



Aspectos biotecnológicos en la propagación *in vitro* de magnoliáceas

Biotechnological aspects in the *in vitro* propagation of magnoliaceae

Diana Milena Avendaño Torres¹
Elberth Hernando Pinzón-Sandoval²
Pablo Antonio Serrano Cely³



DOI: <https://doi.org/10.19053/01228420.v19.n3.2022.15195>

RESUMEN: La familia Magnoliaceae está compuesta por 352 especies de las cuales cerca del 70% se encuentran con alguna categoría de amenaza. En Colombia, se concentra la mayor diversidad de Magnolias del Neotrópico con 39 especies, de las cuales 29 son exclusivas para el país y el 95% tienen alguna categoría de amenaza de extinción, debido principalmente a la fragmentación y degradación de los hábitats, distribución geográfica restringida, poblaciones reducidas y aisladas, aprovechamiento no sostenible de las maderas y dificultades de propagación natural. La biotecnología vegetal y las técnicas para el cultivo de tejidos *in vitro* son utilizados cada vez más como una alternativa eficaz para la propagación de especies amenazadas y que merecen particular atención y esfuerzos de conservación. A nivel del mundo se han realizado valiosos esfuerzos para propagar a través de estas técnicas biotecnológicas especies de la familia Magnoliaceae, ya sea para fines ornamentales, industriales, farmacológicos o de conservación con resultados favorables. Por tanto, el objetivo de esta revisión es destacar la importancia del uso de los procesos biotecnológicos, en este caso la micropropagación como técnica *in vitro*, en la propagación de especie de la familia Magnoliaceae, debido a su importancia a nivel ecológico y de conservación.

PALABRAS CLAVE: Micropropagación; Medios de Cultivo; Biotecnología; Bioconservación; Organogénesis.

ABSTRACT: The Magnoliaceae family is made up of 352 species, of which about 70% are in some category of threat. In Colombia, the greatest diversity of Magnolias in the Neotropics is concentrated with 39 species, of which 29 are exclusive to the country and 95% have some category of threat of extinction, mainly due to the fragmentation and degradation of habitats, geographic distribution restricted, small and isolated populations, unsustainable use of wood and difficulties of natural propagation. Plant biotechnology and *in vitro* tissue culture techniques are increasingly used as an effective alternative for the propagation of threatened species that deserve particular attention and conservation efforts. Worldwide, valuable efforts have been made to propagate species of the Magnoliaceae family through these biotechnological techniques, whether for ornamental, industrial, pharmacological or conservation purposes, with favorable results. For this reason, the objective of this review is to highlight the importance of the use of biotechnological processes, in this case micropropagation as an *in vitro* technique, in the propagation of species of the Magnoliaceae family, due to its importance at an ecological and conservation level.

KEY WORDS: Micropropagation; Culture Media; Biotechnology; Bioconservation; Organogenesis.

FECHA DE RECEPCIÓN: 05 de noviembre de 2022 **FECHA DE ACEPTACIÓN:** 05 de diciembre de 2022

COMO CITAR: Avendaño Torres, D. M., Pinzón Sandoval, E. H., & Serrano Cely, P. A. Aspectos biotecnológicos en la propagación *in vitro* de magnoliáceas. *Ciencia y Agricultura*, 19(3): 116-131. <https://doi.org/10.19053/01228420.v19.n3.2022.15195>

- 1 M.Sc. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, diana.avend@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4342-3666>
- 2 M.Sc. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, elberth.pinzon@uptc.edu.co, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9229-3450>
- 3 M.Sc. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, pablo.serrano@uptc.edu.co, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1270-3024>

INTRODUCCIÓN

La familia Magnoliaceae es considerada uno de los grupos más ancestrales de angiospermas (Rivers et al., 2016; Cogollo-Pacheco et al., 2019). Es un linaje evolutivo de cerca de 120 millones de años de antigüedad que pertenece al Clado Magnoliidae y al Orden Magnoliales (Pérez, 2015; Gallardo, 2021), cuyas características morfológicas se consideran evolutivamente primitivas, como la estructura de las flores que están dispuestas en espiral en lugar de anillos, a diferencia de la mayoría de las plantas con flores (Velásquez y Serna, 2005; Cicuzza et al., 2007; Pérez, 2015) además, los sépalos y los pétalos no están tan claramente diferenciados como en otras angiospermas (González y Guzmán, 2010; Pérez, 2015). Al ser un taxón antiguo puede dar indicios del proceso evolutivo de las plantas con flores (Velásquez y Serna, 2005).

Dicha familia se distribuye ampliamente en zonas templadas y tropicales de Asia y América, siendo china el país con mayor número de especies y Colombia el más diverso, y con mayor endemismo del Neotrópico (Cogollo-Pacheco et al., 2019). En Colombia se han registrado en las regiones de los Andes, Chocó, Amazonía, Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Quindío, Arauca, Santander y Caldas, principalmente en los bosques húmedos y muy húmedos (Lozano-Contreras, 1994; González y Guzmán, 2010), las Magnolias del Neotrópico exhiben poblaciones escasas y pequeñas y deben ser priorizadas para su conservación (Serna-González et al., 2021). En cuanto a clasificación taxonómica a partir de estudios filogenéticos y moleculares se reconocen 2 subfamilias, 11 secciones, 13 géneros y 9 subgéneros, aunque esta clasificación sigue en estudio (Vázquez-García et al., 2016).

Estas especies son de amplio interés ornamental, por la belleza de sus flores (Calderón et al., 2007); medicinal, por la presencia de metabolitos secundarios como el magnodiol y el honokiol (Velásquez y Serna, 2005; Lee et al., 2011), de potencial uso farmacéutico y alimenticio, además de lignanos, neolignanos, fenilpropanoides, terpenos y algunos alcaloides, con alta actividad biológica, citotóxica, antitumoral, antioxidante, antimicrobiana, alelopática e insecticida (Kelm y Nair, 2000; Lee et al., 2011) y de amplio interés para ciencia y la conservación (Arteaga, 2019).

Las magnoliáceas se han visto afectadas principalmente por la fragmentación y degradación de sus hábitats naturales, a causa de factores antrópicos como la ampliación de la frontera agrícola, la ganadería y la deforestación (Calderón *et al.*, 2007; Serna y Velásquez, 2017) además del aprovechamiento no sostenible de las maderas usadas en la fabricación de muebles y como madera rolliza y de aserrío (González y Guzmán, 2010; Rivers et al., 2016; Serna-González et al., 2021), lo cual ha generado que las magnolias del país estén en riesgo por sobreexplotación (Lozano-Contreras, 1994).

Lo anterior, genera posiblemente disminución del flujo genético, baja producción de frutos y semillas, escaso reclutamiento de plántulas y aumenta la

vulnerabilidad de las poblaciones a eventos de extinción y cambio climático (Gallardo, 2021; SernaGonzález et al., 2021), esto último ya que el aumento de temperaturas máximas o mínimas según Serna-González et al. (2021), podría afectar la fenología y procesos de polinización de especies como *Magnolia jardinensis* y *Magnolia yarumalenses* y de otras especies de magnolias neotropicales, provocando disminución en la formación de botones florales, frutos y semillas.

Las especies de la familia Magnoliácea producen pocos frutos y tienen baja regeneración natural por semillas (Gallardo, 2021; Serna-González et al., 2021), sin embargo, tienen una alta capacidad natural de rebrotar cuando son cortadas, produciendo rápidamente nuevos rebrotes o “Ramets”, los cuales son una opción viable para establecer programas de propagación clonal (Gallardo, 2021).

La biotecnología ofrece nuevas metodologías de propagación que complementan a las tradicionales (Romero, 2018), por lo que estas técnicas biotecnológicas brindan un alto potencial para la propagación y conservación de especies amenazadas o en peligro de extinción de la familia Magnoliaceae.

Se han reportado procesos exitosos de reproducción asexual a través de técnicas Biotecnológicas de propagación clonal *In vitro*, a partir de yemas vegetativas o rebrotes. Tal es el caso del estudio realizado por Kang et al. (2020), en el que se estableció un protocolo de cultivo de tejidos *In vitro* a partir de explantes de brotes generados en el tronco de individuos de *Magnolia lucida*. Asimismo, a partir de yemas laterales de *Magnolia sirindhorniae*, Cui et al. (2019) establecieron un protocolo eficiente para su micropropagación. Por su parte, Radomir (2012) desarrolló un protocolo para inducir regeneración, probando la respuesta de meristemos con 1-2 primordios foliares tomados de yemas apicales o axilares, de *Magnolia stellata* y *Magnolia soulangiana*. En el estudio realizado por Wojtania et al. (2015), a través de organogénesis directa a partir de yemas apicales y axilares de *Magnolia soulangiana* se logró obtener la formación de brotes foliares y axilares.

Por lo anterior, el objetivo de la presente revisión es destacar la importancia del uso de los procesos biotecnológicos, en este caso la micropropagación como técnica *in vitro*, en la propagación de especie de la familia Magnoliaceae, debido a su importancia a nivel ecológico y de conservación.

RUTAS MORFOGÉNICAS PARA EL CULTIVO *IN VITRO* DE PLANTAS

La regeneración de plantas por cultivos de tejidos *in vitro* se puede dar a través de tres rutas morfogénicas principales: la organogénesis, la embriogénesis somática y la micropropagación a partir de explantes con meristemas preexistentes (Radice, 2010; Suárez 2020). Se entiende por morfogénesis los cambios morfológicos que se dan como resultado de modificaciones estructurales o de organización que ocurren durante el desarrollo de un organismo, a través de la capacidad de totipotencia, competencia o determinación de las células vegetales, que permite inducir la formación de estructuras y órganos nuevos (Hartmann et al., 2011; Sharry et al., 2015). La totipotencia hace referencia a la capacidad que tiene las células vegetales de regenerar plantas completas (Radice, 2010; Hartmann et al., 2011). Las células competentes son las que tiene capacidad organogénica o embriogénica, ya que no todas las células de un explante tienen estas propiedades (Sharry et al., 2015), y la determinación es el proceso en el cual una célula indiferenciada se convierte en una destinada a desarrollar un tipo específico de tejido (Hartmann et al., 2011).

La morfogénesis se puede dar a través de tres fases; la adquisición de competencia en la que las células no responden al estímulo organogénico, pero adquieren esa competencia a través de la desdiferenciación, la fase de inducción en la que las células son receptivas al estímulo morfogénico, de acuerdo con el tipo de regulador de crecimiento, combinación y concentración usada en el medio de cultivo y la fase de realización donde la célula sufre las sucesivas divisiones para formar el órgano determinado (Radice, 2010; Sharry et al., 2015).

La morfogénesis se pueda dar de manera directa o indirecta, dependiendo de las fases que se presenten, la morfogénesis directa consiste en la multiplicación de plantas mediante proliferación de brotes axilares o la formación de embriones somáticos directamente desde los tejidos del explante, sin desdiferenciación o formación de callo, a través de la totipotencia celular (Sharry et al., 2015). En la morfogénesis indirecta la proliferación celular se da a través de la formación de un callo y la posterior formación de brotes o pro-embriones somáticos (Sharry et al., 2015). La morfogénesis directa asegura la estabilidad genética del material obtenido (Olmos et al., 2010). Tanto la organogénesis como la embriogénesis somática se pueden dar por morfogénesis directa o indirecta (Figura 1) (Sharry et al., 2015).

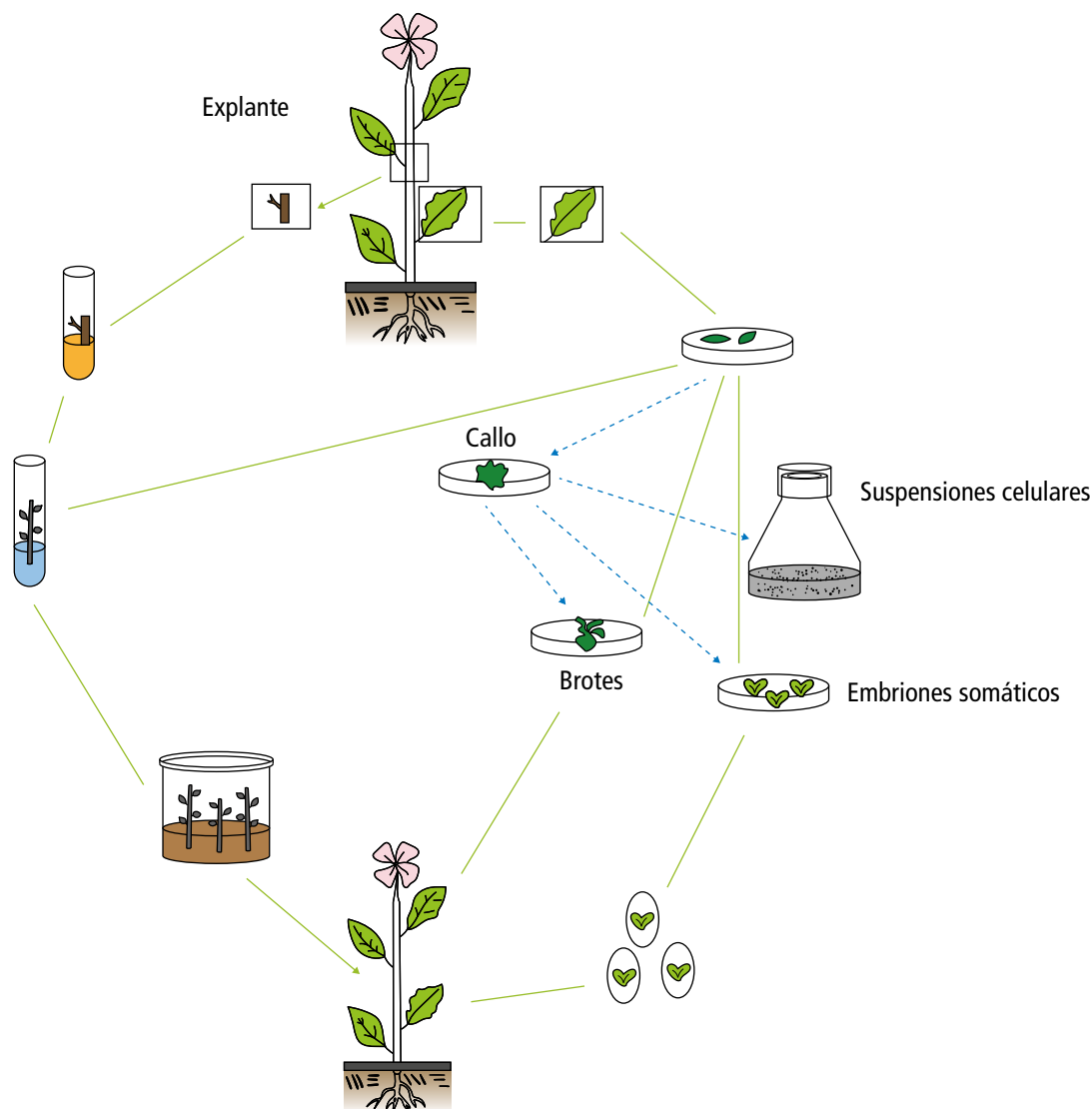


FIGURA 1. Vías de regeneración de plantas por tejido de cultivos *in vitro*. Las líneas continuas expresan organogénesis o embriogénesis directa mientras que las líneas quebradas indican que la morfogénesis se obtiene por vía indirecta (adaptado de Radice, 2010).

Micropropagación

La micropropagación es una técnica de propagación asexual que consiste en la producción de plantas en condiciones ambientales controladas, completa asepsia, empleando un medio de cultivo de componentes conocidos, en recipientes de plástico o de vidrio (Olmos et al., 2010; Suarez, 2020). Esta tecnología ofrece la posibilidad de producir un elevado número de plantas homogéneas y de una alta calidad fitosanitaria, en un menor plazo de tiempo, en comparación con métodos de propagación tradicional (Sharry et al., 2015).

La micropropagación presenta cuatro etapas principales: 1) Desinfección de explantes y establecimiento del cultivo 2) desarrollo y multiplicación 3) enraizamiento y 4) aclimatación de las plántulas. En algunos casos tiene importancia considerar una etapa previa (Etapa 0) que es la etapa de selección de la planta madre y se hace preparación de los explantes para el establecimiento (Olmos et al., 2010; Suarez, 2020). A continuación se detallan las etapas:

Etapa 0: Preacondicionamiento de plantas Madre

En esta etapa se realiza la selección de las plantas donadoras de explantes de acuerdo con características fitosanitarias y fisiológicas deseadas. De ser posible dichas plantas deben ser sometidas por un tiempo prudencial a condiciones de invernadero con el fin de controlar algunos factores ambientales como la temperatura, la humedad, la intensidad lumínica, esto con el fin de preparar los explantes para las condiciones *in vitro*, adicionalmente se deben aplicar productos químicos que eliminen patógenos y eventuales microorganismos endógenos (Mroginski, 2004; Olmos et al., 2010; Suarez, 2020). Además de garantizar un estado fitosanitario óptimo, es recomendable realizar podas para estimular el crecimiento de yemas axilares y aspersiones foliares con citoquininas para promover la brotación lateral, procedimiento recomendando especialmente para especies leñosas (Olmos et al., 2010; Suarez, 2020).

Etapa 1: Desinfección y establecimiento del cultivo

El éxito del cultivo de tejidos *in vitro* depende en gran medida del control y prevención de la contaminación por agentes patógenos (Sharry et al., 2015) por lo que se debe hacer desinfección de los explantes usando detergentes y desinfectantes que penetren en el tejido y eliminen cualquier tipo de agente contaminante (Perea et al., 2011). El procedimiento para la desinfección superficial debe permitir eliminar los microorganismos con el menor daño posible para los explantes (Sharry et al., 2015). Es importante tener en cuenta que no todos los explantes requieren el mismo proceso de desinfección, ya que la morfología y el tejido varían (Perea et al., 2011).

Los desinfectantes más comúnmente utilizados son el alcohol (etilo, metilo o isopropilo, generalmente alrededor del 70%, el hipoclorito de sodio (NaClO), hipoclorito de calcio (Ca (ClO)₂), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y bicloruro de mercurio (HgCl₂), usados a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión, dependiendo de los requerimientos de cada planta (Sharry et al., 2015). Se debe usar agua destilada de reciente preparación, ya que el almacenamiento prolongado puede ser la causa de contaminación con bacterias (Mroginski, 2004; Hartmann et al., 2011).

Luego de la desinfección superficial, el material vegetal seleccionado se coloca en un medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días,

comienza el proceso de regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo del cultivo *in vitro* (Olmos et al., 2010). El establecimiento del cultivo es la etapa más complicada del proceso, ya que están involucrados factores como la elección apropiada del explante, medio de cultivo, tipos y concentraciones de reguladores de crecimiento, además el explante se debe mantener viable y libre de contaminación y en condiciones ambientales propicias para su desarrollo (Arteaga, 2019).

El establecimiento *in vitro* de tejidos vegetales de algunas especies de plantas, especialmente leñosas, puede estar limitado por la aparición de necrosis en el explante y oxidación de fenoles en el medio de cultivo, lo cual disminuye su viabilidad (Azofeifa, 2009), por lo que se hace necesario el uso de antioxidantes como el ácido ascórbico (AA) o absorbentes como el carbón activado (CA) (Parris et al., 2012; Radomir, 2012) aplicados al medio o durante el proceso de desinfección de los explantes (Olmos et al., 2010).

Etapa 2: Multiplicación

Una vez que el explante se ha adaptado a las condiciones del laboratorio y no presenta contaminación de tipo endógena o exógena, de debe pasar a un nuevo medio de cultivo, agregándole hormonas en concentraciones adecuadas (Jarret, 1991). A medida que el explante comienza a crecer y multiplicarse es subdividido y cultivado individualmente en un nuevo medio, una vez multiplicado y desarrollado, nuevamente es subdividido, el número de subdivisiones depende de la especie (Mroginski, 2004; Suárez, 2020). El objetivo de esta etapa es mantener y aumentar la cantidad de brotes para los nuevos ciclos de multiplicación sucesivos (subcultivos) y poder destinar parte de ellos a la siguiente etapa de producción (Olmos et al., 2010).

La etapa de multiplicación comprende dos fases, la inducción y la multiplicación, en la primera fase se pueden emplear concentraciones significativas de reguladores de crecimiento (generalmente más auxinas que citoquininas) y en la segunda fase se debe garantizar un balance hormonal adecuado para favorecer los procesos de diferenciación y multiplicación celular (Olmos et al., 2010).

Etapa 3: Enraizamiento

Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio sin reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas (Olmos et al., 2010). Algunas especies de plantas, especialmente herbáceas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo que el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea (Perea et al., 2009; Olmos et al., 2010).

Para plantas leñosas por su limitada capacidad rizogénica, este proceso suele ser más dispendioso y se requiere del uso de medios adicionados con ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) o ácido indolbutírico (AIB) en concentraciones entre 0,1 - 5,0 mg L⁻¹ (Perea et al., 2009; Olmos et al., 2010).

Etapa 4: Aclimatación

Las plantas formadas en condiciones *in vitro*, crecen bajo condiciones controladas y al ser llevadas a un medio natural directamente, pueden deshidratarse fácilmente y morir, por lo que es necesario realizar un acondicionamiento, denominado endurecimiento o aclimatación (Suárez, 2020). Esta etapa es conveniente realizarla en invernaderos o cámaras de crecimiento adecuadas, donde se puedan controlar condiciones ambientales como la temperatura y humedad relativa, permitiendo el endurecimiento de las plantas en forma progresiva (Villalobos y Thorpe, 1991). Bajo condiciones *ex vitro* se utilizan diferentes substratos, mezclas de tierra y arena y/o abonos, que deben estar debidamente desinfectados (Olmos et al., 2010).

La aclimatación es un factor importante en la posterior supervivencia de la planta y durante la cual se produce la mayor pérdida de plantas, por lo que es importante comenzar reduciendo gradualmente la humedad relativa, para permitir el cierre estomático, una mejor formación de cutícula, disminuir la pérdida de agua y estimular la fotosíntesis (Mroginski, 2004; Olmos et al., 2010), se recomienda aplicar una solución con auxinas (0,1 mg L⁻¹) para incrementar la formación de raíces (Perea *et al.*, 2009).

PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE MAGNOLIAS

La primera especie del género *Magnolia* propagada por técnicas *in vitro* fue *Magnolia × soulangeana* por Maene y Debergh (1985), en un medio sólido suplementado con solución líquida de sales Murashige y Skoog (MS), a partir de entonces se han realizado diversos trabajos a través de técnicas como la organogénesis directa, en medios de establecimiento como Murashige y Skoog (MS), Medio modificado de Murashige y Skoog (ML) o medio de concentración media Murashige y Skoog (½ MS) suplementado con BAP y ANA, la citoquina adicionada en mayor concentración con respecto a la auxina o en algunos casos en ausencia de ella, usando agentes de unión fenólica como el CA a concentraciones de 0,2 mg L⁻¹ a 1 g L⁻¹ y antioxidantes como el ácido ascórbico (Parris et al., 2012; Hidalgo, 2014; Wojtania et al., 2015; Arteaga, 2019; Cui et al., 2019).

En el caso del uso de la técnica de organogénesis indirecta se han usado explantes como brotes apicales (yemas y meristemos) para la inducción de callo (Machoa, 2018), fragmentos de hoja y segmentos de pecíolo (Llive, 2005; Domínguez et al., 2010; Cardozo et al., 2017), en medios de establecimiento

MS, ½ MS y medio de plantas leñosas (WPM), adicionados con auxinas como Thidiazuron (TDZ), 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4-D) y Kinetina (KIN) y citoquininas como AIA y BAP, las concentraciones de las auxinas fueron mayores con respecto a las citoquininas para la inducción de callo.

Técnicas como la embriogénesis somática fueron usada por Mata-Rosas *et al.* (2006), logrando la regeneración de *Magnolia dealbata*, especie endémica de México, a partir de embriones cigóticos, usando el medio de plantas leñosas (WPM) y por Kim *et al.* (2007) a partir de callos embriogénicos y medio MS suplementado con 1,0 mg L⁻¹ de 2,4D, solo o en combinación con 0,01 mg L⁻¹ de TDZ, logrando la micropropagación de *Magnolia obovata* Thunberg.

Actualmente en Colombia se han hecho esfuerzos para conservar y propagar especies como *Magnolia silvioi*, *Magnolia yarumalensis*, *Magnolia polyhypsophylla*, *Magnolia guatapensis*, *Magnolia jardinensis*, *Magnolia coronata*, *Magnolia espinalii* y *Magnolia hernandezii*, gracias al apoyo de Corantioquia. Esta entidad incluyó el seguimiento de dichas especies en el “Proyecto de conservación y manejo *in situ* y *ex situ* de especies forestales de importancia económica y ecológica” (González y Vásquez, 2010), estrategia a través de la cual se desarrolló el estudio de Quintero, (2018), en el que se evaluó la técnica de cultivo *in vitro* como alternativa complementaria a los métodos de propagación asexual convencional, logrando el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de posición apical para cuatro especies de magnolias (*M. polyhypsophylla*, *M. hernandezii*, *M. espinalii* y *M. yarumalensis*).

Autores como Llive (2005), Domínguez *et al.* (2010), Parris *et al.* (2012), Sokolov *et al.* (2014) y Arteaga (2019), reportan problemas asociados a la oxidación de fenoles, en el establecimiento *in vitro* de especies de la familia *Magnoliaceae*, principalmente durante las primeras etapas del cultivo, limitando el crecimiento del explante, aumentando la necrosis y afectando su viabilidad. Se sabe que unos de los principales compuestos fenólicos presentes en especies de la familia *Magnoliaceae* son el magnolol y el honokiol, con propiedades potencialmente medicinales y farmacéuticas dentro de los que se incluyen efectos anticancerígenos, antiestrés, ansiolíticos, antidepresivos, antioxidantes, antiinflamatorios y hepatoprotectores (Lee *et al.*, 2011), pero que liberados durante el proceso de establecimiento *in vitro* constituyen uno de los principales problemas (Parris *et al.*, 2012; Live, 2015; Arteaga, 2019).

Por lo que se recomienda el uso de soluciones antioxidantes o absorbentes como el ácido ascórbico (AA) aplicados al explante y el carbón activado (CA) incluido en el medio de cultivo, así como reducir la duración del proceso de escisión y de esterilización del explante, además de la sustitución o disminución de las concentraciones y tiempos de inmersión del agente desinfectante (Azofeifa, 2009).

TABLA 1. Principales resultados de estudios de Propagación *in vitro* de especies de la familia Magnoliaceae.

Autor, año y país.	Especie	Técnica y tipo de explante	Mejor tratamiento en la desinfección	Mejor tratamiento en el establecimiento	Mejor tratamiento en la multiplicación y enraizamiento.	Observaciones y recomendaciones
Llive, (2005) Honduras.	Magnolia yoroconte	Organogénesis indirecta a partir de explantos foliares maduros y yemas axilares.	Solución desinfectante de cloro comercial al 20% (v/v) más 2 gotas de Tween 80 por cada 100 ml de solución, durante 15 min.	La concentración de 14 μM de 2,4-D y 20 μM de KIN resultó ser mejor para inducir formación calogénica en sales básicas del medio WPM.	El BAP utilizado a altas concentraciones 30 μM y combinado con 14 μM de 2,4-D también tuvo un efecto positivo en la regeneración calogénica de explantes foliares de <i>M. yoroconte</i> .	Recomienda probar varios tipos y concentraciones de soluciones y/o mezclas de antioxidantes colocadas al medio y para eliminar los niveles de oxidación y necrosis.
Mata-Rosas et al. (2006) México.	Magnolia dealbata Zucc	Micropropagación de embriones cigóticos mediante embriogénesis somática y organogénesis directa a partir de semillas.	Cloro comercial 30% v/v por 30 min y 3 enjuagues con agua destilada, eliminación de sarcotesta y lavado con detergente por 20 min, + etanol al 70% por 2 min + Cloro 30 % v/v por 20 min y 3 enjuagues con agua destilada estéril.	WPM suplementado con 13,3 μM o 22,2 μM de BAP en combinación con 2,26 μM o en ausencia de 2,4- D a partir del cual se indujeron 2,5 brotes por explante.	85% de los explantes formaron embriones somáticos, cultivados en WPM con 2,3 o 4,5 $\mu\text{mol/l}$ de 2,4-D, 20% indujeron embriogénesis indirecta y 65% formaron embriogénesis directa.	Los cultivos expuestos a luz mostraron necrosis, no mostraron morfogénesis. Subcultivos en WPM + PVP 1 g L ⁻¹ evitaron la necrosis de los explantes.
Kim et al. (2007) Japón.	<i>Magnolia obovata Thunberg</i>	Embriogénesis somática - embriones somáticos a partir de callos embriogénicos	Etanol al 70%, 30 s; 2% hipoclorito de sodio 10 min; enjuagar cuatro veces con agua destilada.	MS suplementado con 1,0 mg L ⁻¹ de 2,4 D, solo o en combinación con 0,01 mg L ⁻¹ de TDZ.	25% de los embriones somáticos se convirtieron en plántulas normales en medio ½ MS que contenía ácido giberélico (GA ₃).	Alrededor del 85% de las plántulas sobrevivieron en una mezcla de suelo artificial, se transfirieron a un vivero y crecieron normalmente.
Domínguez et al. (2010) México.	<i>Magnolia dealbata Zucc.</i>	Organogénesis indirecta a partir de lámina foliar.	Agua desionizada detergente 5% (v/v) durante 5–10 min + etanol al 70 % 1 min + 3 % (p/v) lejía comercial (1% de hipoclorito de sodio, + agua destilada por 10 min + PPM al 6%.	Medio enriquecido con sales de MS y se suplementado con 1,5 mg L ⁻¹ de Thidiazuron (TDZ), 2,4 Dicolorofenoxiacético y 1,5 mg L ⁻¹ de cinetina.	MS con 1,5 mg L ⁻¹ de Thidiazuron (TDZ). Para el enraizamiento, los brotes se transfirieron a medio MS complementado con auxinas.	La secreción de fenoles se controló mediante la adición de 250 mg L ⁻¹ de carbón activado.
Parris et al. (2012). Estados Unidos.	Híbrido ornamental <i>Magnolia 'Ann'</i>	Yemas apicales y axilares.	Sumergir los explantes en 20% v/v de hipoclorito de sodio (NaOCl 6,15%), con dos gotas de Tween 20 por 17 minutos, seguido de tres enjuagues con agua destilada por 5 minutos.	MS con vitaminas suplementado con BAP 2 μM , sin agente de unión fenólica.	El mejor tratamiento para el enraizamiento fue el medio ½ MS, suplementado con 0,5, 10 o 20 μM de IBA y 1 mg L ⁻¹ de Carbón activado.	La adición de CA a los medios promovió la formación de raíces. Se recomienda explorar más sobre el uso de CA, las concentraciones óptimas y tiempos de exposición.

Autor, año y país.	Especie	Técnica y tipo de explante	Mejor tratamiento en la desinfección	Mejor tratamiento en el establecimiento	Mejor tratamiento en la multiplicación y enraizamiento.	Observaciones y recomendaciones
Radomir, (2012) Rumania.	<i>Magnolia stellata</i> <i>Magnolia x soulangiana</i>	Meristemas con 1-2 primordios foliares tomados de yemas apicales o axilares.	Etanol al 94% por 10 min, Hipoclorito de sodio (NaClO) al 6% por 20 minutos.	MS + vitaminas Linsmaier – Skoog (LS) y 0,7 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ de ANA, 0,1 mg L ⁻¹ de GA ₃ suplementado con 5 mg L ⁻¹ de Ácido ascórbico.	Para la multiplicación MS con vitaminas Miller y 0,5 mg L ⁻¹ BAP o 0,5 mg L ⁻¹ KIN. El mejor medio para enraizamiento fue con ½ MS + vitaminas LS + 4 mg L ⁻¹ de IBA + 0,1 mg L ⁻¹ GA ₃ .	TDZ y 2ip no sirvieron para multiplicación. El ácido ascórbico tuvo un efecto significativamente positivo para disminuir los procesos oxidativos que conducen a la acumulación fenólica.
Hidalgo, (2014). Ecuador.	<i>Magnolia grandiflora</i>	Organogénesis directa, usando yemas apicales.	Hipoclorito de sodio (NaClO) al 2% durante 10 min, logrando el 70% de viabilidad en los explantes. Incubación: a 25°C bajo intensidad lumínica de 2000 a 2500 luxes en fotoperiodo de 12 horas.	MS con vitaminas, 0,2 g L ⁻¹ de CA y ácido ascórbico, 3 mg L ⁻¹ de BAP, presento un 70% de presencia de brotes.	Para la etapa de multiplicación MS con 2 mg L ⁻¹ de BAP, 0,5 mg L ⁻¹ de ANA y 1 mg L ⁻¹ de GA ₃ mostro el 80% de total de explantes con presencia de brotes.	Mayores concentraciones de NaClO lograron menos contaminación, pero mayor necrosis en los explantes. La Brasinolina no produjo ningún efecto significativo en la proliferación de brotes.
Sokolov <i>et al.</i> (2014). Bulgaria	<i>Magnolia soulangeana</i> y <i>Magnolia liliiflora</i>	Brotes axilares latentes	Solución al 0,1% de HgCl ₂ por 3 min y lavado tres veces en agua destilada por 10 minutos cada uno.	MS con 0,5 mg L ⁻¹ de BAP, 0,25 mg L ⁻¹ de ANA y 30 g L ⁻¹ sacarosa.	Vitis médium (VM) con 0,5 mg L ⁻¹ de BAP, 0,2 g L ⁻¹ sacarosa.	ANA causó ennegrecimiento y formación de callo.
Wojtania <i>et al.</i> (2015). Polonia.	<i>Magnolia soulangiana</i> 'Coates'	Organogénesis directa a partir de Yemas apicales y axilares.	No se especifica	BAP 0,2 mg L ⁻¹ , con 20 g L ⁻¹ de sacarosa y nitrógeno (100:100) del medio MS.	MS con 0,25 g L ⁻¹ de BAP, 20 g L ⁻¹ de Sacarosa y Nitrógeno 100% del Medio MS, tuvieron un efecto significativo en la formación de brotes foliares y axilares y disminución del contenido fenólico.	Medio con una alta proporción azúcar/ nitrógeno estimula la producción de fenoles.
Borah <i>et al.</i> (2017). India.	<i>Magnolia punduana</i>	Organogénesis indirecta a partir de Segmentos nodales y yemas axilares	Lavado con detergente por 45 minutos.	MS con 1 µm de BAP y 0,5 µm de IAA y 2,4-D al 1,0 µm, fueron óptimos para la generación de callos.	Combinación de 1 µm de IBA y 0,5 µm de BAP, fueron óptimos para la elongación de los brotes. ½ MS suplementado con 8,0 µm de IBA fue óptimo para el enraizamiento.	BAP es óptimo para el alargamiento de los brotes con una necrosis mínima del Explantes.

Autor, año y país.	Especie	Técnica y tipo de explante	Mejor tratamiento en la desinfección	Mejor tratamiento en el establecimiento	Mejor tratamiento en la multiplicación y enraizamiento.	Observaciones y recomendaciones
Cardozo <i>et al.</i> (2017). Colombia.	<i>Magnolia hernandezii</i>	Organogénesis Indirecta a partir de fragmentos de hoja y segmentos de pecíolo.	Tween 40 durante 10 min, NaClO al 14% por 20 min y alcohol al 70% por 15 min; seguido de tres lavadas con agua destilada. Ácido ascórbico al 20% hasta la siembra.	Se indujeron callos de tamaño pequeño en medio ½ MS, suplementado con 1 mg L ⁻¹ de AIA y BAP.	N/A	Se obtuvieron callos, lo cual ofrece oportunidades para continuar con la diferenciación embriogénica u organogénica.
Quintero, (2018) Colombia.	<i>M. polyhyposphylla</i> , <i>M. hernandezii</i> , <i>M. espinalii</i> y <i>M. yarumalensis</i> ,	Organogénesis directa a partir de Segmentos nodales de posición apical y sub-apical.	Prelavado de los tejidos en solución de MS (0.05 - 0,2%) durante 22 horas, desinfección con etanol al 70% por 1 min y NaOCl al 1,4% por 15 min.	Medio semisólido MS, con 54 mg L ⁻¹ de PVP-40 y sacarosa al 3% (p/v).	N/A	Se hizo acondicionamiento al material vegetal (fase 0) con al menos 4 aspersiones de solución antifúngica de Benomil y Carbendazim en dosis de 2 g L ⁻¹ .
Arteaga, (2019) México.	<i>Magnolia mexicana</i>	Organogénesis directa a partir de yemas axilares.	NaClO 20% (v/v) + plata ionizada y 5 g L ⁻¹ de Terbinafina logró controlar la contaminación del 76% de explantes.	Una concentración de 0,5 mg L ⁻¹ de BAP en medio MS, formo brotes y la presencia 0,25 g L ⁻¹ de ANA, promovió la formación de callo.	La auxina 2,4-D a una concentración de 3 mg L ⁻¹ adicionada con 1 mg L ⁻¹ de BAP, mostró ser útil en la inducción de callo en distintos tipos de explantes.	No se logró determinar un agente inhibidor de fenoles adecuado para tratar los explantes de <i>M. mexicana</i> en cultivo <i>in vitro</i> . Es necesario el control efectivo de la oxidación por fenoles.
Cui <i>et al.</i> (2019). China.	<i>Magnolia sirindhorniae</i>	Organogénesis directa a partir de yemas laterales.	Solución de detergente líquido al 5% (v/v) + agua corriente 1 hora. Se cortaron segmentos (2 a 5 cm) con una o dos yemas + etanol al 75% (v/v) durante 30 s, + cloruro de mercurio al 0,1% (p/v) durante 8 -20 minutos. Lavados con agua destilada estéril cinco veces.	Medio ½ MS suplementado con 2,0 mg L ⁻¹ de BAP, 0,1 mg L ⁻¹ de ANA y 2,0 mg L ⁻¹ de GA ₃ .	Medio revisado de cotiledón de abeto Douglas (DCR) fortificado con 0,2 mg L ⁻¹ de BAP, 0,01 mg L ⁻¹ de ANA. El medio ½ DCR suplementado con 0,5 mg L ⁻¹ de ANA y 0,5 mg L ⁻¹ de IBA. Logro la tasa máxima (85,0%) de inducción de raíces <i>in vitro</i> .	El protocolo descrito se puede aplicar de forma segura para la propagación a gran escala de esta planta.

Autor, año y país.	Especie	Técnica y tipo de explante	Mejor tratamiento en la desinfección	Mejor tratamiento en el establecimiento	Mejor tratamiento en la multiplicación y enraizamiento.	Observaciones y recomendaciones
Kang <i>et al.</i> (2020). China.	<i>Magnolia lucida</i>	Organogénesis directa a partir brotes del tronco.	Etanol al 75% durante 30 s, + bromuro benzalconio al 1% durante 5 min + cloruro de mercurio al 0,1% durante 5 min.	Medio modificado de Murashige y Skoog (ML), con 1 mg L ⁻¹ de (BA) y 0,05 mg L ⁻¹ (NAA), genero tasa de inducción de brotes de 95,56%.	Medio ML con 0,4 mg L ⁻¹ BA y 0,04 mg L ⁻¹ ANA logró la tasa máxima de multiplicación (284,56%). Medio ML suplementado con 0,6 mg L ⁻¹ NAA y 1 mg L ⁻¹ IBA fue el mejor para el enraizamiento.	Se realizó rejuvenecimiento de las plantas por injertos para proporcionar explantes de brotes de tronco a largo plazo. Usaron tratamientos en oscuridad para mejorar el enraizamiento.

CONCLUSIONES

A través de la revisión y análisis de información se logró consolidar información útil e importante que sirve como insumo para diferentes proyectos que se estén realizando o aquellos que se pretendan realizar con fines de conservación y aprovechamiento de las especies de la familia Magnoliaceae en el país y en la región, en los que se empleen técnicas biotecnológicas como la micropropagación.

REFERENCIAS

- Arteaga Rios, L. D. (2019). Caracterización molecular y cultivo *in vitro* de Yoloxóchitl (*Magnolia mexicana* DC.). Tesis de maestría y doctorado en ciencias agropecuarias y recursos naturales, Universidad Autónoma del estado de México.
- Azofeifa, Á. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía mesoamericana*, 20(1), 153-175. <https://doi.org/10.15517/AM.V20I1.4990>
- Borah, R., Kumaria, S., Choudhury, H. (2017). *In vitro* Plant Regeneration of *Magnolia punduana*: An Endemic and Threatened Plant Species. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 27(2), 153-159. <https://doi.org/10.3329/ptcb.v27i2.35020>
- Calderón, E., Á Cogollo, C. Velásquez-Rúa, M. Serna-González., N. García. (2007). Las magnoliáceas. Pp. 45-154. En: García, N. (ed.). Libro Rojo de Plantas de Colombia. Volumen 5: Las magnoliáceas, las miristicáceas y las podocarpaceas. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander Von Humboldt CORANTIOQUIA - Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín - Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 236 p. ISBN: 978-958-8343-13-6.
- Cardozo Pinzón, J. S., Marín Valencia, B. S., Godoy Castaño, J. S., Suárez Román, R. S. (2017). Propagación *in vitro* *Magnolia Hernandezii* (Molinillo) a partir de hojas. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 1(29), 80-85.
- Cicuzza, D., Newton, A., Sara Oldfield (2007). The red list of Magnoliaceae. Fauna & Flora International, Cambridge, UK. 33100 (508) ISBN: 9781 903703 23 6.

- Cogollo-Pacheco, Á., Hoyos-Gómez, S. E., Serna-González, M. (2019). Una nueva especie y otros registros de Magnoliaceae para Colombia. *Brittonia*, 71(1), 32-38. <https://doi.org/10.1007/s12228-018-9554-0>
- Cui, Y., Deng, Y., Zheng, K., Hu, X., Zhu, M., Deng, X., Xi, R. (2019). An efficient micropropagation protocol for an endangered ornamental tree species (*Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin) and assessment of genetic uniformity through. DNA markers. *Scientific reports*, 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-01946050-w>
- Domínguez, F., Chávez, M., Garduño-Ramírez, M. L., Chávez-Avila, V. M., Mata, M., Cruz-Sosa, F. (2010). Honokiol and Magnolol Production by *in vitro* Micropropagated Plants of *Magnolia dealbata*, an Endangered Endemic Mexican Species. *Natural Product Communications*, 5(2), 235-240. 1934578X1000500. <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500213>
- Gallardo, Yobal, S. (2021). Ecología y estado de conservación de *Magnolia alexandrae* García-Morales (Magnoliaceae) una especie endémica del noreste de México Doctoral dissertation, Instituto de Ecología aplicada, posgrado en Ecología y Manejo de Recursos Naturales, Tamaulipas, México.
- González, M. S., Guzmán Vasquez, J. D. (2010). Una mirada a las magnoliáceas colombianas. *Revista Politécnica*, 6(11), 105 - 111.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., & Geneve, R. L. (2011). Hartmann & Kester's plant propagation principles and practices. Eighth Edition. *Pearson Education Limited*. Edinburgh. No. 631.53 H2555p Ej. 1 025385.
- Hidalgo, K. C. (2014). Establecimiento de un protocolo de desinfección, introducción y multiplicación *in vitro* a partir de yemas apicales de plantas juveniles de magnolia (*Magnolia grandiflora*) para la producción masiva, repoblación en el Distrito Metropolitano de Quito (Bachelor's thesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Carrera de Ingeniería en Biotecnología.) Quito. Ecuador.
- Jarret, Litz R.E (1991). Capítulo 7. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: embriogénesis somática y organogénesis. pp. 143-157. En: Roca, W. M., & Mroginski, L. A. Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones. No. 151. Ciat. Cali, Colombia.
- Kang, L., Zheng, K., Xie, Y., Deng, Y., Yu, Y., Zhu, M. Deng, X. (2020). Efficient Tissue Culture Protocol for *Magnolia lucida* (Magnoliaceae) and Confirmation of Genetic Stability of the Regenerated Plants. *Plants*, 9(8), 997-1009. <https://doi.org/10.3390/plants9080997>
- Kelm, M. A., Nair, M. G. (2000). A Brief Summary of Biologically Active Compounds from *Magnolia* spp. *Studies in Natural Products Chemistry*, 24, 845-873. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80056-3](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80056-3)
- Kim, Y. W., Park, S. Y., Park, I. S., Moon, H. K. (2007). Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seeds of *Magnolia obovata* Thunberg. *Plant Biotechnology Reports*, 1(4), 237-242. <https://doi.org/10.1007/s11816-007-0037-0>
- Lee, Y. J., Lee, Y. M., Lee, C.-K., Jung, J. K., Han, S. B., Hong, J. T. (2011). Therapeutic applications of compounds in the Magnolia family. *Pharmacology & Therapeutics*, 130(2), 157-176. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.010>
- Llive, F. M. (2005). Callogénesis *in vitro* de El Redondo (*Magnolia yoronconte* Dandy) a partir de la siembra apolar de explantes foliares. Biblioteca Digital Wilson

- Popenoe. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano (Honduras). CPA-2005T049. pdf. 36 p.
- Lozano-Contreras, G. (1994). Dugandiodendron y Talauma (Magnoliaceae) en el Neotrópico. 3a ed. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, colección Jorge Álvarez Lleras. Bogotá D.C. Colombia. 147p.
- Machoa, Alex, D. M. N. (2018). Temporalidad de fenofases y micropropagación *in vitro* de tres especies relictuales de Magnolia del Occidente de México: implicaciones para su conservación *in situ* y *ex situ*. Tesis Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos de Naturales y Agrícolas, Universidad de Guadalajara, México.
- Maene, L., Debergh, P. (1985). Liquid medium additions to established tissue cultures to improve elongation and rooting *in vivo*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 5(1), 23-33.
- Mata-Rosas, M., Jiménez-Rodríguez, A., Chávez-Avila, V. M. (2006). Somatic embryogenesis and organogenesis in *Magnolia dealbata* Zucc. (Magnoliaceae), an endangered, endemic Mexican species. *HortScience*, 41(5), 1325-1329. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.5.1325>
- Mroginski, P. Sansberro., E. Flaschland. (2004). Capítulo I. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. pp. 17-25. En: Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. 2a ed. Argenbio. Consejo Argentino para la información y desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Olmos, S., Luciani, G., Galdeano, E., Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Mroginski, L. (2010) Parte IV: Micropropagación. Capítulo, 1. pp. 353-362. En: Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. 2a ed. Argenbio. Consejo Argentino para la información y desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.
- Parris, J. K., Touchell, D. H., Ranney, T. G., Adelberg, J. (2012). Basal salt composition, cytokinins, and phenolic binding agents influence *in vitro* growth and *ex vitro* establishment of Magnolia 'Ann'. *HortScience*, 47(11), 1625-1629. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.11.1625>
- Perea Dallos, M., González, T., Campos Mosos, H. A., Guillot Monroy, G., Cogua Suárez, J. E. (2011). Cultivo de tejidos vegetales *in vitro*: manual de prácticas de laboratorio. 1a ed. Proceditor Ltda, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. ISBN: 958-701-372-7. 160p.
- Pérez Castañeda, Á. J. (2015). Taxonomía y conservación de la familia Magnoliaceae en el Ecuador (Master's thesis, PUCE). Maestría en Biología de la Conservación, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Quintero D. (2018). Avances en el establecimiento *in vitro* de cuatro especies de Magnolia. pp. 75-80. En: Toro Murillo, J. L., & Gómez Restrepo, M. L. Avances en la estrategia para la conservación de las especies de la familia Magnoliaceae en jurisdicción de CORANTIOQUIA. Proyecto Conservación y Manejo *in situ* y *ex situ* de Especies Forestales Nativas de Importancia Económica y Ecológica en la

- Jurisdicción de CORANTIOQUIA Medellín: (Boletín Técnico Biodiversidad; No. 6). ISSN 2011- 4087.
- Radice, S. (2010). Capítulo 2. Morfogénesis. pp. 17-25. En: Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. 2a ed. Argenbio. Consejo Argentino para la información y desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.
- Radomir, Ana-María, (2012). Comparative study on the *in vitro* multiplication potential of *Magnolia stellata* and *Magnolia x soulangiana* species. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 16(2), 39-44.
- Rivers, M., Beech, E., Murphy, L., Oldfield, S. (2016). The red list of Magnoliaceae-revised and extended. Botanic Gardens Conservation International. Richmond, Surrey. ISBN-10: 1-905164-64-5, ISBN-13: 978-1-905164-64-6.
- Romero Alves, M. E. (2018). Aplicación del cultivo de tejidos *in vitro* (CTV) para la propagación de especies leñosas. Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Serna-González, M., Urrego-Giraldo, L. E., Santa-Ceballos, J. P., Suzuki-Azuma, H. (2021). Flowering, floral visitors and climatic drivers of reproductive phenology of two endangered Magnolias from neotropical Andean forests. *Plant Species Biology*, 1, 1–18. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12351>
- Serna-González, M., Velásquez-Ruiz, C. (2017). Pollen of colombian Magnolias. *Caldasia*, 39(1), 59-67. <https://dx.doi.org/10.15446/caldasia.v39n1.64315>
- Sharray, S., Adema, M., Abedini, W. (2015). Plantas de probeta. Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. 1a ed. Edulp, Facultad de ciencias agrarias y forestales. Universidad Nacional de la Plata, Argentina. 240p.
- Sokolov, R. S., Atanassova, B. Y., Lakimova, E. T. (2014). Physiological response of *in vitro* cultured *Magnolia* sp. to nutrient medium composition. *Journal of Horticultural research*, 22(1), 49-61. <https://dx.doi.org/10.2478/johr-2014-0006>
- Suárez, Padrón, I. E. (2020). Cultivo de Tejidos Vegetales. 1a ed. Fondo Editorial Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrícolas. Montería Colombia. ISBN 978-958-5104-09-9. 118p.
- Velásquez, C., Serna, M. (2005). Magnoliáceas de Antioquia. 1a ed. Impregón SA. Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe, Corantioquia, Medellín, Colombia. ISBN 958-33-7741-4. 36p.
- Villalobos M. A., Thorpe T. A., (1991). Capítulo 6: Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. pp. 127-141. En: Roca, W. M., & Mroginski, L. A. Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones. No. 151. Ciat. Cali, Colombia.
- Wojtania, A., Skrzypek, E., Gabryszewska, E. (2015). Effect of cytokinin, sucrose and nitrogen salts concentrations on the growth and development and phenolics content in *Magnolia x soulangiana* 'Coates' shoots *in vitro*. *Acta scientiarum polonorum-hortorum cultus*, 14(3), 51-62.