

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

**Evaluación de la capacidad germinativa y obtención de plantas *in vitro* de
*Moringa oleifera L.***

Prestador de Servicio Social:

Oscar Castro Reséndiz

Matrícula: 2143074866

Asesor interno: Dorys Primavera Orea Coria

Núm. Económico: 16435

Asesor externo: Carlos Román Castillo Martínez

Cédula. Profesional: 2162857

Lugar y periodo de realización: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) CENID-COMEF, ubicado en Av. Progreso 96, Santa Catarina, Ciudad de México, C.P. 04010.

Del 18 de Diciembre de 2017 a 18 de Junio de 2018.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
MARCO TEÓRICO	5
<i>Moringa oleifera L.</i>	5
Ecología	5
Descripción	5
Capacidad germinativa	6
Propagación <i>in vitro</i>	7
Reguladores de crecimiento	8
Biorreactores y el Sistema de Inmersión Temporal (SIT)	8
OBJETIVOS	8
MÉTODOS	9
Ensayos de capacidad germinativa	9
Sistema de Inmersión Temporal (SIT)	11
ACTIVIDADES REALIZADAS	12
OBJETIVOS Y METAS ALCANZADOS	12
RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	13
RECOMENDACIONES	17
BIBLIOGRAFÍA	18

RESUMEN

Moringa oleifera L. es considerada una planta multipropósito debido a sus muchas potencialidades, pues posee extraordinarias cualidades nutricionales que funcionan como un complemento perfecto para la alimentación humana y animal, de igual forma es utilizada como abono verde, fuente de hormonas y celulosa. A pesar de que su cultivo está en auge, aún sigue siendo una especie subutilizada en su lugar de origen y en el resto del mundo, es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad germinativa y obtener plantas *in vitro* de *Moringa oleifera* L. a partir de segmentos nodales en dos modalidades de cultivo: medios semisólidos y el uso de biorreactores de inmersión temporal y de esta manera, asegurar el mantenimiento de germoplasma y su rápida propagación.

De los ensayos que se realizaron de capacidad germinativa, el mejor método fue donde se utilizó papel absorbente pues se obtuvo un 95.5% de germinación de semillas siendo este un buen porcentaje. Durante la propagación *in vitro* el número promedio de brotes a los 30 días después de su establecimiento fue de 1.3, la longitud promedio de 4.14 cm. A sí mismo el mejor tratamiento fue el medio con 0.89 μ M de BAP para ambos casos. Por último, se monitorearon y cuantificaron durante 30 días los explantes establecidos en el Sistema de Inmersión Temporal dando como resultado un coeficiente de multiplicación de 3.2, respecto a los explantes introducidos.

INTRODUCCIÓN

Moringa es un árbol multipropósito reconocido en todo el mundo por sus propiedades alimenticias y medicinales, es el único género de la familia Moringaceae, el cual comprende 13 especies. Es nativa de las zonas sub-Himalaya de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán y actualmente se encuentra naturalizada en más de setenta países de las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Pérez *et al.*, 2010). Su cultivo está en auge por toda América, llegando hasta los estados de California, Arizona, el sur de la Florida, las Islas del Caribe y América del Sur, desde México a Perú, Paraguay y Brasil. Tiene gran variedad de nombres vernáculos, se le conoce como Paraíso francés, Acacia, West Indian ben, Marango, Tilo francés y Tilo americano; uno de los más utilizados en español es el nombre de Moringa (Falasca & Bernabé, 2008).

Sus principales usos son como forrajera debido a sus buenas características nutricionales y a su alto rendimiento en producción de biomasa fresca. Se le puede emplear como ornamental, abono verde, postes vivos en la ganadería o cortina rompevientos. Es fuente de materia prima de celulosa, de hormonas reguladoras del crecimiento vegetal, y ayuda a la purificación de agua por sus coagulantes naturales, en su lugar de origen es utilizada para contrarrestar la desnutrición de los niños y como alimento humano en general (Martín *et al.*, 2013). También evita la erosión del suelo, es resistente a las sequías y los vientos fuertes y permite los cultivos intercalados porque da poca sombra y escasas raíces laterales (Pérez *et al.*, 2010).

A pesar de que su cultivo está en auge, aún sigue siendo una especie subutilizada en su lugar de origen y en el resto del mundo, es por ello que el presente trabajo realizado durante mi estancia de servicio social en el INIFAP-Viveros Coyoacán, tuvo como objetivo evaluar la capacidad germinativa y la obtención de plantas *in vitro* de *Moringa oleifera* L. a partir de segmentos nodales y el uso de biorreactores de inmersión temporal y de esta manera, asegurar el mantenimiento de germoplasma y su rápida propagación.

MARCO TEÓRICO

Moringa oleifera L.

Ecología

En su hábitat natural crece hasta los 1,400 m de altitud, en suelos aluvionales arenosos o guijosos, es muy resistente a la sequía y tolera una precipitación anual de 300 a 1,500 mm, además crece en un rango de pH de suelo entre 4,5 y 8 en la mayoría de los suelos, exceptuando suelos donde las arcillas son pesadas, y prefiriendo los suelos neutros o ligeramente ácidos, logra soportar temperaturas mínimas entre -1° y 3°C y máximas de 38° a 48°C.

En Centroamérica se localiza desde el nivel del mar hasta los 1, 800 m de altitud, en zonas con temperaturas de 6° a 38° C. En temperaturas menores a los 14° C no florece y solamente se puede reproducir por estacas.

Es una especie de crecimiento rápido, aporta una gran cantidad de nutrientes a los suelos, además de protegerlo de factores como la erosión y las altas temperaturas (Pérez *et al.*, 2010).

Distribución

Moringa oleifera L. es originaria del Himalaya y es nativa de India, Pakistán, Bangladesh y Afganistán. Su distribución se ha extendido al Sureste Asiático, Asia Occidental, la Península Arábiga, África Oriental y Occidental e islas en los océanos Índico y Pacífico. En América se encuentra desde el sur de Florida (EE. UU.), hasta Argentina, en las islas del Caribe y las Indias Occidentales (Velázquez *et al.*, 2016).

En México la encontramos abundantemente en los pueblos de toda la costa del Pacífico desde el sur de Sonora hasta Chiapas, incluyendo el sur de la península de Baja California (Olson y Fahey, 2011).

Descripción

Forma. Se trata de un árbol perenne poco longevo, que puede vivir 20 años y crecer desde los 7 m hasta los 12 m de altura y de 20-40 cm de diámetro (Rober y Jaime, 2017).

Copa / Hojas. Copa abierta tipo paraguas y fuste generalmente recto. Las hojas son color verde claro, compuestas, tripinnadas, con una longitud de 30-70 cm y

están dispuestas en grupos de folíolos con cinco pares de éstos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal, los folíolos son delgados, oblongos u ovalados de 1 a 2 cm de largo por 0,6 a 0,3 cm de ancho (Villarreal *et al.*, 2016; Jeffrey, *s.f.*).

Tronco / Ramas / Corteza. Tronco leñoso y recto con diámetro de 20-40 cm. Tiene ramas colgantes quebradizas con corteza suberosa y blanquecina (García *et al.*, 2016).

Flores. Las flores son perfumadas, bisexuales con pétalos de color blanco o blanco crema, de 2,5 cm de diámetro y estambres amarillos (Pérez *et al.*, 2010).

Fruto. Fruto capsular, lineal, 3-angular, pendular de color pardo, con surcos longitudinales de 20 a 45 cm de largo y de 2 a 2.5 cm de ancho que dan apariencia de vaina. Cada fruto contiene de 12 a 25 semillas (Falasca y Bernabé, 2008).

Semillas. Semillas canosas, globulares de 1 cm de diámetro, de color pardo oscuro, cubiertas por una cáscara fina, poseen tres alas (Falasca y Bernabé, 2008).

Raíz. Es pivotante, engrosada, ramificada y globosa lo que le brinda a la planta cierta resistencia a la sequía en periodos prolongados. La raíz principal mide varios metros y es carnosa en forma de rábano (Casanova *et al.*, 2018)

Capacidad germinativa

Para las pruebas de capacidad germinativa es recomendable utilizar semilla de buena calidad, libre de enfermedades y de impurezas, para el caso en específico de moringa se recomienda utilizar semilla que, como máximo esté almacenada durante 2 meses, puesto que algunos autores mencionan que si se excede este periodo se reduce su porcentaje de germinación (Pérez *et al.*, 2010).

“El Poder Germinativo (%PG): es el porcentaje de semillas que germinó y desarrolla una plántula normal cuando se coloca en condiciones ambientales óptimas para su crecimiento. En cada especie se ha determinado el tiempo y las condiciones ambientales óptimas para llevar a cabo los análisis (INASE, ISTA). En algunas especies se utiliza como sustrato papel mientras que en otras se hace sobre arena” (Lallana *et al.*, 2011). Las pruebas de germinación nos dan una idea de la cantidad de semillas que podría producir una planta en el campo (Borrajo, 2006).

Propagación *in vitro*

La propagación *in vitro* es un heterogéneo grupo de técnicas mediante las cuales se manipula material vegetal del cual pueden proliferar y dar origen diferentes sistemas de tejidos, desde estructuras no organizadas (callos) hasta estructuras con diferentes tipos y grados de morfogénesis y organogénesis (plantas completas, embriones somáticos, brotes adventicios, etc.) el material vegetal se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (Valera y Garay, s.f.; Mroginski y Roca, 1991).

La micropropagación o propagación clonal, tienen como fundamento la totipotencia celular, es decir, la capacidad de cada célula de contener en su genoma la información genética necesaria que, en condiciones adecuadas, puede originar y desarrollar a una planta completa, esto a través de un fragmento (explante) de una planta madre, de las cuales se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. El explante más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas vegetativas de las plantas (Valera y Garay, s.f.). Las plantas se colocan en frascos, dentro de la cámara de crecimiento y se ubican en estantes con luz artificial, donde se fija una temperatura entre los 21 y 23°C, además de controlar la cantidad de horas de luz; el medio de cultivo se compone de una mezcla de sales minerales, reguladores de crecimiento, azúcar, agua y agar (Castillo, 2004).

Entre las ventajas del cultivo *in vitro*, se pueden incluir la rápida la obtención de una gran cantidad de individuos uniformes en espacios reducidos, la facilidad para controlar las condiciones ambientales y por lo tanto evitar el riesgo de contaminación con patógenos (Segretín, 2006).

En los protocolos utilizados durante el cultivo *in vitro* se pueden distinguir las siguientes etapas:

- 1) Selección y preparación de la planta madre y/o tejido donante de explantes.
- 2) Establecimiento, que consiste en la desinfección de las yemas de la planta (explantes) y/o desinfección de semillas (generalmente con hipoclorito de sodio).
- 3) Introducción del material *in vitro* y su posterior adaptación al medio artificial a modo de inducir callo, brote, raíz o embrión somático según se desee.
- 3) Multiplicación de los brotes, para generar una masa vegetal suficiente para la regeneración del número de plantas necesarias.

4) Enraizamiento, en el que se busca la formación de raíces con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas.

5) Rusticación, que es la aclimatación de las plántulas obtenidas *in vitro* a las condiciones ambientales *ex vitro* (suelo o algún sustrato inerte), (Castillo, 2004; Segretín, 2006).

Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento se dividen en auxinas, citocinas, giberelinas, ácido abscísico y retardantes e inhibidores del crecimiento; pueden ser naturales y sintéticos. Participan en la regulación de múltiples procesos fisiológicos como el enraizamiento, la germinación de semillas, la tolerancia a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico, entre otros. Estos son responsables de los patrones de expresión génica de diversos eventos de crecimiento y desarrollo (Cruz *et al.*, 2008).

Biorreactores y el Sistema de Inmersión Temporal (SIT)

El Sistema de Inmersión Temporal (SIT) constituye una alternativa en la micropropagación de plantas, mejora la eficiencia del proceso de propagación *in vitro* en distintas especies, aumenta las tasas de multiplicación, mejora el porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia de las plantas en la etapa de aclimatación, también aumenta los niveles de mecanización de algunas etapas de la micropropagación y reduce en el uso de la mano de obra y los costos por planta final (Santos *et al.*, 2011).

Las ventajas de mantener un cultivo en un SIT incluye tres aspectos: un mayor contacto entre la biomasa vegetal y el medio, la inexistencia de restricciones en el intercambio gaseoso y la posibilidad de controlar la composición del medio así como la de la atmósfera dentro del biorreactor. Estas características se reflejan en mayores tasas de multiplicación y en un mejor desarrollo de los explantes (Cruzat, 2009).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el proceso de propagación *in vitro* de Moringa (*Moringa oleifera* L.)

Objetivos Específicos.

- Evaluar la calidad fisiológica de las semillas de *Moringa oleifera L* por medio de ensayos de germinación.
- Multiplicar en medios semisólidos *Moringa oleifera L*.
- Evaluar el procedimiento de micropropagación por inmersión temporal de *Moringa oleifera L*.

METAS

- Conocer los procedimientos para la propagación de plantas *in vitro* y aprovechar las herramientas brindadas en el laboratorio de biotecnología.
- Adquirir experiencia en el ambiente laboral para mi desarrollo social, personal y de trabajo.
- Aplicar mis conocimientos adquiridos en la universidad y así mismo reforzarlos generando nuevas experiencias.

MÉTODOS

Ensayos de capacidad germinativa

Desinfección de las semillas

Se utilizaron semillas de diversos árboles de Moringa, sanos y uniformes, cosechados en noviembre de 2017 en el estado de Chihuahua y almacenadas durante mes y medio. Las semillas fueron desinfectadas dentro de la campana de flujo laminar, donde se lavaron con jabón comercial y enjuagadas con agua potable, este proceso se repitió 4 veces con el objetivo de eliminar impurezas y algunos patógenos, posteriormente se realizó una inmersión en una solución de etanol al 70% durante 5 minutos, luego se transfirieron a una solución comercial de cloro en una concentración al 20% durante 15 min en agitación constante (90 r.p.m.). Una vez finalizado el proceso de desinfección las semillas se enjuagaron en agua estéril 4 veces.

Las semillas se inbibieron durante 24 horas en agua destilada en agitación constante (90 r.p.m.), y se colocaron en cuatro cajas especiales de plástico con tapa de cierre por fricción. Este método se aplicó para todos los ensayos.

Ensayo de capacidad germinativa en papel absorbente

El método utilizado para las pruebas de germinación es el propuesto por el ISTA (2004).

Las pruebas se recomiendan llevarlas a cabo en intervalos de 3 a 6 meses durante el almacenamiento, en este caso se realizó aproximadamente a los 2 meses de su almacenamiento.

Se colocaron 400 semillas en cajas especiales de plástico distribuidas en cuatro repeticiones, sobre papel filtro humedecido con agua potable. Se mantuvieron en oscuridad a 28°C por 30 días, cada tercer día se contabilizaron y se registraron el número de semillas germinadas por réplica.

Por último se obtuvo el porcentaje de germinación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de germinación} = \frac{\text{Núm. de semillas germinadas}}{\text{Núm. De semillas sembradas}} \times 100$$

Ensayo de capacidad germinativa en sustratos.

Simultáneamente a la pruebas de germinación en papel absorbente se llevaron a cabo pruebas de germinación en sustrato a temperatura ambiente.

El sustrato utilizado fue una combinación de 40% Perlita y 60% Peat moss, el cual fue esterilizado en la autoclave a 121°C grados durante 15 min, una vez que se esterilizó y se desinfectaron las semillas, se procedió a sembrar 400 semillas distribuidas en cuatro repeticiones en domos plásticos con 100 semillas cada uno. Se regaron cada tercer día durante las mañanas con una mezcla de agua destilada y 3 gr/ L de captan, durante todo el proceso de germinación, asimismo se realizó un conteo de las semilla. De igual manera se obtuvo el porcentaje de germinación utilizando la fórmula antes mencionada y se comparó.

Preparación de medios semisólidos utilizados para la propagación de yemas.

Se prepararon 4 diferentes medios de cultivo con sales Murashige y Skoog (MS) al 100%, adicionados con un regulador de crecimiento para promover la formación de brotes, 6-Bencil aminopurina (BAP), a concentraciones Alta (1.33 µM), Media (0.89 µM), Baja (0.44 µM) y un testigo con (0.0 µM), para todos los medios utilizados el pH se ajustó a 5.7, se les agregó 30 g/L⁻¹ de sacarosa y se solidificó con agar al 0.7%, posteriormente a cada tubo de ensayo se le

añadieron 10 ml del medio y finalmente se esterilizó a 121° C durante 15 min, El experimento contó con 30 repeticiones por tratamiento.

Desinfección y establecimiento para la propagación de yemas (explantes) de Moringa

Las yemas que se utilizaron para la propagación fueron tomadas de las plantas obtenidas en los ensayos de germinación. Se realizó una selección de las yemas más vigorosas y estas fueron lavadas con jabón comercial enjuagadas con agua corriente, este proceso se realizó alrededor de 4 veces.

Los explantes fueron sumergidos en una solución de alcohol al 70% durante un minuto. A continuación fueron remojadas en una mezcla de agua y cloro al 20% y Tween a razón de 1.0 ml/L durante 20 minutos y se realizaron 3 enjugues con agua estéril.

Una vez terminado el proceso de desinfección cada segmento nodal se estableció con ayuda de bisturí y pinzas en los tubos de ensayo con medios de cultivo a diferentes concentraciones (0.44, 0.89 y 1.33 μM) de 6-Bencil aminopurina (BAP) y el testigo con (0.0 μM) de 6-Bencil aminopurina (BAP), por un total de 30 repeticiones por tratamiento.

Se evaluó el crecimiento del ensayo durante 30 días y se realizó una comparación de las variables, de número y longitud de brotes.

Sistema de Inmersión Temporal (SIT)

El SIT utilizado en este experimento fue un modelo (RITA), el cual cuenta con 2 recipientes de plástico duro con tapas con sello hermético y 2 filtros de aire, uno de los recipientes contenía las yemas axilares y el otro funcionó como reservorio de medio de cultivo, ambos se encontraban conectados por mangueras y el medio de cultivo fue agregado de acuerdo a un sistema eléctrico construido con una pequeña bomba y un temporizador programable que se activó cada 30 min.

1. A uno de los recipientes se le colocó un total de 30 brotes de yemas axilares, obtenidas de los ensayos de propagación, se agregaron 800 ml de medio de cultivo con 0.89 μM de BAP.
2. Las inmersiones se programaron para realizarse cada 30 min.

3. Al final del experimento se obtuvo coeficiente de multiplicación de los brotes de yemas axilares, este último se determinó por el número de brotes finales sobre el número de brotes iniciales.



Figura 1. Sistema de Inmersión Temporal de *Moringa oleifera* L.

ACTIVIDADES REALIZADAS

1. Análisis de la capacidad germinativa y propagación *in vitro* de *Moringa oleifera*.
2. Evaluación de protocolos de propagación y de la capacidad germinativa.
3. Multiplicación asexual *in vitro* con ensayos de medios de cultivo con reguladores de crecimiento.
4. Ensayos y evaluación de protocolos de micropropagación por inmersión temporal de *Moringa oleifera*.
5. Evaluación de la tasa de multiplicación y escalonamiento masivo.

OBJETIVOS Y METAS ALCANZADOS

- Conocí los procesos técnicos de propagación *in vitro* de *Moringa oleifera* L. en el laboratorio de biotecnología forestal.
- Se logró multiplicar *Moringa oleifera* L. de forma *in vitro*
- Evalué satisfactoriamente la calidad fisiológica de las semillas de *Moringa oleifera* L.
- Adquirí experiencia en el ambiente laboral para mi desarrollo social, personal y de trabajo y al mismo tiempo reforcé mis conocimientos.

RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los ensayos de germinación:



Figura 2 (A, B). A. Ensayo de capacidad germinativa en papel absorbente. B. Germinación de Moringa a los 7 días.

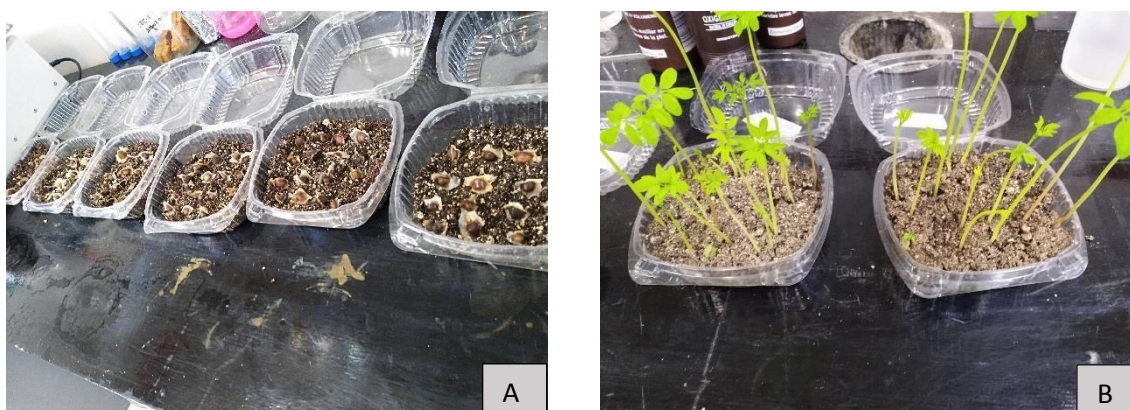


Figura 3 (A, B). A. Ensayo de capacidad germinativa en sustratos. B. Germinación de moringa a los 30 días.

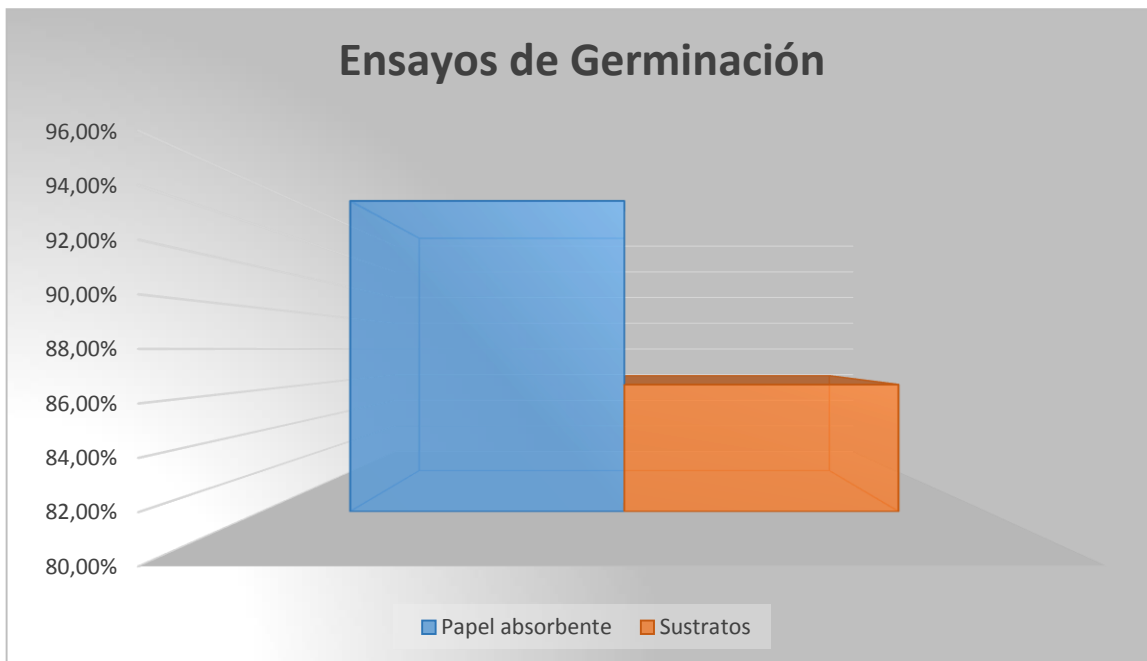


Figura 4. Comparación de los ensayos de capacidad germinativa.

En la figura 5 se muestra que para el ensayo que se llevó a cabo utilizando únicamente papel absorbente el porcentaje de germinación fue de 95.25 %, para el ensayo que se realizó en sustratos, el porcentaje de germinación fue de 86.25%. A pesar de que se presentó una diferencia en los valores de germinación entre ambos ensayos, el porcentaje de germinación sigue siendo alto, esto podemos referenciarlo a algunos autores como Pérez *et al.* (2010), que mencionan que *Moringa oleifera* disminuye su potencial de germinación o la viabilidad después de los dos meses de almacenamiento, puesto que nuestra semilla apenas alcanzaba este periodo de almacenamiento, sus valores de germinación fueron altos. De igual forma los porcentajes de germinación observados en el presente estudio son superiores a los reportados por Barraza, (2017) de 54, 37 y 28 % de germinación en semillas de moringa con 24, 48 y 72 horas de remojo y similares a los reportados por Candelaria et al. (2019) donde reportaron un rango de germinación de 80, 78.4 y 73.5 % para el tratamiento de remojo en agua potable, control y fisura de la testa.

En el caso del ensayo para la propagación *in vitro* en medio semisólido de explantes de Moringa se encontró que el número promedio de brotes axilares formadas fue de 1.3 y la altura promedio fue de 4.14 cm para 6-Bencil aminopurina (BAP) en una concentración de 0.89 μM la cual favorece la

formación de yemas y de esta forma estableciéndose como el mejor tratamiento, estos datos fueron tomados a los 30 días después del establecimiento.



Figura 5 (A,B,C,D). A. Obtención de explantes de Moringa para su propagación. B. Establecimiento de yemas de *Moringa oleifera* L. C, D. Evaluación de los brotes de Moringa a los 30 días después de su establecimiento.

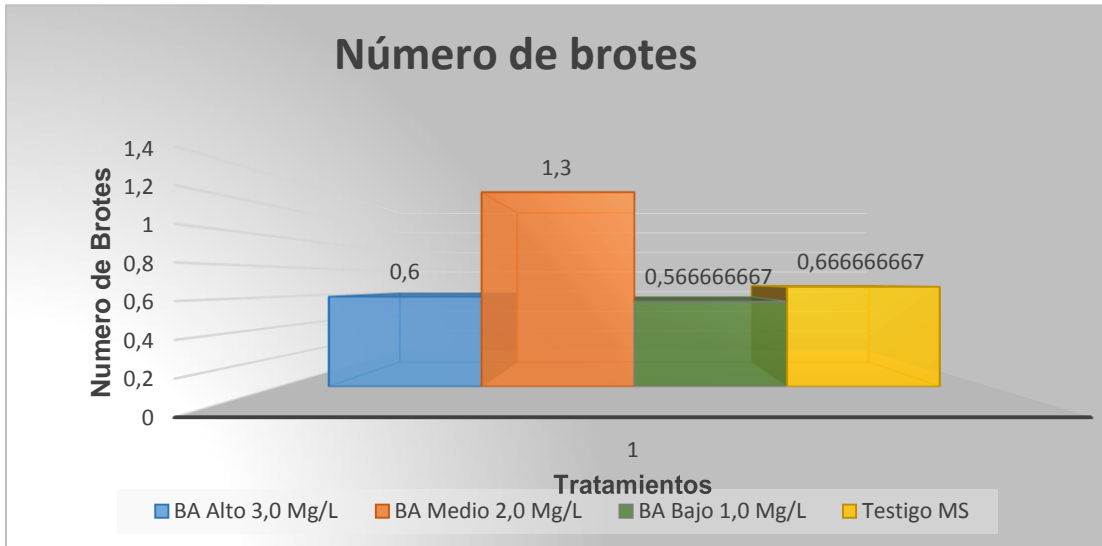


Figura 6. Comparación de tratamientos para la obtención de brotes.

Al comparar los resultados anteriores con el testigo (0.0 μM de BAP) se encontró que este fue el segundo tratamiento con mejores resultados para esta investigación tanto en el número promedio de brotes axilares formadas que fue 0.666, como en el promedio de altura de yemas el cual fue 3.86 cm

La concentración 0.89 μM de 6-BAP seleccionada, es menor a la reportada por los autores Agramonte et al. (2004) que utilizaron 0.44, 2.22, 4.44, 6.66 μM de 6-BAP para la inducción de brotes dándoles como resultado un promedio brotes de 3.12, de igual forma a la referida por otros autores como, Stepheson y Fahey (2004) que utilizaron 4.44 μM de 6-BAP para la inducción de brotes.

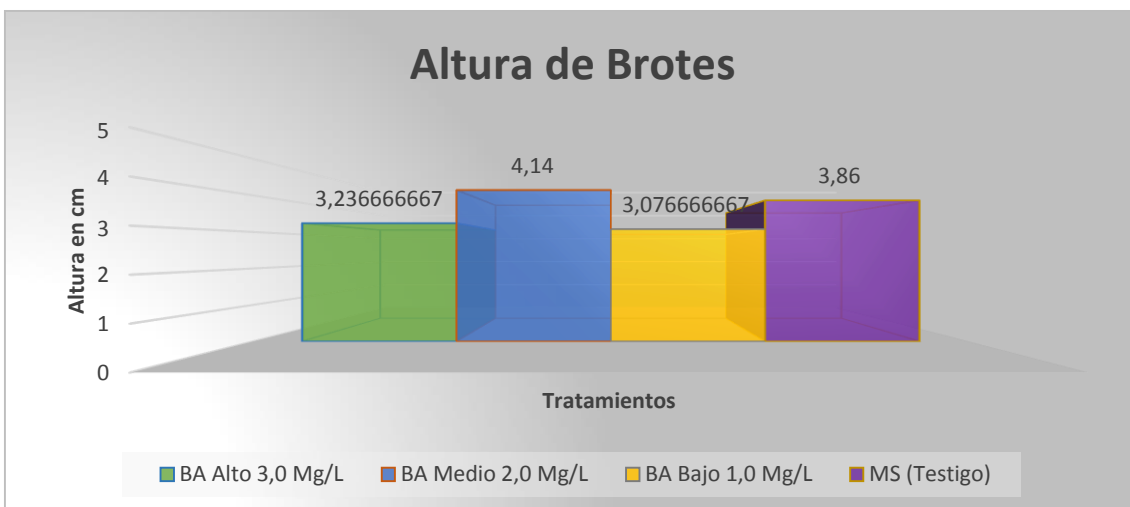


Figura 7. Comparación de tratamientos en la obtención de altura de brotes

En el Sistema de inmersión temporal a los 30 días se observó nula contaminación por hongos y bacterias, así como, un cambio en la longitud de los explantes y la aparición de los primeros brotes. De igual forma el coeficiente de multiplicación obtenido fue de 3.2 respecto a los explantes introducidos.

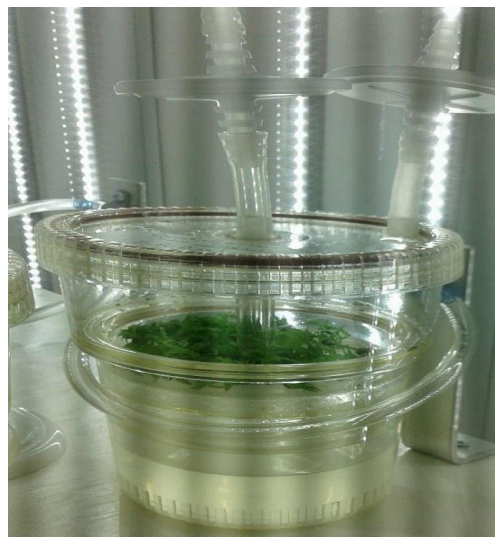


Figura 8 (A, B). A. Explantes de Moringa en el Sistema de inmersión temporal primer día.
B. Explantes de moringa en el Sistema de inmersión temporal a los 30 días.

Como conclusión de este trabajo, se pudo verificar que el porcentaje de germinación es alto en ambos ensayos, así mismo se demostró que es posible la propagación a partir de yemas y de igual manera se demostró que las concentraciones de 6-BAP tuvieron un efecto positivo para el establecimiento y propagación de esta especie, lo cual permitirá la introducción de *Moringa oleifera* L. en países donde se desee conservar y explotar estratégicamente.

RECOMENDACIONES

1. Difundir la importancia de la conservación y propagación *in vitro* de *Moringa oleifera* L.
2. Implementar prácticas adecuadas de explotación de la especie, ya que esta tiene gran importancia en la actualidad y por la importancia que pueda tener en un futuro.

3. Realizar más ensayos con diferentes medios y concentraciones con el fin de obtener más experiencia e información sobre la propagación in vitro de *Moringa oleífera* L.

BIBLIOGRAFÍA

Agramonte, D., Pons, M., Pérez, M., la O, M., García, L., Freire, M., & Jiménez, F. (2014). *Obtención de plantas in vitro de Moringa oleífera Lam. var. 'PKM criolla' a partir de segmentos nodales. Biotecnología Vegetal, 14(4)*. Recuperado de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/85/455>

Barraza, F. A. (2017). Germinación de semillas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) en diferentes tiempos de imbibición en agua. *Revista U.D.C.A Actualidad &Divulgación Científica, 20(1): 71-77*. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262017000100009&script=sci_abstract&tlng=es

Borrajo, C. (2006). *Importancia de la calidad de semillas*. Curso Internacional de Ganadería Bovina Subtropical Importancia de la Calidad de Semillas. PP.4. Recuperado de http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_megatermicas/79-semilla.pdf

Candelaria, B., Vera, J., Chiquini, R., Flota, C. (2019). Germinación de semillas de *Moringa oleifera* sometidas a dos tratamientos de escarificación. *REVISTA BIO CIENCIAS* Recuperado de <http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/407>

Casanova, F., Cetzal W., Díaz. F., Chay A., Oros I., Piñeiro, A., González N. (2018). *Moringa oleífera Lam. (Moringaceae): Árbol Exótico Con Gran Potencial Para La Ganadería Ecológica En El Trópico*. *Agroproductividad, Vol. 11, p100-105*. Recuperado de <https://www.cabi.org/ISC/FullTextPDF/2019/20193038751.pdf>

Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Unidad de Biotecnología, INIA Las

Brujas Recuperado de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>

Cruz, M., Melgarejo, L. y Romero, M. (2008). *Fitohormonas*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de http://www.bdigital.unal.edu.co/8545/9/05_Cap03.pdf

Cruzat R. (2009). *Resultados y Lecciones en Sistema de Inmersión Temporal en Especies Anuales, Frutales y Vides*. Fundación para la innovación agraria. pp. 8-9. Recuperado de https://www.opia.cl/static/website/601/articles-75552_archivo_01.pdf

Falasca, S. y Bernabé, M. (2008). *Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de Moringa oleifera en Argentina*. Revista virtual de Redesma. PP. 1-2. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/1ae0/b755b03fe699b7f11c2b44a920cec97c57b7.pdf>

García, Q., Indira, I., Mora, J., Estrada, J. y Piñeros, R. (2017). *Cuál es el efecto de la Moringa oleifera sobre la dinámica ruminal? Revisión sistemática*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 28(1), 43-55. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i1.11675>

International Seed Testing Association (ISTA). (2004). *International Rules for Seed Testing*. Zurich, Switzerland. 243 p.

Jeffrey, L. (Sin fecha). *Variación genética en árboles forrajeros*. Agroforestería para la producción animal en América Latina. Recuperado de <http://www.fao.org/3/x1213s/x1213s08.pdf>

Lallana, V., Garcia, L. y Elizalde, J. (2011). *Germinación Parte 2*, Cátedra de FISILOGIA VEGETAL, PP. 5. Recuperado de [http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV_2010/mat_did/UT_FV11\(2da%20Parte\).pdf](http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV_2010/mat_did/UT_FV11(2da%20Parte).pdf)

Martín, C., Martín, G., García, A., Fernández, T., Hernández, E. y Jürgen, P. (2013). *Potenciales aplicaciones de Moringa oleifera. Una revisión crítica*. Pastos y Forrajes, 36(2), 137-149. Recuperado de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000200001&lng=es&tlng=es.

Mroginski, L. y Roca, W. (1991). *Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro*. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia. Publicación CIAT no. 151 Recuperado de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo2.pdf>

Olson, M. & Fahey, J. (2011). *Moringa oleifera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas*. *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(4), 1071-1082. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000400001&lng=es&tlng=es.

Pérez, A., Sánchez, T., Armengol, N. y Reyes, F. (2010). *Características y potencialidades de Moringa oleifera, Lamark: Una alternativa para la alimentación animal*. *Pastos y Forrajes*, 33(4), Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000400001&lng=es&tlng=es.

Rober, M. & Jaime, G. (2017). *Características físicas, capacidad de germinación y crecimiento en vivero de la Moringa oleifera Lam, bajo cuatro sustratos en el Municipio de Turbo*. ECAPMA, PP. 21. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/143468298.pdf>

Santos, A., Cabrera, M., Gómez, R., López, J., Rayas, A., Basail, M., Medero, V. & Beovides, Y. (2011). *Multiplicación en sistema de inmersión temporal del clon de malanga "Viequera" (Xanthosoma spp.)*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(2), 97-106. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/27954/38325>

Segretín, M. (2006). *Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales)*. INGEBI-CONICET Recuperado de <http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%20II%20Euge.pdf>

Stephenson, K. y Fahey J. (2004) Development of tissue culture methods for the rescue and propagation of endangered *Moringa* spp. germplasm. *Biotecnología Vegetal* Vol. 15 Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/225422611_Development_of_Tissue_Culture_Methods_for_the_Rescue_and_Propagation_of_Endangered_Moringa_Spp_Germplasm

Valera, L., y Garay, B. (s.f.). *Producción vegetal y establecimiento de plantaciones. Propagación asexual de plantas*. PP.5. Recuperado de <http://www.ula.ve/cienciasforestalesambientales/indefor/wp-content/uploads/sites/9/2017/01/Tema-3-PVEP.pdf>

Velázquez, M., Peón, I., Zepeda, R. y Jiménez, M. (2016). *Moringa (Moringa oleífera Lam.): usos potenciales en la agricultura, industria y medicina. Revista Chapingo. Serie horticultura*, 22(2), 95-116. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.07.018>

Villarreal, J., Rivera, U., Foroughbakhch, R., Cárdenas, L., Moreno, S. y González, M. (2016). *Tratamiento Con Fertilizante Para Mayor Crecimiento y Desarrollo en Moringa (Moringa oleífera Lam.)*. UANL. PP. 1. Recuperado de http://congresos.cio.mx/memorias_congreso_mujer/archivos/extensos/sesion5/S5-BCA06.pdf