

Evaluación preliminar de la callogénesis y organogénesis *in vitro* *Leptochloa crinita* (lag.) p. m. peterson & n. snow.

Preliminary evaluation of *in vitro* callogenesis and organogenesis *Leptochloa crinita* (Lag.) P. M. Peterson & N. Snow

Xiomara Ruth Carbonell*, **Patricia Estela Verdes****, **Jorge Leandro Leporati*****

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v24n1.99374

RESUMEN

El cambio de uso de la tierra por diversos factores socio-económicos, climáticos, tecnológicos y culturales han tenido como consecuencia en la provincia de San Luis (Argentina) la pérdida de diversidad biológica, fragmentación y destrucción de hábitat, comprometiendo la existencia de la flora nativa, como es el caso de *Leptochloa crinita* (Lag.) P.M. Peterson & N. Snow, una especie con buena aptitud forrajera del monte chaqueño. Bajo este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo aplicar biotécnicas como alternativas para una propagación apropiada de este acervo genético. Se evaluó la organogénesis y callogénesis *in vitro* de diferentes explantos con distintos reguladores de crecimiento en un medio nutritivo Murashige y Skoog. El tratamiento con 6 mg l⁻¹ de 2,4-D estimuló la callogénesis, mientras que los tratamientos combinados de auxinas y citocininas presentaron las mayores tasas de morfogénesis. El desarrollo de esta biotécnica permite disponer de metodologías adecuadas para iniciar ensayos de conservación *in vitro*, análisis de la variabilidad genética e inicio de programas de domesticación y mejoramiento genético.

Palabras claves: Forrajeras, nativas, reguladores de crecimiento, morfogénesis.

ABSTRACT

In San Luis (Argentina), land-use change due to a variety of socioeconomic, climatic, technological and cultural factors has caused the loss of biological diversity, fragmentation and habitat destruction, compromising the existence of native flora, such as in the case of *Leptochloa crinita* (Lag.) PM Peterson & N. Snow, a species with good forage aptitude from the Chaco forest. In this context, the present work aimed to apply biotechniques as an alternative for an appropriate propagation of this gene pool. *In vitro* organogenesis and callogenesis of several explants were evaluated with different growth regulators on a Murashige and Skoog nutrient medium. Treatment with 6 mg l⁻¹ of 2,4-D stimulated callogenesis, while combined auxin and cytokinin treatments presented the highest rates of morphogenesis. The development of this biotechnique makes it possible to have adequate methodologies to initiate *in vitro* conservation trials, analysis of genetic variability and the initiation of domestication and breeding programs.

Key words: forage plants, native plants, growth regulators, morphogenesis.

Recibido: noviembre 6 de 2021 **Aprobado:** mayo 6 de 2022

* Ing. Agrónoma. Dpto. Ciencias Agropecuarias – FICA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS. Ruta Prov. N° 55 extremo norte, Villa Mercedes, San Luis, Argentina. xiomaracarbonell@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-7309-4381>.

** Ing. Agrónoma. Dpto. Ciencias Agropecuarias – FICA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS. Ruta Prov. N° 55 extremo norte, Villa Mercedes, San Luis, Argentina. Peverdes@yahoo.com.ar. <https://orcid.org/0000-0001-6430-9814>.

*** Mg. en estadística matemática. FICA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS. Ruta Prov. N° 55 extremo norte Villa Mercedes, San Luis, Argentina. . jorgeleporati1560@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0001-7229-0527>.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado una extensión de la frontera agrícola hacia el oeste semiárido de Argentina (Demaría *et al.*, 2016; Veneciano, 2016), provocando la remoción irracional de flora nativa por la fuerte presión del desmonte (Veneciano *et al.*, 2005). El análisis del estado actual del deterioro de los recursos naturales de Argentina muestra datos cuantitativos respecto a la pérdida de productividad, cambios de estructura en la vegetación y aceleración de procesos erosivos del suelo en las diferentes regiones del país (Casas y Albarracín, 2015 citado en Blanco *et al.*, 2019). Con respecto a San Luis la cuarta parte de los pastizales pampeanos presenta porcentajes de suelo desnudo superiores al 30 % (Demaría, 2015).

Una de las especies presentes en los pastizales pampeanos es *Leptochloa crinita* (Lag.) P.M. Peterson & N. Snow, especie forrajera clave en los sistemas pastoriles. Esta es una de las especies forrajeras más importantes en las regiones fitogeográficas del Monte y Chaqueña. Se destaca por su buena calidad forrajera, ofreciendo forraje de mediana a alta palatabilidad y con altos rendimientos (Gabutti *et al.*, 2011). Esta especie estival es tolerante a la defoliación, a la sequía y a la salinidad y su presencia en los pastizales es indicadora de buena condición forrajera (Gutiérrez *et al.*, 2016). Estas características ecofisiológicas y productivas la convierten en una especie interesante para conservar y usar su germoplasma en procesos de mejoramiento genético. Las técnicas del cultivo *in vitro* de tejidos vegetales son una alternativa para conservar y propagar esta especie en peligro de extinción (Laguna, 2019).

Según los antecedentes recopilados con respecto al cultivo *in vitro* de Poáceas con aptitud forrajera nativa de la provincia de San Luis, se han logrado avances promisorios para establecer protocolos adecuados en la micropropagación. Algunos trabajos relevantes son: *Cenchrus ciliaris* L. (Carloni, 2016; Lopez Colomba, 2011), *Schizachyrium plumigerum* (Verdes, 2000); optimización de las condiciones de cultivo *in vitro* de *Sorghastrum pellitum* para la obtención de callos (Suarez Follari *et al.*, 2003), el establecimiento *in vitro* de *Eustachys retusa* (Morbidelli y Verdes,

2009), establecimiento *in vitro* de *Piptochaetium napostaense* (Verdes *et al.*, 2005). En *L. crinita*, Verdes *et al.* 2011 establecieron los parámetros ambientales, aspectos nutricionales y asépticos para lograr una tasa de germinación *in vitro*. Por otra parte, *L. crinita* cv. Chamental INTA (INTA, 2013) es la primera variedad forrajera nativa obtenida por mejoramiento tradicional y Mora (2007) evaluó la producción de semillas bajo riego y determinando altos rendimientos (724 kg/ha y 1.220 kg/ha), en zonas degradadas de Mendoza.

Considerando la importancia forrajera de esta especie y las posibilidades biotecnológicas para su mejoramiento genético y propagación, el presente trabajo tiene como objetivos evaluar la organogénesis y callogénesis *in vitro* de *L. crinita* (Lag.) P.M. Peterson & N. Snow, a través de distintos tratamientos con reguladores de crecimiento y observar la respuesta de diferentes tipos de explantos en esos tratamientos.

MATERIALES Y METODOS

El material biológico que se utilizó fue *L. crinita* (Lag.) P.M. Peterson & N. Snow "pasto de hoja". Los explantos utilizados fueron: fruto-semilla maduras, hojas, inflorescencias, meristemas, raíces. Los explantos se desinfectaron individualmente con alcohol 70 %, hipoclorito de sodio 40 % (25 g/l Cl activo) Carbendazim (2-metoxicarbamoil) benzimidazol 5 % (Tabla 1).

Para la obtención de callogénesis y organogénesis se evaluaron los efectos de ocho tratamientos que surgen de combinaciones de los reguladores de crecimiento: ácido naftalen acético (ANA), ácido 2,4-diclorfenoxiacético (2,4-D), cinetina, y un tratamiento testigo (Tabla 2). El medio nutritivo utilizado fue Murashige y Skoog (1962) al 50 %. Para cada tipo de explantos y tratamiento se realizaron cinco repeticiones con 5 explantos por repetición.

En cada tratamiento se evaluaron la tasa de formación de callos y la presencia/ausencia de organogénesis directa o indirecta. El diseño experimental fue completamente al azar. La normalidad se verificó con la prueba de Kolmogorof-Smirnov, para muestra mayor a 30 o test

Tabla 1. Metodologías de desinfección, tiempos de exposición de los explantos de *L. crinita* en los desinfectantes.

| Tratamiento | Hipoclorito de sodio 40 % | Alcohol 70 % | Carbendazim (2- |
|-------------|---------------------------|--------------|-----------------|
| AL | 10' | 10' | 2' |
| BL | 10' | 10' | 24h |

Tabla 2. Combinación de reguladores de crecimiento, para la obtención de calogénesis y morfogénesis a partir de diferentes explantos de *L. crinita*.

| Tratamientos | Reguladores de crecimiento (mg l ⁻¹) | | |
|--------------|--|-------|----------|
| | ANA | 2,4-D | Cinetina |
| I | 0 | 2 | 0 |
| II | 0 | 6 | 0 |
| III | 0 | 12 | 0 |
| IV | 1 | 0 | 0 |
| V | 1 | 0 | 1 |
| VI | 2 | 0 | 1 |
| VII | 0 | 1 | 2 |
| VIII | 0 | 0 | 2 |
| IX | 0 | 0 | 0 |

Nota. El tratamiento IX hace referencia al testigo.

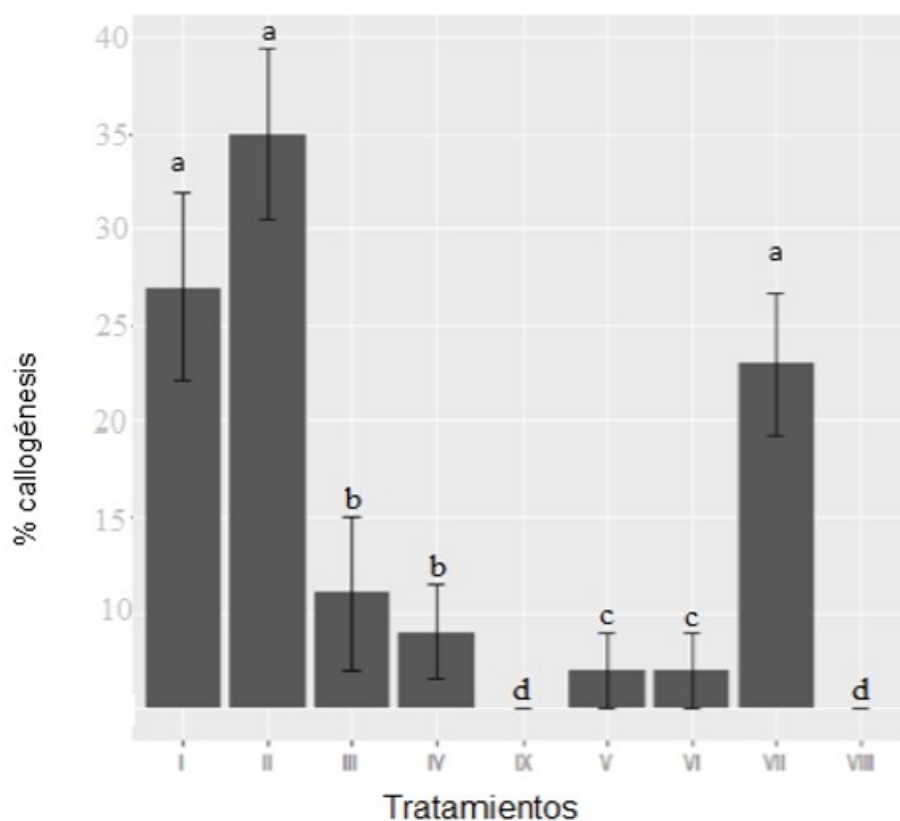
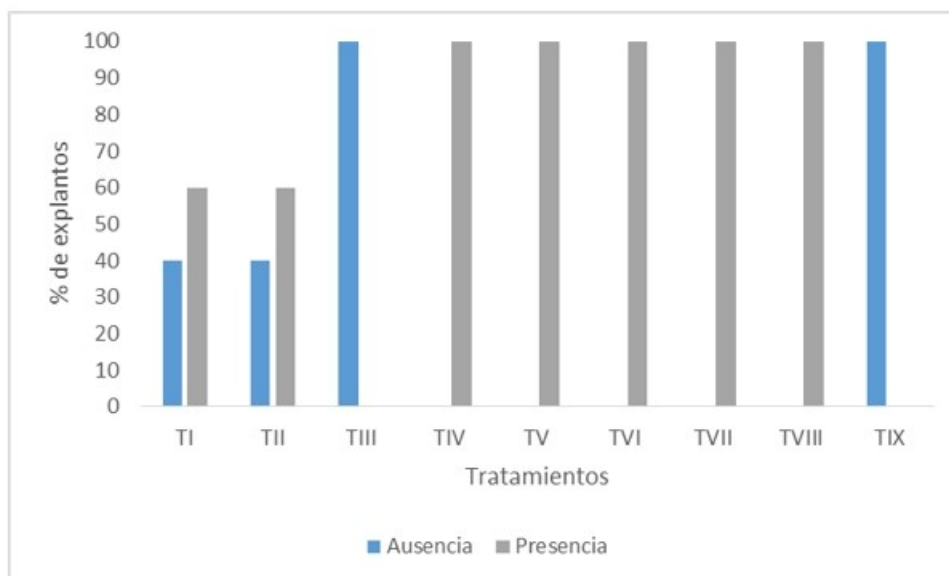


Figura 1. Calogénesis en *L. crinita*: comparación entre los tratamientos en los cuales letras iguales no presentan diferencias significativas.

de Shapiro-Wilks para muestras menores o igual a 30 y la homogeneidad con la prueba de Bartlett. Cuando no se cumplieron uno o los dos supuestos mencionados, se procedió a aplicar un test no paramétrico (Kruskal Wa-

llis) (Sokal y Rohlf, 1995). Las diferencias se determinaron a posteriori con el software R (librería PMCMR). Para el análisis de presencia/ausencia de organogénesis



Nota. Desde el TI al TVIII son los tratamientos con reguladores de crecimiento y el TIX es el testigo.

Figura 2. Porcentaje de la presencia o ausencia de la morfogénesis en *L. crinita*.

se usó la prueba de Chi cuadrado. Los datos fueron analizados en el software estadístico R 3.5.0 versión libre.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto a la desinfección de los explantos, el tratamiento BL fue el único que no presentó ningún tipo de contaminación, tampoco presencia de oxidación ni de necrosis en los explantos, aspectos sí observados en el Tratamiento AL.

De todos los explantos evaluados, solo se obtuvo callogénesis y organogénesis en los explantos fruto-semilla. Para el caso de callogénesis, el test de Kruskal-Wallis arrojó que hay diferencia significativa ($p=0.000$) entre los tratamientos. Mediante la prueba de Bonferroni-Dunn se determinó entre qué tratamientos se presenta esta diferencia. No se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento II y los Tratamientos I y VII ($p=0.58956$, $p=0.41462$, respectivamente), y sí con el resto de los tratamientos (Figura 1). Se puede observar que el tratamiento II obtuvo una media más elevada, determinando que es el tratamiento que tuvo mejor comportamiento con respecto a la variable en estudio.

Para la variable organogénesis se aplicó un test de Chi cuadrado de independencia y se determinó que la presencia o ausencia de brotes es dependiente del tratamiento ($p=0.000$).

Margara (1986) indica que la estimulación de la brotación en cultivo *in vitro* frecuentemente observado, resulta del empleo de citocininas, eventualmente asociadas a las auxinas. Según este autor, el ANA actúa en una mayor gama de concentraciones y es muy eficaz a dosis débil. En cambio, el 2,4-D favorece la callogénesis y su acción sobre la neoformación de yemas resulta menos ineficiente. Esta afirmación coincide con lo observado en los tratamientos IV, V, VI, VII y VIII, donde la combinación de auxinas con citocininas promovió la organogénesis (En el Gráfico 2 se observa lo descrito). Mientras que en los tratamientos con 2,4-D (I, II, III) se observó la presencia de callos no organogénicos. En un estudio de *P. napostaense* (Speg.) Hack la combinación de auxinas y citocininas promovió el número de macollos y el tamaño de los mismos, esto fue significativo en medios nutritivos que contenían ANA (1 mg l^{-1}) en combinación con 6-bencilaminopurina (1 mg l^{-1}) (Verdes *et al.* 2005). Margan (1986), también hace referencia a que la brotación *in vitro* de las Poáceas es extremadamente variable según especie y variedad, la edad de la planta o de los órganos utilizados, así como el origen y la naturaleza del explanto. Este último factor determinante de la callogénesis y/u organogénesis *in vitro* estableció que en *L. crinita* solo en el fruto-semilla se obtuvo respuesta favorable respecto del resto de explantos evaluados.

En la Figura 3A y la Figura 3B se puede observar la respuesta de *L. crinita* en el Tratamiento II ($2,4\text{-D } 2 \text{ mg l}^{-1}$), con presencia de callos amarillentos y morfogénesis indi-

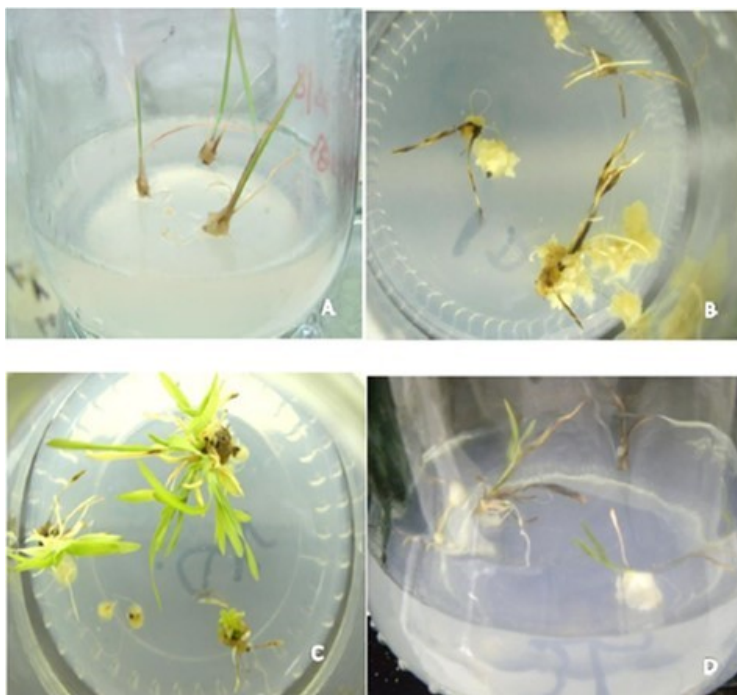


Figura 3. Callogénesis inducida a los 40 días de incubación en frutos semilla maduro de *L. crinita*; A)-B) distintos estadios de callogénesis en el Tratamiento TII. C) Formación de múltiples macollos en *L. crinita* a los 40 días de incubación Tratamiento TVI ANA: 2 mg l⁻¹ y Cinetina: 1 mg l⁻¹ Luz. D) Morfogénesis indirecta en el Tratamiento VII.

recta. En el Tratamiento VI (ANA 2 mg l⁻¹; cinetina 1 mg l⁻¹) se presentó la formación de múltiples de macollos y escasa cantidad de callos (Figura 1 C). A su vez en la Figura 1 D se muestra el detalle de la respuesta en el Tratamiento VII (cinetina 2 mg l⁻¹; 2,4-D 1 mg l⁻¹), donde se observa la formación de callos de un color blanquecino y la formación indirecta de hojas y raíces.

Estas observaciones coinciden con las funciones fisiológicas que cumplen los reguladores de crecimiento en la célula vegetal. Las auxinas producen elongación celular, expansión de los tejidos, división celular (formación de callos) y formación de raíces, inhibición de la formación de vástagos axilares y adventicios. Las citocininas generalmente estimulan la división celular, sobre todo si van acompañada de una auxina, también promueven la formación de vástagos axilares, porque disminuyen la dominancia apical (Pierick, 1990).

CONCLUSIONES

Se establecieron los protocolos de desinfección y para todo los explantos el tratamiento con 10' en hipoclorito de sodio 40 %, 10' alcohol 70 % y 24h Carbendazim (2-metoxicarbamoil)-benzimidazol puede iniciar el estable-

cimiento *in vitro* de *L. crinita*, sin comprometer la viabilidad de sus explantos. El fruto-semilla como explanto permitió los procesos de callogénesis (6 mg l⁻¹ de 2,4-D) y morfogénesis en los tratamientos que presentaban auxinas combinadas con citocininas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo realizan un aporte preliminar y significativo en el desarrollo de biotécnicas para la domesticación, propagación y mejoramiento de especies nativas con valor forrajero para las regiones áridas y semiáridas.

REFERENCIAS

- Artigas Suárez, M. (2012). *Efecto del BAP y 2,4-D en la inducción in vitro de tejido callogénico a partir de láminas foliares, segmentos peciolares y vitro explantos hipocotiledonares y radicales de Moringa oleífera*. [Tesis de grado, Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Universidad de Zamorano, Honduras].
- Ávila R, Barbera P, Blanco L, Burghi V, De Battista J, Frasinelli C, Frigerio K, Gándara L, Goldfarb M, Griffa S, Grunberg K, Leal K, Kunst C, Lacorte S, Lauric A, Martínez Calsina L, Mc Lean G, Nanning F, Otondo J, Petruzzi H, Pizzio R, D. Pueyo J, E. Ré A, Ribotta A,

- Romero L, Stritzler N, Tomas M, Torres Carbonell C, Ugarte C, Veneciano J. (2014). *Gramíneas forrajeras para el subtrópico y el semiárido central de la Argentina*. Editorial INTA. ISBN-978-987-521-551-1. [Archivo PDF] https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_gramineas_forrajeras_para_el_subtrpico_y_el_se.pdf.
- Blanco, L. J., Durante, M., Ferrante, D., Quiroga, R., Demaría, M. y Di Bella, C. M. (2019). Red nacional de monitoreo de pastizales naturales de Argentina: productividad forrajera de la vegetación extrapampeana. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45 (1), 89-107.
- Bóo, R. M. y Peláez D. (1991). Ordenamiento y clasificación de la vegetación en un área del sur del Distrito del Caldén. (In Spanish). *Boletín de la sociedad Argentina de botánica*, 27 (3-4), 135-141. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/08/135-141002.pdf>
- Cabrera, A. (1971). Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 4 (1-2), 21-63. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/09/21-65003.pdf>
- Cano E., Fernández B. y Montes M. (1980). Inventario Integrado de los Recursos Naturales de la Provincia de La Pampa. INTA y Provincia de La Pampa. Bs. As. (pp 493).
- Cano, E. (1988). *Pastizales naturales de La Pampa: Descripción de las especies más importantes*. (Tomo I, pp 425). Editorial AACREA.
- Carlóni, E. J. (2016). *Cultivo In Vitro de Anteras Como Estrategia Para el Mejoramiento Genético de Buffelgrass (Cenchrus ciliaris L)*. [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias]. <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/2729/Carlóni.%20Cultivo%20in%20vitro%20de%20anteras%20como%20estrategia%20para%20el%20mejoramiento%20gen%20c3%a9tico%20de%20buffelgrass...%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cavanagh, A. (2015). *Ecosistema espinal*. Hora 25 forestal. <http://periodicohora25forestal.blogspot.com/2015/11/ecosistema-del-espinal.html>.
- Chuviaco, E. (2000). *Fundamento de Teledetección especial*. (3ra edición). Editorial RIALP.
- Collado L. (2007). *La vegetación de tierra del fuego: De la estepa a la selva*. (pp 755-772). En Godoy Martínez C ed. Patagonia Total, Antártida e Islas Malvinas. Buenos Aires, Argentina. Editorial Barcel Baires.
- Collado, A. y Dellafiore C. (6 al 10 de noviembre 2000). *Transformaciones del paisaje en un establecimiento agropecuario de San Luis, Argentina. Valoración mediante Teledetección*. [Resumen de presentación de la conferencia]. IX Simposio Latinoamericano en Percepción Remota SELPER.
- Collado, A. y M. Demaria. (12 al 14 de 2005). *Retrosceso de pastizales naturales y bosques nativos en la provincia de San Luis*. [Resumen de presentación de la conferencia]. III Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales. Entre Ríos. Argentina.
- Córdova, M., Cobos M., Imán A., Castro J. (2014). Un método eficiente para la inducción de callos *in vitro* en *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh "Camu Camu". *Revista Scientia Agropecuaria*, 5 (1) 25-34. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172014000100003&lng=es&nrm=iso. ISSN 2077-9917.
- Demaría, M.; Aguado Suárez I y Steinaker D. 2008. Reemplazo y fragmentación de pastizales pampeanos semiáridos en San Luis, Argentina. *Revista Ecología austral*, 18 (1), 55-70. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1667-782X2008000100005&lng=es&lng=es
- Demaría, M. (2015). Avance de la frontera agrícola sobre el pastizal pampeano semiárido de San Luis. En: Casas, R., Albarracín, G. (Eds.). *El Deterioro del Suelo y del Ambiente de la Argentina*. (Vol. I, pp 475-484.). Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. Centro para la Promoción de la Conservación del Suelo y del Agua. PROSA.
- Demaría, M., Martini J. y Steinaker D. (2016). Actualización del límite occidental del pastizal pampeano. *Revista Ecología Austral*, 26 (1), 59-63. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1667-782X2016000100010&lng=es&nrm=iso
- Echenique, P., Polci P. y Lutz E. (2012). Presente y futuro de la biotecnología en especies forrajeras en Sudamérica, especialmente en Argentina. *Argenbio*. [Archivo PDF]. <https://chilebio.cl/wp-content/uploads/2015/09/Presente-y-futuro-de-la-biotecnolog%C3%ADa-en-especies-forrajeras-en-Sudam%C3%A9rica-especialmente-en-Arentina.pdf>
- Ernst, R., Vázquez V., Estelrich H. y Morici E. (5 y 6 de noviembre de 2016). *Comportamiento del banco de semillas del suelo en un bosque de Prosopis caldenia luego de un rolado selectivo*. [Resumen de la presentación de la conferencia]. VII Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales X Encuentro de Ganaderos del Pastizal del Cono Sur. Virasoro, Corrientes, Argentina. <http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2016/11/Resumenes-VII-Congreso-Nacional-de-Manejo-de-Pastizales-Naturales.pdf>
- FAO. (2011). *El estado de los Recursos de Tierras y Aguas del Mundo para la Alimentación y la Agricultura: La gestión de los sistemas en situación de riesgo*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, y Mundi-Prensa, Madrid.

- Gabutti, E. (2011). Caracterización de banco de semilla en distintos sitios del cardenal (San Luis). Monografías Maestría y Especialización en Gestión ambiental. UNSL.
- Gabutti, E.G., Cozzarín G., Reynoso M., Privitello M., Pensiero J y Zabala J. (2011). Caracterización agronómica de poblaciones nativas de *Trichloris crinita* y *T. pluriflora*. *Revista Argentina de Producción Animal*, 31, 574.
- Gil Báez, C., Ordinola Agüero, R., Ernst, R.D. y Ruiz, M.A. (2015). Caracterización morfológica, biomasa aérea y calidad en distintas poblaciones de *Trichloris crinita*. *Revista Archivos. Zootecnia*, 64 (245), 49-56. https://www.researchgate.net/publication/277331552_Caracterizacion_morfologica_biomasa_aerea_y_calidad_en_distintas_poblaciones_de_Trichloris_crinita.
- Gutiérrez, H., Richard G., Cerino M. y Pensiero, J. (2016). Sistema reproductivo de *Trichloris* (Poaceae, Chloridoideae, Chlorideae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(1), 111-122. file:///C:/Users/carbona/Downloads/14421-Texto%20del%20art%C3%ADculo-38642-1-10-20160412.pdf
- INTA. (31 de mayo de 2013). *Una forrajera promisoría para zonas marginales*. <https://intainforma.inta.gob.ar/una-forrajera-promisoría-para-zonas-marginales/>
- Kloster D., Ruiz M.A. y Ernst R. D. (2016). Germinación y crecimiento inicial de poblaciones de *Trichloris crinita* (Lag.) Parodi ante condiciones de estrés hídrico. *Revista semiárida de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa*. 26(2), 39-54. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/4418>.
- Kozub, P. C., Barboza, K., Galdeano, F., Quarin, C. L., Cavagnaro, J. B. y Cavagnaro, P. F. (2017). Reproductive biology of the native forage grass *Trichloris crinita* (Poaceae, Chloridoideae). *Revista Plant Biology*, 19 (3), 1438-8677. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/translate/goog/28135030/>
- Laguna-Ibarra, Y., Cueva-Lopez, J., Tamariz-Angeles, C y Olivera-Gonzales, P. (2019). Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *senecio calvus* (asteraceae), planta medicinal altoandina, endémica del Perú. *Revista investigación Altoandina*. 21, (2), 111-121. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572019000200003&lng=es&nrm=iso ISSN 2313-2957.
- López Colomba, E. (2011). *Inducción de Variabilidad Genética Para Tolerancia a Estreses Abióticos Mediante Técnicas de Cultivo In Vitro en Cenchrus ciliaris L.* [Tesis de maestría, Universidad Internacional de Andalucía]. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/6591>
- Margara, J. (1986). Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*: Los meristemas y la organogénesis. (232 p). Ed. Mundi-Prensa.
- Montoya-Henao, L. M. (1991). Cultivo de tejidos vegetales. (1er edición, 77p). Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Mora, S. (19 de abril 2007). Ensayan la producción de semilla de *Trichloris crinita*. *Todoagro*. <https://www.todoagro.com.ar/ensayan-la-produccion-de-semilla-de-trichloris-crinita/>
- Morbidegli, M. y Verdes, P. (20 al 24 de Abril de 2009). *Análisis comparativo de tolerancia a salinidad in vitro entre Papophorum pappiferum (Lam.) Kuntze y Eustachys retusa (Lag.) Kuntze*. [Resumen de presentación de la conferencia]. VII Simposio Nacional de Biotecnología REDBIO-Argentina. II Congreso Internacional REDBIO-Argentina. Rosario (Santa Fe), Argentina.
- Morici, E., Ernst R; Kin A., Estelrich D., Mazzola M. y Poey S. (2003). Efecto del pastoreo en un pastizal semiárido de Argentina según la distancia a la aguada. *Revista Artículo Zootécnico*, 52, 59-66.
- Murashige, T. y Skoog F. (1962). A revise medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue culture. *Revista Physiologia Plantarum*, 15 (43), 473-497.
- Pierik, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Ediciones Mundi-prensa.
- PROCISUR. (1998). Recuperación y manejo de Ecosistemas Degradados. PROCISUR. (pp 112). Montevideo, Uruguay. https://www.procisur.org.uy/adjuntos/procisur_dialogo-xlix-recuperacion-y-manejo-de-ecosistemas_0d3.pdf
- Quiroga, R. (4 al 7 Octubre de 2011). *Variación morfológica en once poblaciones del pasto nativo Trichloris crinita*. [Resumen de presentación de la conferencia]. 34° Congreso Argentino de Producción Animal. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Reinoso, T. (2014). *Regeneración in vitro vía organogénesis y aislamiento de protoplastos de Gmelina arborea a partir de plantas in vitro*. [Tesis de grado, Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias]. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/15436/GamarraReinosoLiesel2014.pdf>
- Rivero, N., Agramonte-Peñalver D., Barbón-Rodríguez R., Camacho-Chiu W., Collado-López R., Jiménez-Terry F., Pérez-Peralta M. y Gutiérrez-Martínez O. (2008). Embriogénesis somática en *Anthurium andraeanum* Lind variedad Lambada. *Revista Ra Ximhai*, 4 (1), 135-149. https://www.researchgate.net/publication/28211206_Embriogenesis_somatica_en_Anthurium_andraeanum_Lind_variedad_LAMBADA
- Rodríguez Beraud, M., Latsague Vidal, M., Chacón Fuentes, M. y Astorga Brevis, P. (2014). *In vitro* induction

- of callogenesis and indirect organogenesis from explants of cotyledon, hypocotyl and leaf in *Ugni molinae*. *Revista Bosque* (Valdivia), 35(1), 111-118. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002014000100011>
- Rodríguez Rivera, M. y Ocampo, E. (5 y 6 de noviembre de 2016). *Estado del estrato herbáceo en las Salinas de Bebedero, San Luis, con especial interés en Trichloris crinita. Estudios preliminares*. [Resumen de presentación de la conferencia]. VII Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales, X Encuentro de Ganaderos del Pastizal del Cono Sur. Virasoro, Corrientes, Argentina.
- Roca, W. y Mroginski, L. (1991). *Cultivos de tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones*. (p 970). Editorial: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Rossell C. y Villalobos A. (1990). *Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales*. Editorial: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- Sokal, R. y Rohlf, F. (1995). *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. (3rd Edition). W.H. Freeman and Co., New York.
- Suárez Follari, E. y Verdes, P. (08, 09 y 10 de Octubre de 2003). *Optimización de las condiciones de cultivo in vitro de Sorghastrum pellitum (Hack) Parodi para la obtención de callos*. [Resumen de presentación de la conferencia]. 2° Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales. 6a jornada regional. IV Reunión de la Asociación Argentina de *Prosopis*. San Cristóbal, Santa Fe, Argentina.
- Veneciano J. (2016.) Capítulo 3: *Cultivos forrajeros en San Luis, algunas reflexiones*. En Producción científico-técnica del INTA San Luis. (1ra ed. PP 91-101). Editorial INTA.
- Veneciano J., Frasinelli, C. Kraus, A. y Bianco, A. (2005). *Domesticación de especies forrajeras*. (1ra ed, 64p). Editorial Universidad Nacional de Rio Cuarto.
- Verdes P. (del 29 al 1 de diciembre 2000). *Estudios preliminares en el cultivo in vitro de especies nativas de la provincia de San Luis*. [Resumen de presentación de la conferencia]. XXIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Rio Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Verdes P. y Molina M. (del 6 al 10 de noviembre 2005). *Establecimiento in vitro de Piptochaetium napostaense (Speg.)*. [Resumen de presentación de la conferencia]. XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Verdes, P., Carbonell, X. y Pérez Díaz JP. (19 de agosto 2011). *Estudio de estímulos físicos químicos en la germinación de Trichloris crinita*. [Resumen de presentación de la conferencia]. 2da. Reunión Conjunta de las Sociedades de Biología de la República Argentina. San Juan, Argentina.