

Micropropagación de vides silvestres (*Vitis* spp.) del centro de México

Micropropagation of wild grapevines (*Vitis* spp.) of Central Mexico

Jiménez-Martínez JH¹, MG Gutiérrez-Martínez², O Franco-Mora¹, A González-Huerta², AT Gutiérrez-Ibáñez²

Resumen. Las accesiones de vid silvestre (*Vitis* spp.), Nealticán y Teziutlán, nativas de Puebla, y Temascaltepec 1 y Temascaltepec 2, nativas del estado de México, México, se micropropagaron en dos medios de cultivo, Murashige-Skoog (MS) y woody plant medium (WPM). En la generación de brotes no se presentaron diferencias significativas por efecto de los medios de cultivo; sin embargo, entre accesiones existieron diferencias en vigor del explante, formación de callo, número de raíces, hojas y nudos; ninguna accesión sobresalió en todos los parámetros evaluados de forma constante. Posteriormente, al enraizar los brotes en MS, se adicionó una de tres auxinas, ácido naftalen-1-acético (ANA), ácido indol-3-butyrico (AIB) ó ácido indol-3-acético (AIA) a 0,5 mg/L. A excepción de Temascaltepec 2, ANA generó el mayor número de raíces principales en las diferentes accesiones; y no hubo diferencias entre Nealticán, Teziutlán y Temascaltepec 1. Por otro lado, AIB y AIA indujeron una mayor elongación de las raíces principales. Existió efecto diferenciado para el número de raíces secundarias: ANA generó el mayor número en Temascaltepec 1; para Teziutlán el mejor efecto fue con ANA y AIB; la accesión de Nealticán generó resultados similares con ANA, AIB y AIA. Al mismo tiempo, Temascaltepec 2 no generó este tipo de raíces. Los presentes datos indican que el genotipo determina, al menos en parte, el comportamiento morfológico *in vitro* de cada accesión.

Palabras clave: Conservación; Cultivo *in vitro*; Recursos genéticos; Vitaceae.

Abstract. Two accessions of wild grapevines (*Vitis* spp.) native to Puebla State, Nealticán and Teziutlán, and other two native to Temascaltepec (1 and 2), Mexico State, were cultured *in vitro* using both Murashige-Skoog (MS) and woody plant medium (WPM) mediums. There were no differences between mediums for shoot generation. However, differences were shown among accessions for explant vigour, callus development, number of roots, leaves and nodes per explant. Rooting was evaluated only in MS medium by adding naphthalene acetic acid (NAA), indole butyric acid (IBA) or indole acetic acid (IAA) at 0.5 mg/L. With the exception of Temascaltepec 2, NAA generated the highest number of roots in the other three accessions; and they performed similarly. On the other hand, IBA and IAA generated the largest main roots. For secondary roots, the auxins affected differentially each accession; whereas in Nealticán there were no effect for the auxins added, NAA generated more secondary roots in Temascaltepec 1; NAA or IBA had the best effect in Teziutlán, and Temascaltepec 2 did not present this type of roots. Our results suggest that the genotype determine, at least in part, the development of Mexican wild grapevine plantlets generated *in vitro*.

Keywords: Conservation; Genetic resources; *In vitro* culture; Vitaceae.

¹Laboratorio de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. Campus Universitario El Cerrillo, Toluca, México, C.P. 50200.

²Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. Campus Universitario El Cerrillo, Toluca, México, C.P. 50200.

Address Correspondence to: Omar Franco-Mora, Campus Universitario El Cerrillo, Toluca, México, C.P. 50200. Tel.: +52 722 2965518 ext.153, e-mail: ofrancom@uamex.mx
Recibido / Received 10.II.2012. Aceptado / Accepted 11.V.2012.

INTRODUCCIÓN

México se encuentra ubicado en uno de los centros de origen del género *Vitis*, albergando gran diversidad de especies, las cuales presentan amplia distribución, desde las zonas cálidas hasta las templadas, en altitudes de 120 a 2500 m, y generalmente con precipitaciones mayores a los 800 mm anuales (Cruz, 2007, Franco-Mora et al., 2008). En forma general las vides silvestres presentan bayas y hojas más pequeñas que las variedades de cultivo, con bastante vigor y mayor resistencia o tolerancia a plagas y enfermedades (Ocete et al., 1997). A partir de la invasión de filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) a Europa a finales de 1800, se le dio atención especial a esas especies, sobre todo de origen americano, por su diferente grado de resistencia a dicho insecto plaga. Así, la vid silvestre se ha utilizado principalmente como portainjerto para uvas comerciales y en menor grado se ha utilizado para la obtención de híbridos productores de fruta (Cruz, 2007).

Además de su potencial agronómico, las propiedades medicinales de fruto, hoja, raíz y savia de las vides silvestres son sobresalientes. En diversas localidades del estado de Puebla y México se emplea como remedio naturista para combatir problemas reumáticos, gota y enfermedades cardiovasculares. Diversas propiedades farmacológicas atribuidas a las plantas del género *Vitis* se basan en compuestos polifenólicos. Se ha demostrado la presencia de resveratrol en hojas de vid silvestre obteniendo aproximadamente 6,6 µg/g de peso fresco (PF), además de ácido caféico, ácido gálico y rutina (Tobar-Reyes et al., 2009, 2011). Esto determina que este género vegetal puede ser una alternativa de consumo de antioxidantes de fuente directa y a un bajo costo para las familias locales.

A pesar de las bondades agronómicas, culturales, alimenticias y farmacológicas de las plantas del género *Vitis*, en México se registra una alta tasa de erosión genética y pérdida de diversidad. Los hábitats silvestres donde se han preservado por años, están siendo devastados por las diversas actividades del hombre (Ramírez et al., 2000; Franco-Mora et al., 2008). Por ello es importante identificar y caracterizar a más especies de vid y, así colaborar en salvaguardar su diversidad genética (Cruz-Castillo et al., 2009). El cultivo *in vitro* es una herramienta de gran importancia en el estudio biotecnológico y en la conservación ecológica de diversas especies (Guerrero et al., 2010). Dicha técnica puede ayudar a asegurar el potencial uso sostenido en el ámbito ambiental de las plantas del género *Vitis* y, a largo plazo, podría emplearse para recuperar zonas altamente afectadas por la gran actividad antrópica. Debido a que no se cuentan con registros de estudios sobre micropropagación de especies de vid silvestre de la región central de México, el objetivo de la presente investigación fue evaluar dos medios de cultivo en el establecimiento *in vitro* de cuatro accesiones de vid silvestre, mientras que en el enraizamiento se probaron tres tipos de auxinas ácido naftalen-1-acético (ANA), ácido indol-3-butírico (AIB) y ácido indol-3-acético (AIA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Generación de planta madre o fase 0. Se emplearon dos accesiones de *Vitis* spp. originarias de Temascaltepec, estado de México, y una de Teziutlán y otra de Nealticán, estado de Puebla (Tabla 1).

Tabla 1. Altitud y ubicación original de las cuatro accesiones de vid silvestre propagadas *in vitro*.

Table 1. Altitude and original location of four wild grapevines propagated *in vitro*.

Accesión	Altitud (m)	Localidad y estado
Teziutlán	1.600	Teziutlán, Puebla
Nealticán	2.230	Nealticán, Puebla
Temascaltepec 1	2.079	Temascaltepec, México
Temascaltepec 2	1.912	Temascaltepec, México

Establecimiento *in vitro*. De acuerdo a la metodología empleada para *Cissus tiliacea* reportada por Jiménez-Martínez et al. (2011), de las cuatro accesiones de vid se extrajeron ápices y tallos en activo crecimiento. Posteriormente se realizó la siembra de los segmentos nodales en tubos de ensayo de 150 mm de largo y 25 mm de ancho, empleando los medios de Murashige y Skoog (MS) (Murashige y Skoog, 1962) y woody plant medium (WPM) (Lloyd y McCown, 1980). A estos medios se les agregó 0,5 mg/L de benziladenina (BA), 20 g/L de sacarosa, 0,5 mg/L de tiamina y 7 g/L de agar. Ambos medios se ajustaron a pH de 5,7 antes de la esterilización en autoclave a 120 °C, durante 20 min. Una vez establecido el explante, los cultivos se mantuvieron a 25 ± 2 °C con un fotoperiodo de 16 h. Después de dos meses se determinó el número de brotes, vigor del explante, formación de callo, oxidación del callo, número de raíces, número de hojas, número de nudos y ápices oxidados. En cuanto a la medición de la variable vigor del explante se asignaron valores en base a una escala categórica, 0 para los explantes oxidados ya muertos; 1 para los explantes que presentaban clorosis; 2 para explantes con presencia de buen tamaño y vigor, y 3 para los explantes que sobresalían de todos los anteriores. En lo que respecta a la formación de callo también se empleó una escala: el valor de 0 representaba la ausencia de callo, 1 la presencia de callo pequeño, 2 para la formación de callo de regular tamaño, y 3 para la mayor formación de callo. Los datos de vigor del explante y formación de callo se transformaron a $(X + 0,5)^{1/2}$ (Gomez y Gomez, 1984), pero debido a su igualdad con el análisis sin transformar, en la escala se presentan los datos originales.

Multiplicación. Tres tipos de segmentos, basal, medio y apical, de la planta *in vitro* fueron transferidos por 36 días al medio de Murashige y Skoog con alguna de las siguientes dosis de BA: 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L.

Enraizamiento. De la etapa anterior, sólo los explantes provenientes del medio MS más BA 0,5 mg/L, fueron sometidos a una de las siguientes auxinas, AIA, AIB o ANA a 0,5 mg/L, con la finalidad de promover la generación de raíces adventicias. Sesenta días después de iniciado el tratamiento, las variables evaluadas fueron: número de raíces primarias en 15 explantes, número de raíces secundarias por explante, longitud y diámetro de las raíces principales, estas últimas medidas en milímetros. Con la finalidad de realizar las mediciones correspondientes a longitud y diámetro de las raíces principales se empleó el programa ImageJ® y una cámara digital con la cual se tomaron fotografías a las raíces y a un estándar dimensional (Jiménez-Martínez et al., 2011).

Análisis estadístico. A los datos obtenidos en la etapa de establecimiento, se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial (medios de cultivo × accesión). Posteriormente para la etapa de enraizado se realizó un ANOVA bifactorial (auxina × accesión). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con 15 repeticiones por tratamiento. Cuando el valor de F fue significativo se efectuó una comparación de medias entre tratamientos con la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el establecimiento *in vitro*, el factor medio de cultivo (WPM y MS) no presentó diferencias significativas, lo cual indica que estos medios no fueron determinantes para el desarrollo de los explantes de vid silvestre (Tabla 1). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Uribe et al. (2008), donde al establecer *Berberidopsis corallina* en dos medios de cultivo [$\frac{1}{2}$ DKW (Driver, Kuniyuki y McGranahan) y $\frac{1}{4}$ MS], no existieron diferencias entre los mismos. En *C. tiliacea*, planta de la familia Vitaceae, tampoco se registraron diferencias por el empleo de los medios de cultivo MS y WPM (Jiménez-Martínez et al., 2011). No obstante, Nas y Read (2004) indicaron que la composición del medio de cultivo, puede causar desordenes fisiológicos o muerte del tejido. Esto es debido a que la interacción de las sales minerales y reguladores del crecimiento en el medio de cultivo son primordiales, y juegan un rol decisivo en el éxito de la micropropagación. Mukherjee et al. (2010) mencionaron que los requeri-

mientos en la composición del medio de cultivo para la micropropagación de varias especies de *Vitis*, son dependientes del genotipo. En este sentido, Bernd et al. (2007) recomendaron el medio Galzy para la obtención de brotes en híbridos *V. labrusca* × *V. rotundifolia*. En este trabajo, la oxidación del callo y la presencia de ápices oxidados no fueron significativas y por lo tanto se omitió su análisis y discusión.

En lo que respecta al genotipo, se presentaron diferencias significativas entre accesiones, en todas las variables estudiadas, excepto en el número de brotes, obteniéndose de 1,2 a 1,8 brotes por explante (Tabla 2). Lu (2005) reportó, de igual manera, la obtención de 1,3 a 1,9 brotes por explante, empleando la concentración de 0,5 mg/L de BA en dos clones de *Vitis thunbergii*. El menor ($p < 0,05$) vigor del explante correspondió a la accesión Temascaltepec 1 (Tabla 2). Tetsumura et al. (2008) indicaron que la calidad de los brotes está estrechamente relacionada con la actividad fisiológica de la planta. De igual forma, Uribe et al. (2008), hicieron referencia a las condiciones fisiológicas de la planta donante, la cual tiene una marcada influencia sobre la respuesta *in vitro*. Ello, probablemente, como resultado de su interacción con la disponibilidad de nutrimentos, niveles endógenos de los reguladores de crecimiento, y los principales aminoácidos libres, cuyas proporciones y cantidades varían en las distintas épocas del año.

La formación de callo presente en cada accesión fue distinta, siendo la accesión Temascaltepec 2 la que presentó los valores más elevados (Tabla 2). Guerrero et al. (2010) indicaron que la respuesta de los tejidos de los híbridos *V. berlandieri* × *V. rupestris*, y *V. vinifera* × *V. rotundifolia*, dependió de la interacción de la concentración de los reguladores del crecimiento suplementados al medio de cultivo y del genotipo, posiblemente por su nivel hormonal endógeno.

La mayor generación de raíces adventicias se observó en la accesión Nealticán, difiriendo ($p < 0,05$) del resto de las acce-

Tabla 2. Parámetros de crecimiento vegetal *in vitro* de cuatro accesiones de vid silvestre (*Vitis* spp.) cultivadas en dos medios de cultivo.

Table 2. *In vitro* plant growth parameters of four wildgrapevine (*Vitis* spp.) accessions cultured in two media of propagation.

Accesión	Brotes (No.)	Vigor (escala)	Callo (escala)	Raíces (No.)	Hojas (No.)	Nudos (No.)
Teziutlán	1,88	3,00 a	1,00 b	0,00 b	12,25 a	6,13 b
Nealticán	1,57	2,48 ab	0,38 bc	1,90 a	11,48 ab	10,43 a
Temascaltepec 1	1,21	2,00 b	0,25 c	0,08 b	6,00 c	4,71 b
Temascaltepec 2	1,27	2,93 a	1,93 a	0,07 b	7,93 bc	5,13 b
Medios (M)	1,82 ns	0,01 ns	0,29 ns	1,10 ns	0,12 ns	0,13 ns
Accesión (A)	1,97 ns	5,91 ***	23,94 ***	8,15 ***	7,35 ***	8,21 ***
M x A	0,94 ns	0,11 ns	2,70 ns	0,84 ns	0,50 ns	0,69 ns

Probabilidades límites en ANOVA con dos factores. *** $p < 0,001$; ns: no significativo. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas en un análisis bifactorial (Tukey, $p < 0,05$). Factores: Medios de cultivo y accesiones.

siones (Tabla 2). Posiblemente, esto fue una respuesta a niveles endógenos de hormonas vegetales, indicando el potencial genético de dicha accesión. Sin la adición de bioreguladores vegetales, en *V. berlandieri* × *V. rupestris*, y *V. vinifera* × *V. rotundifolia*, se obtuvo como máximo 10% de brotes con raíz (Guerrero et al., 2010); por ello, se ha sugerido el empleo de auxinas en el proceso específico de enraizamiento de diferentes especies de *Vitis* (Bernd et al., 2007).

El número de hojas generadas fue mayor en las dos accesiones del estado de Puebla (i.e., Nealticán y Teziutlán). Además, en Nealticán el número promedio de nudos por explante (10,43) difirió del resto de las accesiones (Tabla 2). Guerrero et al. (2010) observaron que diferentes híbridos de *Vitis* respondieron de manera distinta a una misma concentración de reguladores de crecimiento. Las posibles diferencias en el contenido hormonal endógeno explicaría las diferentes respuestas obtenidas para número de hojas y nudos en las cuatro accesiones (Marinucci et al., 2004).

Por otro lado, en el presente trabajo, el aumento de BA a 1; 1,5 y 2 mg/L, generó vitrificación y hojas anormales en los explantes (datos no mostrados). Debido a esto, sólo se emplearon los brotes obtenidos a partir de MS más BA 0,5 mg/L para la generación de raíces.

En el análisis bifactorial del proceso de enraizamiento, las accesiones sólo presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el número de raíces principales en 15 explantes; la accesión Temascaltepec 2 fue la única que se diferenció respecto de las tres accesiones evaluadas. Además, dicha accesión no fue afectada por el tipo de auxina empleada, y debido a que su número de raíces fue limitado, su análisis posterior fue omitido (Fig. 1. I). En *V. rupestris* × *V. berlandieri* la respuesta al enraizamiento de los explantes varió con el genotipo y condiciones de cultivo (Paz y Villegas, 2009). Como es sabido, la rizogénesis está directamente relacionada con el aumento de auxinas y su relación con las citocininas. Podría haber un efecto residual de las citocininas adicionada al medio de cultivo en la etapa anterior (Pedroza y Bejarano, 2008), lo cual pudo haber inhibido la formación de raíces en la accesión Temascaltepec 2 en el presente trabajo.

De manera similar a lo indicado por Bernd et al. (2007), los datos del presente trabajo sugieren que ANA es la auxina más adecuada para la generación de raíces en tres de las cuatro accesiones empleadas (Fig. 1. I). De manera similar, Lu (2005) observó que el ANA fue claramente la mejor auxina con respecto al uso de AIB y AIA en *V. thunbergii*; las plantas tratadas con ANA desarrollaron en promedio 8 raíces por explante, cifra similar a lo obtenido en esta investigación. Además, en este trabajo, el ANA generó los mejores resultados en la inducción de raíces secundarias, sin diferencias significativas con el AIB (Fig. 1. II). Existió un efecto diferencial de las auxinas para diámetro y longitud de las raíces. El ANA favoreció el diámetro, mientras que AIB y AIA favorecieron la longitud (Fig. 2. I). Lo

anterior concuerda con lo reportado por Quintero et al. (2003), quienes indicaron que aumentando la concentración de ANA se induce un mayor diámetro de las raíces en *Dioscoreas* sp.

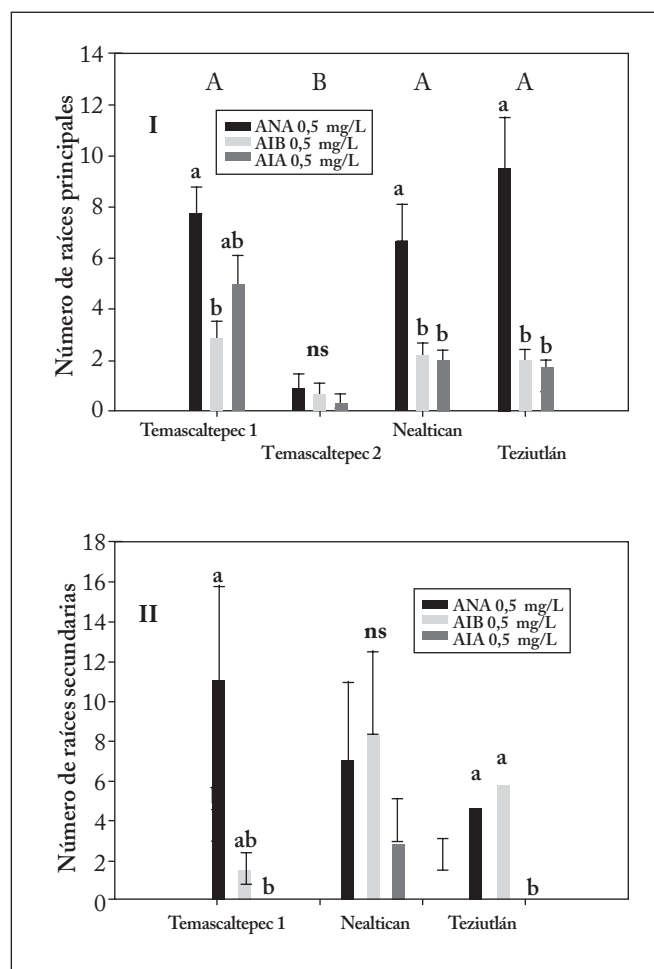


Fig. 1. (I) Número de raíces principales en quince explantes en cuatro accesiones de vid silvestre (*Vitis* spp.), cultivadas *in vitro* con tres auxinas diferentes. (II) Número de raíces secundarias por explante en tres accesiones de vid silvestre (*Vitis* spp.), cultivadas *in vitro* con tres auxinas diferentes. Los datos son la media de cinco repeticiones \pm error estándar. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre accesiones ($p < 0,05$). Letras minúsculas distintas en cada accesión indican diferencia significativa entre tratamientos de auxina ($p < 0,05$).

Fig. 1. (I) Number of main roots in fifteen explants of four accessions of wild grapevine (*Vitis* spp.) cultured *in vitro* with three different auxins. (II) Number of secondary roots per explant in three accessions of wild grapevine (*Vitis* spp.) cultured *in vitro* with three different auxins. Data are the mean of five replications \pm standard error. Values with different capital letters show differences among accessions ($p < 0.05$). Values with different small letters show differences, within each accession, among auxin treatments ($p < 0.05$).

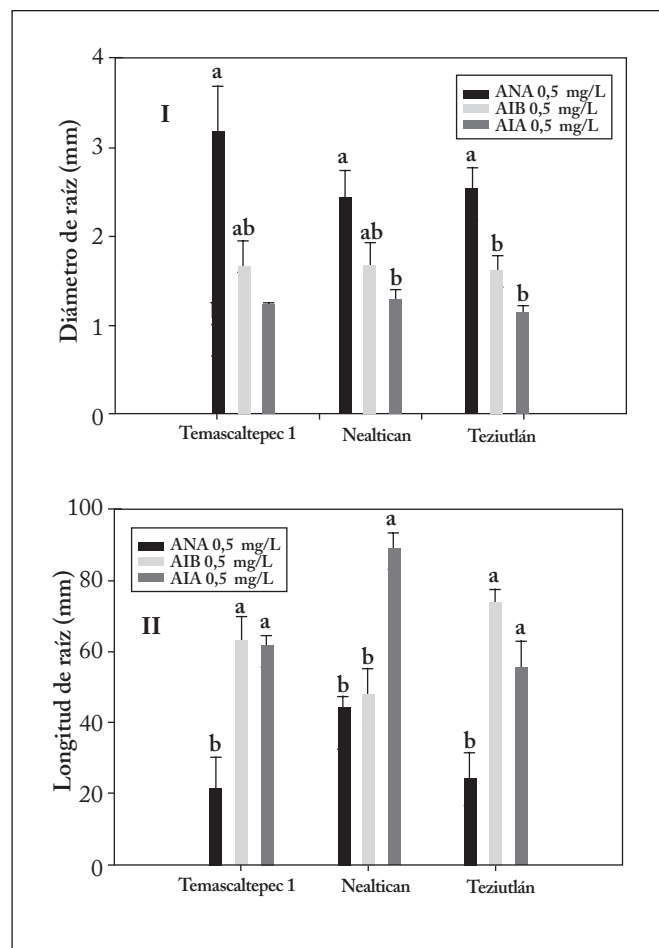


Fig. 2. (I) Diámetro y (II) longitud de las raíces principales en los explantes exitosamente enraizados de tres accesiones de vid silvestre (*Vitis* spp.), cultivadas *in vitro* con tres auxinas diferentes. Los datos son la media de cinco repeticiones y su error estándar. Letras minúsculas distintas en cada accesión indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Fig. 2. (I) Diameter and (II) length of main roots in successfully rooted explants of three wild grapevine accessions cultured *in vitro* with three different auxins. Data are the mean of five replications \pm standard error. Values with different small letters, within each accession, indicate differences among auxin treatments ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

Se propagaron *in vitro* cuatro accesiones de vid silvestre de los estados de México y Puebla, México. Para su establecimiento *in vitro* se determinó la utilidad de los medios de cultivo Murashige y Skoog, y Woody Plant Medium. De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda la adición de 0,5 mg/L de bencil adenina al medio durante la propagación. El tipo de auxina fue determinante en la rizogénesis: 0,5 mg/L de ácido naftalen-1-acético aumentaron el número de raíces principales, de raíces secundarias, y el diámetro de las raíces principales. Al mismo tiempo, 0,5 mg/L de AIB y AIA

produjeron una mayor elongación de las raíces principales. El presente protocolo es un inicio para la posible propagación de estas especies, y su re-introducción a zonas de alto impacto antropogénico, así como para su conservación *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México, al Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos y al sistema PROMEP/SEP (Apoyo al CA UAEM-127), por el financiamiento parcial al presente trabajo. A CONACYT por otorgar la beca para el estudio de Maestría en Ciencias a José Humberto Jiménez Martínez.

REFERENCIAS

- Bernd, R.B., A.P. Trivilin, U.A. Camargo y A.B.C. Czermainski (2007). Micropropagation of hybrids of *Vitis labrusca* \times *Vitis rotundifolia* rootstocks with resistance to perola-da-terra (*Eurbi-zococcus brasiliensis* Hempel, Hemiptera: Margarodidae). *Revista Brasileira de Fruticultura* 29: 350-354.
- Cruz, C.J.G. (2007). Las uvas (*Vitis*) silvestres. Distribución y usos en la región central de Veracruz. En: Nieto A.R. (ed), pp. 225-250. Frutales nativos, un recurso genético de México. Universidad Autónoma Chapingo. México, D. F. 270 p.
- Cruz-Castillo, J.G., O. Franco-Mora y F. Famiani (2009). Presence and uses of wild grapevine (*Vitis* spp.) in the central region of Veracruz in Mexico. *International Journal des Sciences de la Vigne et du Vin* 43: 77-81.
- Franco-Mora, O., J.G. Cruz-Castillo, A.A. Cortés-Sánchez y A.C. Rodríguez-Landero (2008). Localización y usos de vides silvestres (*Vitis* spp.) en el estado de Puebla y México. *Ra Ximhai* 4: 151-165.
- Gomez, K. A. y A. A. Gomez. (1984). Statistical procedures for agricultural research. John Wiley and Sons. 680 p.
- Guerrero, D.R., L.A. Mroginski, M.A. Krivenky y M.C. Domínguez (2010). Micropropagación de portainjertos de vid de interés para la provincia de Misiones. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 42: 143-159.
- Jiménez-Martínez, J.H., O. Franco-Mora, M.G. Gutiérrez-Martínez, A. González-Huerta y A. Castañeda-Vildózola. 2011. Micropropagación de *Cissus tiliacea*, planta del sur del estado de México. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 43: 71-81.
- Lloyd, G.B. y B.H. McCown (1980). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Proceedings International Plant Propagators Society* 30: 421-437.
- Lu, M.C. (2005) Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture. *Scientia Horticulturae* 107: 64-69.
- Marinucci, L., M. Ruscitti y W. Abedini (2004). Morfogénesis *in vitro* de leguminosas forestales nativas de la republica Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía. La Plata* 105: 27-36.
- Mukherjee, P., N. Husain, S.C. Misra y V.S. Rao (2010). *In vitro* propagation of grape rootstock, de Grasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of medium composition and plant growth regulators. *Scientia Horticulturae* 126: 13-19.

- Murashige, T. y F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultura. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nas, M.N. y P.E. Read (2004). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae* 101: 189-200.
- Ocete, R., M.A. López, M. Lara y R. del Tío (1997). The sanitary state of a phylogenetic resource: the Spanish wild grapevine, *Vitis vinifera sylvestris* Gmelin (Hegi), populations. *Plant Genetic Resources Newsletter* 110: 5-12.
- Paz, R. y A. Villegas (2009). Sucrose levels in the *in vitro* rooting and *ex vitro* acclimatization of plantlets of the R110 (*Vitis rupestris* x *Vitis berlandieri*) grapevine rootstock. *Interciencia* 34: 897-902.
- Pedroza, J.A. y A. Bejarano. 2008. Propagación vegetativa *in vitro* de *Puya santossi*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 10: 36-48.
- Quintero, I., J. Polo, A. Jarma y A. Espitia (2003). Enraizamiento *in vitro* de *Dioscoreas* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología* 5: 51-56.
- Ramírez, V.P., R. Ortega, A. López, F. Castillo, M. Livera, F. Rincón y F. Zavala (2000). Recursos fitogénéticos de México para la alimentación y la agricultura. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sociedad Mexicana de Citogenética, A.C., México, 163 p.
- Tetsumura, T., Y. Matsumoto, M. Sato, C. Honsho, K. Yamashita, H. Komatsu, Y. Sugimoto y H. Kunitake (2008). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae* 119: 72-74.
- Tobar-Reyes, J.R., O. Franco-Mora, E.J. Morales-Rosales y J.G. Cruz-Castillo (2009). Contenidos de resveratrol en hojas de vides silvestres (*Vitis* spp.) mexicanas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 41: 127-137.
- Tobar-Reyes, J.R., O. Franco-Mora, E.J. Morales-Rosales y J.G. Cruz-Castillo (2011). Fenoles de interés farmacológico en vides silvestres (*Vitis* spp.) de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10: 167-172.
- Uribe, M.E., C. Delaveau, M. Garcés y R. Escobar (2008). Effect of asepsis and phytohormones on the *in vitro* establishment of *Berberidopsis corallina* from nodal segments. *Bosque* 29: 58-64.