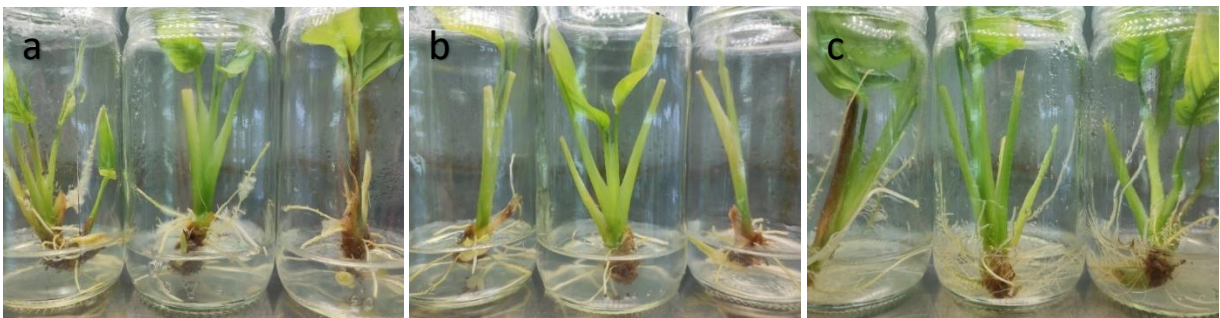


Figura A- 8. Cultivo *in vitro*. a) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 BAP. b) Brotes a los 20 días en medio B5 semisólido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. c) Brotes a los 20 días en medio MS líquido sin reguladores



Figura A- 9. Cultivo *in vitro*. a) Brotes a los 20 días en medio MS liquido con 1.5 KIN. b) Brotes a los 20 días en medio MS liquido con 1.5 BAP. c) Brotes a los 20 días en medio MS liquido con 1.5 KIN + 1.5 BAP

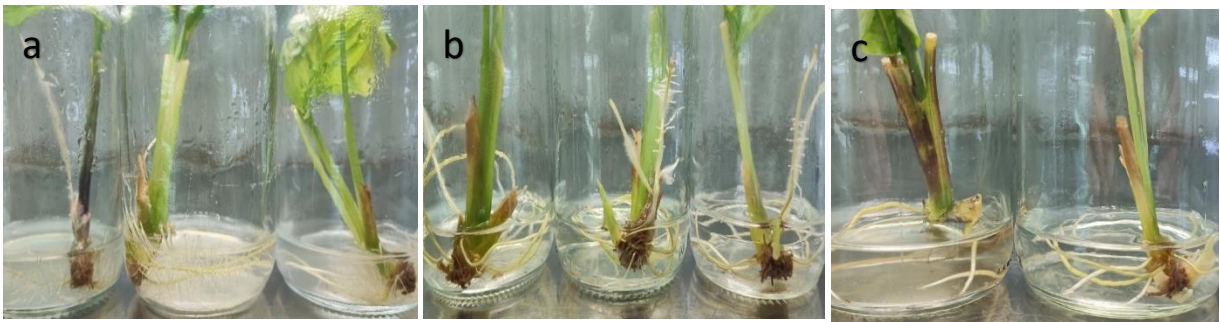


Figura A- 10. Cultivo *in vitro*. a) Brotes a los 20 días en medio B5 liquido sin reguladores. b) Brotes a los 20 días en medio B5 liquido con 1.5 KIN. c) Brotes a los 20 días en medio B5 liquido con 1.5 BAP



Figura A- 11. Plántulas. a) Brotes a los 20 días en medio B5 liquido con 1.5 KIN + 1.5 BAP. b) Plántulas a los 30 días, desarrolladas en medio MS semisólido sin reguladores. c) Plántulas a los 30 días, desarrolladas en medio B5 semisólido sin reguladores.

**Figura A- 12. Composición química del medio de cultivo
Murashige and Skoog.**

Murashige and Skoog Basal Medium

Catalog Number **M5519**

Storage Temperature 2–8 °C

Product Description

Classic plant cell culture medium containing macro and micronutrients, and vitamins.¹

Components	mg/L
Ammonium nitrate	1,650.0
Boric acid	6.20
Calcium chloride (anhydrous)	332.20
Cobalt chloride hexahydrate	0.0250
Cupric sulfate pentahydrate	0.0250
Disodium EDTA dihydrate	37.260
Ferrous sulfate heptahydrate	27.80
Glycine	2.0
Magnesium sulfate (anhydrous)	180.70
Manganese sulfate monohydrate	16.90
<i>myo</i> -Inositol	100.0
Nicotinic acid	0.50
Potassium iodide	0.830
Potassium nitrate	1,900.0
Potassium phosphate monobasic	170.0
Pyridoxine hydrochloride	0.50
Sodium molybdate dihydrate	0.250
Thiamine hydrochloride	0.10
Zinc sulfate heptahydrate	8.60

4.4 g of powder are required to prepare 1 L of medium.

Fuente: Sigma-Aldrich Corp., 2010

Figura A- 13. Composición química del medio de cultivo Gamborg B5

The product is plant tissue culture tested but it is the sole responsibility of the user to ensure the suitability of the medium for individual species.

Composition :

Ingredients	mg/L
MACROELEMENTS	
Ammonium sulphate	134.000
Calcium chloride	113.230
Magnesium sulphate	122.090
Potassium nitrate	2500.000
Sodium phosphate monobasic	130.420
MICROELEMENTS	
Boric acid	3.000
Cobalt chloride hexahydrate	0.025
Copper sulphate pentahydrate	0.025
EDTA disodium salt dihydrate	37.300
Ferrous sulphate heptahydrate	27.800
Manganese sulphate monohydrate	10.000
Molybdic acid (sodium salt)	0.213
Potassium Iodide	0.750
Zinc sulphate heptahydrate	2.000
VITAMINS	
myo-Inositol	100.000
Nicotinic acid (free acid)	1.000
Pyridoxine HCl	1.000
Thiamine hydrochloride	10.000
Total(gms/litre)	3.2

Material required but not provided :

- Autoclaved distilled water
- Plant growth regulators
- 1N NaOH/HCl
- Sucrose (PCT0607)
- Gelling agents like Agar (PCT0901) or CleriGel™ (PCT0902)

Fuente: HiMedia Laboratories, 2017

Figura A- 14. Representación del estante metálico

