

Effect of culture media substitutions on *in vitro* growth of Ipecac

Jiménez-Rivera, Alexander; Montero-Carmona, Wayner

 Alexander Jiménez-Rivera
alexander09agrotec@gmail.com
Instituto Tecnológico de Costa Rica,, Costa Rica

 Wayner Montero-Carmona
wmontero@tec.ac.cr
Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica

Tecnología en marcha
Editorial Tecnológica de Costa Rica, Costa Rica
ISSN-e: 2215-3241
Periodicidad: Trimestral
vol. 32, núm. 4, 2019
revistatm@tec.ac.cr

Recepción: 21 Noviembre 2018
Aprobación: 03 Marzo 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/263/2631190003/index.html>



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NonComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Resumen: La micropropagación de raicilla se ha visto como una alternativa para suplir la necesidad de materiales para productores interesados en el cultivo. No obstante, los costos poco competitivos del cultivo de tejidos tradicional han dificultado su implementación en la producción de vitroplantas para zonas de cultivo. Con el fin de evaluar diferentes sustituciones en la composición del medio de cultivo, se realizó una comparación del crecimiento de plantas en medios con sustituciones en las sales minerales (por sales hidropónicas), Vitaminas (por tiamina o complejo B1, B6 y B12) y gelificante (por almidón de maíz). Se observaron diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre las características de crecimiento evaluadas (número de brotes, longitud de brotes, número de hojas y peso seco). Un análisis multivariado mostró una relación entre los medios con sustitución de sales hidropónicas, los medios con vitaminas (B1, B6 y B12) y el medio Testigo (MS); los cuales influenciaron la longitud de brotes y el número de hojas. Por su parte el medio con sustitución de almidón de maíz afectó el número de brotes y el peso seco. Esta última variable también se vio influenciada por el medio de Bajo Costo (sustitución de los tres componentes). De los tratamientos evaluados, el medio con sustitución de Tiamina fue el que presentó los rendimientos más bajos; mientras el medio de Bajo Costo los más elevados según Prueba de Hotelling - Bonferroni. El análisis de costos realizado mostró un ahorro significativo (hasta 59%) entre el medio de Bajo Costo y el tratamiento testigo (Medio MS).

Palabras clave: Medios de bajo costo, micropropagación, nudos, *Psychotria ipecacuanha*.

Abstract: The micropropagation of ipecac has been seen as an alternative to supply the need for materials from producers interested in this crop. However, the uncompetitive costs of traditional tissue culture have hampered their implementation in the production of vitroplants for growing areas. In order to evaluate different substitutions in the composition of the culture media, a comparison on plants growth in different media with substitutions in mineral salts (by hydroponic salts), vitamins (by thiamine or complex B1, B6 and B12) and gelling agent (by corn starch) was made. Significant differences ($\alpha = 0.05$) between the evaluated growth characteristics (shoots number, shoots length, leaves number and dry weight) were observed. A multivariate analysis showed a relationship between culture media with hydroponic salts substitution, with vitamins (B1, B6 and B12) substitution and the control media (MS); which

influenced the shoots length and the leaves number. On the other hand, the media with corn starch substitution affected the shoots number and the dry weight. This last variable was also influenced by the Low Cost media (substitution of the three components). Of all treatments evaluated, the Thiamine substitution media was the one that presented the lowest yields; while the Low Cost media shows the highest according to Hotelling- Bonferroni Test. The cost analysis performed showed significant savings (up to 59%) between the Low Cost and the control treatment (MS media).

Keywords: Low cost culture media, micropropagation, nodal segment, *Psychotria ipecacuanha*.

INTRODUCCIÓN

La raicilla (*Psychotria ipecacuanha*) es una especie vegetal con amplias y reconocidas propiedades medicinales [1]. Esta especie, perteneciente a las Rubiáceas, es un cultivo perenne de entre 0,2 y 0,7 m de altura el cual se ha venido desarrollando con cierto éxito en zonas de alta humedad, bajo condiciones de sombra artificial o de áreas de cultivo en sotobosque [2]. No obstante, problemas de sobreexplotación de las poblaciones naturales existentes; así como dificultades en los procesos de propagación de semilla dificultan la obtención de materiales para solventar las necesidades de productores interesados en este cultivo [3]. Esto ha generado que el cultivo de tejidos se convierta en una alternativa para la multiplicación rápida de materiales con el fin de solventar las necesidades de materiales para su reproducción vegetativa [1, 4].

Los primeros trabajos sobre la micropropagación de *P. ipecacuanha* fueron reportados por Yoshimatsu y Shimomura [5]. A nivel *in vitro*, la raicilla puede propagarse mediante organogénesis directa [6] y embriogénesis somática [1, 6]. El método de propagación *in vitro* más utilizado es la microestaca; sin embargo, regeneración de explantes de hojas, segmentos internodales y raíces han sido reportadas [7, 8]. Por lo general, el medio de cultivo más utilizado es el Murashige y Skoog (MS) [9], suplementado con sacarosa al 2 - 3% y pH entre 5,7 y 5,8. Si bien diversas combinaciones de reguladores de crecimiento se han evaluado en dicho cultivo [1, 5, 7], la regeneración de brotes se ha reportado sin la necesidad de la adición de los mismos mediante síntesis endógena de auxinas y citoquininas [8].

A pesar de las grandes expectativas que se han generado con la micropropagación del cultivo, lo cierto es que esta tecnología no ha tenido el impacto esperado debido a la poca utilización que se le ha dado relacionado a los elevados costos de producción de dichos materiales [10]. Según Daud y colaboradores [11], los costos de producción del medio de cultivo tienen un fuerte impacto en el costo final de las plantas producidas; por lo que la sustitución de insumos para abaratar los costos de preparación del medio de cultivo podría generar una mayor accesibilidad de estas tecnologías al sector productivo de mayor necesidad [12].

Importantes avances se han realizado en la búsqueda de insumos que puedan sustituir los componentes esenciales del medio de cultivo [13, 14]. Sustituciones en las sales minerales, vitaminas, fuentes de carbono y agentes gelificantes han sido evaluadas en diversos cultivos [11, 15, 21]. Estas sustituciones buscan disminuir los costos de producción por medio de materiales e insumos más baratos, que fusionen sin alterar la calidad del material vegetal, y que permitan una mayor rentabilidad [22].

Durante más de 10 años, el Laboratorio de Biotecnología de Plantas de la Escuela de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica ha venido evaluando sustituciones de insumos en la formulación de medios de cultivos para especies de interés comercial. Entre los cultivos evaluados con potencial para el desarrollo en las regiones de impacto de dicho Laboratorio, la raicilla ha despertado un gran interés por parte de pequeños y medianos productores interesados en la exploración del cultivo.

Con el fin de evaluar diferentes sustituciones en la composición del medio de cultivo utilizado para la propagación de raicilla *in vitro*, se realizó una comparación del crecimiento de plantas de *P. ipecacuanha* en seis medios de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

La investigación sobre el efecto de la sustitución de insumos en el crecimiento *in vitro* de raicilla se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas (LBP) de la Escuela de Agronomía, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Regional San Carlos, Costa Rica.

Obtención de explantes

Se utilizaron plantas de raicilla (*P. ipecacuanha*) provenientes de condiciones estériles desarrolladas en el LBP. Para su propagación inicial, el material vegetal se mantuvo en condiciones *in vitro* en un medio con sales Murashige y Skoog (MS) [9], suplementados con 30 g/L de sacarosa y 6,2 g/L de agar como gelificante (pH=5,7). El material se mantuvo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$; con un fotoperiodo de 16 horas ($28 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) y subcultivos constantes en lapsos de 30 días.

Sustitución de insumos

Para la producción de medios de bajo costo, se realizaron sustituciones de precio menor a los reactivos tradicionales utilizados en la formulación del medio MS (el cual se utilizó como testigo). Se reemplazaron las sales minerales, vitaminas del complejo B y el agente gelificante según el cuadro 1. Los materiales (nudos de ~ 5 mm) se mantuvieron en los diferentes medios a $25 \pm 2^\circ\text{C}$; con un fotoperiodo de 16 horas ($28 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) y subcultivos constantes en lapsos de 30 días. Se evaluaron diversas características de crecimiento (número de brotes, longitud de brotes, número de hojas y número de raíces) cada 15 días. El peso seco se evaluó una única vez al final del estudio a 90 días después de la siembra (dds).

CUADRO 1

Medios de cultivo evaluados en la sustitución de insumos durante el cultivo *in vitro* de Raicilla en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas, Tecnológico de Costa Rica, 2017.

Medio de cultivo	Sustitución	Componentes			
		Sales minerales	Vitaminas	Fuente de Carbono	Gelificante
MS (Testigo)	-----	Sales MS [9]	Vitaminas MS [9]	Sacarosa (30 g/L)	Agar (6,2 g/L)
Hidrop	Sales minerales	Sales Hidropónicas 1	Vitaminas MS [9]		Agar (6,2 g/L)
Neurobión	Vitaminas	Sales MS [9]	Neurobión 2		Maicena 4
Tiamina	Vitaminas		Tiamina 3		
Maicena	Gelificante		Vitaminas MS [9]		
Bajo Costo	Sales minerales + Vitaminas + Gelificante	Sales Hidropónicas 1	Neurobión 2		Maicena 4

Tecnológico de Costa Rica, 2017.

1 Solución elementos Mayores (10 mL/L) + Solución elementos Menores (5 mL/L) Ever Green® (San José, Costa Rica).

2 Vitaminas B1, B6 y B12; Neurobión® (130 mg/L) MERCK® (Quito, Ecuador) + 100 mg/L de mio-inositol.

3 3 Vitamina B1, Tiamina (180 mg/L) MERCK® (Quito, Ecuador) + 100 mg/L de mio-inositol.

4 Almidón de Maíz (75 g/L) Maizena® (Unilever, México).

Análisis de costos

Debido a las variaciones realizadas en los insumos para la formulación de los distintos medios evaluados, se realizó un análisis del costo (a un litro de medio preparado) de las sustituciones evaluadas con el fin de comparar los costos aproximados de cada medio de cultivo evaluado.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental de irrestricto completamente al azar, en el cual se evaluaron 50 repeticiones para los seis tratamientos. La unidad experimental correspondió a un nudo de 5 mm de longitud (aproximadamente) evaluado cada 15 días hasta alcanzar los 90 dds, para un total de 1800 unidades muestrales evaluadas. Cada explante se colocó en grupos de cinco por frasco de cultivo; los diez frascos utilizados por tratamiento se analizaron como covariable. La distribución de los tratamientos, los tiempos de evaluación y el frasco de cultivo se asignaron al azar a las unidades muestrales.

Se realizó un análisis multivariado mediante exploración con el análisis de componentes principales y posteriormente un análisis de conglomerados para agrupar los tratamientos evaluados. Los grupos formados se valoraron mediante análisis de varianza multivariado y una prueba de comparación múltiple (Hotelling-Bonferroni).

Los análisis de covarianza (ANCOVA) y comparaciones LSD Fisher; así como el análisis multivariado, se realizaron en el programa estadístico InfoStat/P [23] mediante análisis de modelos lineales generales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de los explantes en medios con sustitución de insumos

El número de brotes presentó un crecimiento sostenido para los seis tratamientos evaluados, mostrando dos brotes para los 60 dds y un máximo de tres brotes para los 90 dds (figura 1A). El medio de cultivo con sustitución de vitaminas por Tiamina fue el que presentó menor número de brotes ($2,29 \pm 0,82$ brotes) en todo el periodo de evaluación. Este medio presentó diferencias significativas ($p = 0,0081$) con los demás medios con sustitución de insumos y el tratamiento testigo (MS) evaluados. El análisis del frasco como covariable (ANCOVA) no mostró diferencias significativas ($p = 0,1372$) para los tratamientos evaluados.

En general, la producción de brotes fue baja en comparación con experimentos realizados por otros investigadores en la micropropagación convencional de raicilla [6, 8]. Esto puede deberse a la ausencia de reguladores de crecimiento en los medios evaluados, los cuales tienden a estimular la producción de brotes adventicios [7]. Por su parte, la sustitución de vitaminas MS por tiamina no dio el resultado esperado. Algunos investigadores [24, 25], señalan que esta vitamina está asociada a la producción de citoquininas y a la inducción de crecimiento en callos y el enraizamiento, por lo que resulta esencial para el desarrollo organogénico de plantas. En este estudio, la adición de solo la vitamina B1 no fue suficiente para mantener el crecimiento de los explantes; por su parte, el medio con Neurobión® como sustitución de vitaminas B1, B6 y B12 presentó un número de brotes similar a los obtenidos por el testigo (MS). Esto resalta la importancia de la incorporación de suplementos vitamínicos del complejo B en el medio de cultivo [26].

Con relación a la longitud de los brotes obtenidos, el crecimiento observado fue ascendente para todos los medios evaluados. Se presentó diferencia altamente significativa ($p < 0,0001$) entre los tratamientos

evaluados y el testigo (MS); siendo los medios con sustitución de sales hidropónicas ($27,74 \pm 8,76$ mm) y el medio con sustitución de vitaminas mediante la adición de Neurobión® ($25,52 \pm 7,75$ mm) los que presentaron crecimientos similares a los mostrados por el medio MS ($24,16 \pm 6,99$ mm). Los demás tratamientos presentaron longitudes inferiores a los $21,24 \pm 5,23$ mm para los 90 dds (figura 1B). El análisis de covarianza (ANCOVA) con el frasco como covariable, no mostró diferencias significativas ($p = 0,1322$) para los tratamientos evaluados.

El crecimiento en longitud está fuertemente relacionado a la capacidad del medio de cultivo utilizado para solventar los requerimientos nutricionales de los explantes [27]. Siendo el nitrógeno y el potasio dos elementos de importancia al mantener las condiciones de crecimiento de los explantes [28]. Esto pudo favorecer al medio con sustitución de nutrientes mediante sales hidropónicas, las cuales presentaron los mayores crecimientos en longitud. Romero y colaboradores [16] por su parte obtuvieron crecimientos favorables en longitud de los explantes de *Laelia anceps* al utilizar sustitución de los nutrientes por fertilizantes comerciales al 50% en N y K respecto a las concentraciones del medio MS. En nuestro estudio, las sales hidropónicas presentaron efectos similares a los reportados por dichos investigadores.

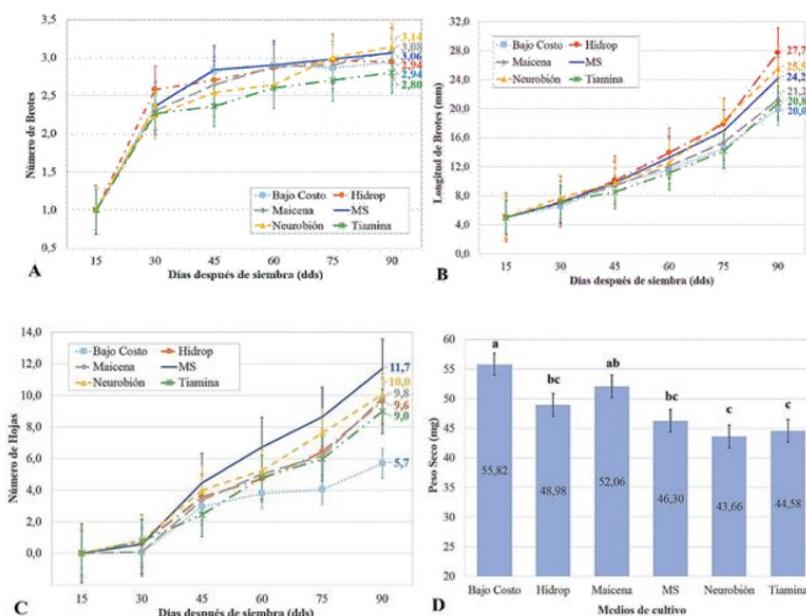


FIGURA 1

Crecimiento obtenido en el cultivo in vitro de raicilla en diferentes medios con sustitución de insumos.

Laboratorio de Biotecnología de Plantas, Tecnológico de Costa Rica, 2017.

(A. Número de brotes; B. Longitud de brotes; C. Número de Hojas; D. Peso Seco, letras distintas representan diferencias significativas con $\alpha = 0,05$).

Las barras representan la desviación estándar.

En el caso de los medios con sustitución de vitaminas por Tiamina, el uso una única vitamina restringió el crecimiento de los brotes, debido a la función de síntesis que realizan otras vitaminas del complejo B adicionadas al medio como que favorecen en el desarrollo de los explantes [25]. Por su parte los medios con sustitución de gelificante (Maicena y Bajo Costo), presentaron crecimiento disminuido debido a que los almidones presentes en el sustituyente pueden provocar una disminución en el crecimiento longitudinal de las plantas [15, 18].

Al comparar el número de hojas obtenido por los tratamientos evaluados se observó una diferencia altamente significativa ($p < 0.0001$) de la sustitución de Bajo Costo (Sales hidropónicas + Neurobión + Maicena), el cual presentó el menor número de hojas ($5,68 \pm 2,63$ hojas) con respecto al testigo MS ($11,68$

$\pm 4,90$ hojas). Los demás tratamientos presentaron valores crecientes inferiores a los obtenidos por el medio MS, siendo la sustitución de vitaminas con Neurobión ($10,04 \pm 4,20$ hojas) la que presentó resultados más cercanos a los del tratamiento testigo a los 90 dds (figura 1C). Nuevamente, el análisis de covarianza (ANCOVA) no mostró diferencias significativas para el frasco como covariable ($p = 0,5845$).

Rodríguez [29] obtuvo gran cantidad de hojas de *P. ipecacuanha* al sustituir los nutrientes con fertilizantes que equipararon las concentraciones del medio MS. En nuestro estudio la cantidad de hojas fue baja en comparación con el testigo para todos los tratamientos evaluados. No obstante, solo el tratamiento de Bajo Costo (al combinar las sustituciones de sales hidropónicas, Neurobión® y maicena) presentó el menor número de hojas desde los 60 dds y acentuándose a los 90 dds. Esta diferencia se le puede atribuir a las concentraciones bajas en nitrógeno y potasio (uno 50% inferiores en comparación con el MS) presentes en las soluciones hidropónicas utilizadas para la sustitución de las sales minerales. La importancia de estos minerales para la formación de nuevas hojas ya ha sido reportado con anterioridad [30]. Para este mismo tratamiento, la presencia de maicena como sustituyente al gelificante potenció un efecto sinérgico negativo disminuyendo el número de hojas debido a la reducción en la disponibilidad de nutrientes y afectando la absorción de agua [19].

Durante los 90 dds en los que se evaluó este estudio, no se presentó la formación de raíces en los explantes de raicilla. Aun cuando existen reportes de la producción de raíces en medios con sustitución de insumos [29]; este y otros trabajos relacionadas a la producción de raíces en

P. ipecacuanha han requerido la adición de reguladores del crecimiento para dicho fin [6, 31]. Una de las características de los medios de cultivo con sustitución de insumos implementados en este estudio es la ausencia de reguladores de crecimiento, por lo que se podría justificar la falta de raíces debido a la carencia del estímulo apropiado. Además, el periodo de evaluación máximo fue de 90 dds, siendo un periodo corto para observar la producción de raíces en

P. ipecacuanha sin ayuda de estimuladores hormonales, esto debido al lento crecimiento que presenta de forma general el cultivo [1].

Al llegar los 90 dds, se realizó una evaluación del peso seco obtenido en cada tratamiento evaluado con respecto al testigo (MS). El medio de Bajo Costo (sustitución de sales hidropónicas con Neurobión® y Maicena) mostró el mayor valor de peso seco ($55,82 \pm 1,98$ mg) en comparación al medio MS ($46,30 \pm 1,92$ mg). Se presentó diferencia significativa ($p = 0,0009$) para los tratamientos evaluados, siendo los medios de bajo costo y maicena los de mayor peso seco obtenido (figura 1D). Nuevamente el análisis del frasco como covariable (ANCOVA) no mostró diferencia significativa ($p = 0,2222$).

Las diferencias observadas entre los pesos secos obtenidos pueden haberse visto influenciadas por la presencia de almidones como sustituyentes del gelificante; debido a que la presencia de almidones en el medio tiende a aumentar el peso seco de los explantes [32]. Por lo que las diferencias entre estos medios (Bajo Costo y Maicena) presentaron un peso superior a los observados en el medio con sustitución de sales hidropónicas y el MS (testigo).

Análisis multivariado

Para determinar cuál de las sustituciones de insumos favoreció el mayor crecimiento en los explantes de *P. ipecacuanha*, se realizó un análisis multivariado con el fin de evaluar las interacciones entre variables a los 90 dds. De esta forma el análisis de componentes principales estableció una relación entre los medios con sustitución de sales hidropónicas, los medios con Neurobión® como sustitución de vitaminas y el medio Testigo (MS); los cuales influenciaron la longitud de los brotes y el número de hojas. Por su parte el medio con sustitución de Maicena como agente gelificante ejerció su efecto sobre el número de brotes y el peso seco (figura 2A).

Esta última variable también se vio afectada por el medio de Bajo Costo (sustitución de sales hidropónicas + Neurobión® + Maicena). De los tratamientos evaluados, el medio con sustitución de Tiamina como fuente de vitamina fue el que presentó los rendimientos más bajos. Esto se evidenció al ser el único medio evaluado que no tuvo un efecto positivo en las variables evaluadas.

Al tratar de evidenciar las similitudes entre los tratamientos mediante un estudio de conglomerados, la distancia Euclídea (0,870) mostró gran similitud entre los medios con sustitución de sales minerales, Neurobión® como sustitución de vitaminas y la sustitución de gelificante por maicena con el medio MS (figura 2B). De esta forma el análisis de conglomerados destacó a los medios con sustitución de vitaminas por tiamina como el medio con rendimientos más bajos y el medio de Bajo Costo como el tratamiento de mayores rendimientos (cuadro 2).

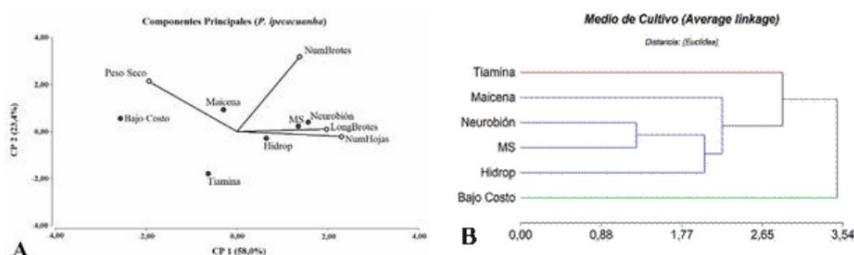


FIGURA 2
Análisis multivariado para el cultivo in vitro de raicilla en diferentes medios con sustitución de insumos a los 90 dds.

(A. Componentes principales;
B. Conglomerados).

Laboratorio de Biotecnología de Plantas, Tecnológico de Costa Rica, 2017

CUADRO 2
Comparación entre las variables de crecimiento para el cultivo in vitro de raicilla en diferentes medios con sustitución de insumos a los 90 dds.

Medio de cultivo *	n	NumBrotos **	LongBrotos ** (mm)	NumHojas **	PesoSeco ** (mg)
Bajo Costo (a)	50	2,94 ± 0,81 (a)	19,98 ± 5,92 (c)	5,68 ± 2,63 (c)	55,82 ± 11,69 (a)
MS (b)	50	3,06 ± 0,92 (a)	24,16 ± 6,99 (b)	11,68 ± 4,90 (a)	46,30 ± 17,71 (c)
Neurobión (c)	50	3,14 ± 0,95 (a)	25,52 ± 7,75 (b)	10,04 ± 4,20 (b)	43,66 ± 11,86 (c)
Hidrop (c)	50	2,94 ± 0,86 (a)	27,74 ± 8,76 (a)	9,62 ± 4,04 (b)	48,98 ± 17,54 (c)
Maicena (d)	50	3,08 ± 0,84 (a)	21,24 ± 5,83 (c)	9,82 ± 3,80 (b)	52,06 ± 14,16 (b)
Tiamina (d)	50	2,29 ± 0,82 (b)	20,78 ± 5,74 (c)	8,98 ± 3,73 (b)	44,58 ± 11,19 (c)

* Entre paréntesis, agrupación según Prueba de Hotelling - Bonferroni (α=0,05).
** Entre paréntesis agrupación según comparación de medias LSD FISHER (α=0,05).

Análisis de costos

La sustitución de componentes del medio de cultivo MS promovió un ahorro significativo en los costos de micropropagación de explantes de raicilla (cuadro 3). Los medios de cultivo que mayor ahorro presentaron

fueron los medios con sustitución de sales hidropónicas y el medio de bajo costo. Los cuales mostraron un ahorro de 54% y 59% respectivamente, en comparación con el costo de preparación del medio testigo (MS). Este ahorro tan significativo se debe a los costos de importación requeridos para la compra de algunas sales minerales importantes en la composición del Medio MS, los cuales pueden tener precios muy elevados o que por su bajo requerimiento en el país solo se importa contra pedido por las casas comerciales que los comercializan en el país.

CUADRO 3

Costo aproximado de la composición base de un litro de diferentes medios con sustitución de insumos para el cultivo in vitro de *P. ipecacuanha* en el Laboratorio de Biotecnología de Plantas,

Medio de cultivo	Costo por Litro de medio (US\$) según componentes				Total (US\$)	Porcentaje de ahorro
	Sales minerales	Vitaminas	Fuente de Carbono	Gelificante		
MS (Testigo)	\$12,01	\$7,43	\$1,69	\$0,86	\$21,99	----
Hidrop	\$ 0,06	\$7,43	\$1,69	\$0,86	\$10,04	54%
Neurobión	\$12,01	\$7,11	\$1,69	\$0,86	\$21,67	1%
Tiamina	\$12,01	\$6,96	\$1,69	\$0,86	\$21,52	2%
Maicena	\$12,01	\$7,43	\$1,69	\$0,15	\$21,28	3%
Bajo Costo	\$ 0,06	\$7,11	\$1,69	\$0,15	\$ 9,01	59%

Tecnológico de Costa Rica, 2017

CONCLUSIONES

Gracias a este estudio, se estableció un sistema de propagación mediante medios con sustitución de insumos, los cuales permitieron la reducción de los costos de producción de medios y por consiguiente los de micropropagación de explantes de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*). De los medios de cultivo evaluados, los medios con sustitución de sales minerales + Neurobión® + maicena como gelificante presentaron el mayor porcentaje de ahorro sin variar significativamente la integridad y calidad de los explantes producidos.

AGRADECIMIENTOS

Un profundo agradecimiento a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica, por el financiamiento del proyecto “Propagación Masiva de Raicilla (*Psychotria ipecacuanha*) mediante Sustitución de Insumos de Bajo Costo” (Centro Funcional 2151065); del cual deriva esta publicación.

REFERENCIAS

- [1] E. Naranjo et al., Avances en la propagación vía embriogénesis somática de *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, planta medicinal en peligro crítico, Biotecnología Colombiana, Vol.16, No1, pp. 86–92, 2014.
- [2] LF. Oliveira and ER. Martins, A quantitative assessment of genetic erosion in ipecac (*Psychotria ipecacuanha*), Genetic Resources and Crop Evolution, Vol.49, pp. 607–617, 2002.
- [3] Alves-García et al., Variation in emetine and cephaeline contents in roots of wild Ipecac (*Psychotria ipecacuanha*). Biochemical Systematics and Ecology, Vol.33, pp. 233–243, 2005.
- [4] N. Albany et al., Una metodología para la propagación in vitro de Aloe vera L., Revista de la Facultad de Agronomía (Caracas), Vol. 23, No.2 pp 213–222, 2006.

- [5] K. Yoshimatsu and K. Shimomura, *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard (*Brazilian Ipecac*): Micropropagation and the Production of Emetine and Cephaeline, In: Y.P.S. Bajaj (ed), *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Medicinal and Aromatic Plants*, SpringerVerlag, Berlin Heidelberg, Vol.21, pp. 87–103, 1993.
- [6] A. Lara et al., Micropropagación de la planta medicinal *Psychotria acuminata*, *Agronomía Costarricense*, Vol.27, No.2, pp. 7–20, 2003.
- [7] C. Botero et al., Potencial de regeneración de *Psychotria ipecacuana* (*Rubiaceae*) a partir de capas delgadas de células, *Acta Biológica Colombiana*, Vol.20, No.3, pp. 181–192, 2015.
- [8] I. Koike et al., Dynamics of Endogenous Indole-3-acetic Acid and Cytokinins During Adventitious Shoot Formation in Ipecac, *J Plant Growth Regul*, Vol.36, pp. 805–813, 2017.
- [9] T. Murashige and F. Skoog, A Revised Medium for Rapid Growth and BioAssays with Tobacco Tissue Cultures, *Physiologia Plantarum*, Vol.15, No.3, pp. 473–497, 1962.
- [10] V. Savangikar, Low cost options for tissue culture technology in developing countries: Physical components of tissue culture technology, IAEA, Vienna, Austria, pp. 17–28, 2004.
- [11] N. Daud et al., Provision of low cost media options for in vitro culture of *Celosia* sp., *African Journal of Biotechnology*, Vol.10, No.80, pp. 18349–18355, 2011.
- [12] G. Romay et al., Almidón modificado de yuca con sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales, *Interciencia*, Vol.31, No.9, pp. 686–689, 2006.
- [13] S. Prakash et al., Low cost options for tissue culture technology in developing countries: Culture media and containers. IAEA, Vienna, Austria, pp. 29–40, 2004.
- [14] N. Daud et al., Potential of alternative gelling agents in media for the *in vitro* micro-propagation of *Celosia* sp., *Internacional Journal of Botany*, Vol.7, No.2, pp. 183–188, 2011.
- [15] F. Maliro and G. Lameck, Potential of cassava flour as a gelling agent in media for plant tissue cultures, *African Journal of Biotechnology*, Vol.3, No.4, pp. 244–247, 2004.
- [16] R. Romero et al., Uso de complejos comerciales como sustitutos de componentes del medio de cultivo en la propagación in vitro de *Laelia anceps*. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, Vol.7, No.2, pp. 353–356, 2007.
- [17] A. Azofeifa et al., Uso de abonos foliares comerciales en la elaboración de medios de cultivo, *Agronomía Costarricense*, Vol.32, No.2, pp. 149–160, 2008.
- [18] E. Mbanaso, Effect of multiple subcultures on *Musa* shoots derived from cassava starch-gelled multiplication medium during micropropagation, *African Journal of Biotechnology*, Vol.7, No.24, pp. 4491–4494, 2008.
- [19] D. Martín et al., Sustancias utilizadas como agentes gelificantes alternativas al agar en medios de cultivo para propagación *in vitro*. *Investigación Agraria y ambiental*, Vol.3, No.2, pp. 49–62, 2012.
- [20] D. Martín et al., Almidón de papa, agente gelificante alternativo en medios de cultivo para propagación *in-vitro* de *lulo Solanum quitoense Lam.*, *Revista de Ciencias Agrícolas*, Vol.30, pp. 3–11, 2013.
- [21] R. Sosa et al., Propagación in vitro de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) en medio de cultivo suplementado con fertilizantes convencionales, *Avances en la Investigación Agropecuaria*, Vol.21, No.2, pp. 7–24, 2017.
- [22] A. Kodym and F. Zapata, Low-cost alternatives for the micropropagation of banana, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol.66, pp. 67–71, 2001.
- [23] JA. Di Rienzo et al., *InfoStat versión 2017*, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 2017.
- [24] H. Prieto et al., *Biotecnología Vegetal: El Cultivo de Tejidos*, 1er edición. L. Barrueto, Santiago, Chile, INIA, pp. 31–53, 2005.
- [25] P. Abrahamian and A. Kantharajah, Effect of vitamins on in vitro organogenesis of plant, *Scientific Research*, Vol.2, pp. 669–674, 2011.
- [26] T. Thorpe et al., The Components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems, In: *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd edition, Aberystwyth, Wales, Springer, Dordrecht, pp. 115–173, 2008.

- [27] MJ. Cañal et al., Fisiología del cultivo *in vitro*, Biotecnología vegetal, Vol.1, pp. 3–9, 2001.
- [28] F. Jiménez and D. Agramonte, Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales, Biotecnología vegetal, Vol.13, pp. 3–21, 2014.
- [29] A. Rodríguez, Organogénesis *in vitro* de raicilla (*Psychotria ipecacuanha*) con sustitución de insumos, Tesis Licenciatura, San Carlos, Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, pp. 91, 2005.
- [30] C. Ramage y R. Williams, Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, Vol.38, pp. 116–124, 2002.
- [31] G. Mota et al., Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio no desenvolvimento e enraizamento *in vitro* de *Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae, In: Seminário de iniciação científica da Embrapa, Brasil, Belém, Embrapa Amazônia Oriental, 2010.
- [32] M. Mohamed et al., Corn and potato starch as an agar alternative for *Solanum tuberosum* micropropagation, *African Journal of Biotechnology*, Vol.9, pp. 12–16, 2010.