

ARTÍCULO ORIGINAL

**LOS SEGMENTOS NODALES DE *Vitis vinifera* L. VARIEDAD “BORGOÑA” SON AFECTADOS POR EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO**

**THE NODAL SEGMENTS OF *Vitis vinifera* L. “BORGOÑA” VARIETY ARE AFFECTED BY EXPOSURE TIME TO GROWTH REGULATORS**

**Julio Chico-Ruíz<sup>1</sup>; Lisi Cerna-Rebaza<sup>2</sup>; Róger Veneros-Terrones<sup>1</sup>, Alfredo León-Alayo<sup>1</sup>,  
Claudia Díaz-Fernández<sup>1</sup>, Luis Gonzales-Llontop<sup>3</sup>, Joseph Campos-Ruíz<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Cultivo Celulares. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo – PERÚ. [jchico@unitru.edu.pe](mailto:jchico@unitru.edu.pe) // <https://orcid.org/0000-0002-7287-321X>

<sup>2</sup>Laboratorio de Biología. American School. Trujillo-PERÚ.

<sup>3</sup>Laboratorio de Ciencias. Universidad Santiago Antúnez de Mayolo. Moyobamba-PERÚ.

<sup>4</sup>Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca-PERÚ.

**RESUMEN**

*Vitis vinifera* L. “vid” representa uno de los cultivos de importancia agro- económica en nuestra región, lo cual hace necesario mejorar e introducir nuevas variedades que permitan resistencia a factores bióticos y abióticos principalmente. Una alternativa es la propagación in vitro que permite obtener numerosas plántulas con las mismas características, pero primero debemos establecer un protocolo de cultivo in vitro. Para ello nos planteamos evaluar el tiempo que debe ser expuesto el explante in vitro a los reguladores del crecimiento. Se utilizaron segmentos nodales de la variedad “borgoña” y el medio de cultivo fue el de Murashige & Skoog, a la mitad de su concentración, sacarosa (3%) y fitagel (0,3%) al cual se suplementó 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA), en diferentes concentraciones, Los explantes fueron expuestos por 1,2 y 30 días y se evaluó el número de raíces y nudos por explante. Los resultados muestran que la combinación 2,68 uM ANA y 1,87 uM BAP y el explante expuesto por 1 día permiten un mejor desarrollo de las raíces y nudos. Se concluye que es suficiente exponer por un día el explante para que haga efecto el regulador del crecimiento y promueva el desarrollo de la planta in vitro.

**Palabras claves:** vid, *Vitis*, propagación in vitro, regulador del crecimiento.

© Los autores. Este artículo es de acceso abierto. Es publicado por la Revista Sagasteguiana del Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú; y distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) que permite Compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato), Adaptar (remezclar, transformar y construir a partir del material para cualquier propósito, incluso comercialmente) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>).



## ABSTRACT

*Vitis vinifera* L. “grapevine” represents one of the crops of agro-economic importance in our region, which makes it necessary to improve and introduce new varieties that allow resistance to mainly biotic and abiotic factors. An alternative is in vitro propagation, which allows obtaining numerous seedlings with the same characteristics, but first we must establish an in vitro culture protocol. To do this, we consider evaluating the time that the explant in vitro should be exposed to growth regulators. Nodal segments of the “borgoña” variety were used and the culture medium was Murashige & Skoog, at half its concentration, sucrose (3%) and phytigel (0.3%) to which 6-benzylaminopurine was supplemented (BAP) and naphthaleneacetic acid (ANA), in different concentrations. The explants were exposed for 1, 2 and 30 days and the number of roots and nodes per explant was evaluated. The results show that the combination of 2.68  $\mu$ M ANA and 1.87  $\mu$ M BAP and the explant exposed for 1 day allow better development of the roots and nodes. It is concluded that it is sufficient to expose the explant for one day for the growth regulator to take effect and promote the development of the plant in vitro.

**Keywords:** grapevine, *Vitis*, in vitro propagation, growth regulator.

**Historial del artículo:** Recibido: 13 de agosto de 2023. Aceptado: 18 de noviembre de 2023. Publicado online: 30 de diciembre de 2023.

**Citación:** Chico-Ruíz, J.; Cerna-Rebaza, L.; Veneros-Terrones, R.; León-Alayo, A.; Díaz-Fernández, C. & Luis Gonzales-Llontop<sup>3</sup>, J. Campos-Ruíz. 2023. Los segmentos nodales de *Vitis vinifera* L. variedad “Borgoña” son afectados por el tiempo de exposición a los reguladores de crecimiento. *Sagasteguiana* 11(2): 101-110.

## INTRODUCCIÓN

*Vitis vinifera* L. “vid”, es una planta leñosa, originaria del sur del Cáucaso (Asia menor). Sus frutos son utilizados para la extracción y fermentación del zumo, obteniéndose el agua ardiente de uva, diferentes tipos y calidades de pisco además del vino; así también es utilizada como fruta fresca comestible, aportando a la dieta agua y sales minerales. A diferencia de otras frutas tiene un valor energético por su alto contenido en azúcares (Picornell & Melero, 2012; Mostacero & Mejía, 1993).

Los métodos tradicionales de propagación de la vid en escala comercial son por injertos y estacas, estos métodos tienen numerosas ventajas: son económicos, rápidos, simples a partir de la planta madre con la cual se reproducen exactamente sin cambio genético en las generaciones, pero lo negativo de este tipo de propagación vegetativa es que puede verse afectada por diversos organismos patógenos como hongos, bacterias, virus, que invaden sus tejidos y se transmiten fácilmente con estas técnicas de propagación. (Bouquet & Torregrosa, 2003; Hartman & Kester, 1994).

Es posible la propagación asexual de diversos cultivos, utilizando otras técnicas para la obtención de plántulas en forma más rápida y de mejor calidad fitosanitaria, como el cultivo de segmentos nodales “in vitro”, que permite clonar en forma eficaz, plántulas completas a un nivel de proliferación uniforme, en un periodo de tiempo corto, pudiendo disponer de ellas en cualquier época del año e independientemente de la región climática (Cavazos-Galindo et al., 2018; Bhojwani & Razdan, 1983).

En el cultivo “in vitro” de las plantas, los reguladores de crecimiento, especialmente las auxinas y citocininas estimulan el crecimiento, regulan la organogénesis y controlan la formación de raíz y tallo, pues actualmente se conoce que la mayor parte de la actividad fisiológica de las plantas está

mediada por los reguladores de crecimiento (Gutiérrez-Rossati & Gonzales, 2019; Salisbury & Ross, 1994). En los cultivos in vitro cuando se añaden una auxina o una citoquinina o combinadas, se consigue la extensión y/o división celular, la cual va a depender del tipo de explante y la especie vegetal, y el tiempo de exposición a estas sustancias (Bhojwani, 1990; Pierick, 1990; Li & Liu, 2003).

Se revisaron algunas experiencias como las de Alzubi et al (2012) quienes evaluaron el efecto del medio de cultivo (MS, WPM y MM) y los polifenoles, como antioxidantes, en el cultivo in vitro de segmentos nodales de *V. riparia*, encontrando que el medio WPM más 37 mg/l de cisteína promueven el mejor crecimiento y actúa como antioxidante respectivamente. Kinfé et al (2017) se propusieron optimizar un protocolo utilizando MS y cinco diferentes concentraciones de BAP; suplementado con IBA para mejorar la multiplicación y con AIA para inducir las raíces. La combinación 1mg/l de BAP con 0.1 mg/l de IBA mejora la tasa de multiplicación y con 2 y 4 mg/l solo con AIA. García et al (2023) utilizó MS (1/2 concentración) y 0.01% de AIA para producir plantas madres in vitro de la var. cabernet franc, obteniendo un 88% de establecimiento y 79% de enraizamiento y cinco hojas por explante. Neves & Amancio (1995) trabajaron con yemas axilares de *Vitis vinifera* var. "touriga nacional" y no encontraron diferencias significativas cuando utilizó combinaciones de 0.5 mM (ANA) + 5.0 mM (BAP) y 0.25 mM (ANA) + 2.5 mM (BAP).

Este cultivo está extendiendo su área de cultivo y cada año aumentan los volúmenes de exportación, lo cual hace necesario su continuo mejoramiento para los diferentes factores bióticos y abióticos que siempre están interactuando con el cultivo. Con las consideraciones mencionadas, el objetivo es evaluar el crecimiento de los explantes de vid cuando son expuestos, en tiempos diferentes, a las diferentes combinaciones de ácido naftalenacético y 6-bencilaminopurina presentes en el medio de cultivo in vitro.

## MATERIAL Y METODOS

Los explantes se obtuvieron de plántulas "in vitro" de 30 días de edad micropropagados en el laboratorio, teniendo en cuenta que las plántulas presentaron 3-4 nudos como máximo, con la finalidad de mantener la homogeneidad de la muestra.

El medio nutritivo basal fué el de Murashige & Skoog (1962) a la mitad de concentración, suplementado con vitaminas, sacarosa (3%), reguladores de crecimiento (ANA y BAP) -en diferentes combinaciones- y fitagel (0,3 %), ajustándose el pH entre 5,5 – 5,8. El medio preparado se dispensó en frascos de vidrio, luego se autoclavó a 121° C a 1 atm de presión durante 15 minutos.

La siembra del explante se realizó en una cámara aséptica, los frascos fueron rotulados indicando la especie, tipo de explante, tratamiento y fecha de siembra; luego se llevaron a la sala de incubación, en la cual los explantes fueron expuestos a luz blanca, proporcionado por tres fluorescentes de 40 watts cada uno, estableciendo un fotoperiodo de 16:8 y temperatura promedio de 23° C.

El diseño estadístico fue completamente al azar con arreglo factorial 3 x 3 (Tabla 1). Se introdujeron 10 explantes por tratamiento y se repitió tres veces. Cumplido el tiempo de exposición (1, 2 y 30 días) los explantes son trasladados al medio MS sin reguladores del crecimiento, excepto tC, tF y tI en los cuales los explantes estuvieron 30 días expuestos a los reguladores del crecimiento.

Chico-Ruíz et al.: Los segmentos nodales de *Vitis vinifera* son afectados por el tiempo de exposición a los reguladores de crecimiento.

**Tabla 1.** Diseño estadístico con arreglo factorial 3 x 3 utilizado para los segmentos nodales de *V. vinifera* var. "Borgoña".

TIEMPO DE EXPOSICIÓN (DIAS)	COMBINACIONES ANA – BAP ( $\mu$ M)		
	I	II	III
	ANA-BAP 0,53-0,37	ANA-BAP 2,68-1,87	ANA-BAP 5,37-3,75
1	t <sub>A</sub>	t <sub>D</sub>	t <sub>G</sub>
2	t <sub>B</sub>	t <sub>E</sub>	t <sub>H</sub>
30	t <sub>C</sub>	t <sub>F</sub>	t <sub>I</sub>

A los treinta días, para la evaluación se tuvo en cuenta el número de nudos por explante y el número de raíces por explante. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis estadísticos, para el efecto se realizó el análisis de varianza con  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Los tratamientos muestran diferencias en las proporciones de explantes que producen nudos y raíces después de 1,2 y 30 días de estar expuestos a las diferentes combinaciones de ANA y BAP (Tabla 2).

El tratamiento I (ANA 0,53 – BAP 0,37) el número de raíces presentan los promedios más bajos que van desde 0,8 a 1,3, incluso cuando los explantes están expuestos a 30 días con reguladores de crecimiento. Para el número de nudos estos varían de 1,4 a 1,8 no habiendo tampoco diferencias por el tiempo de exposición, salvo a los dos días (1,8). La presencia de raíces para el tratamiento II (ANA 2,68 – BAP 1,87) muestra su valor mas alto (2,8) cuando el explante fue expuesto a un día, estando muy cerca (2,2) al de 30 días; lo mismo se observa para el número de nudos que desarrollan (2,2) por un día, no siendo conveniente un mayor tiempo de exposición. Además, hay que tener en cuenta que en este tratamiento la concentración de ANA es mayor que la del BAP (Tabla 2). En el tratamiento III (ANA 5,37 – BAP 3,75) los promedios más altos se logran cuando los explantes están expuestos por un día, 2,5 para el número de raíces y 1,4 para el número de nudos (Tabla 2). Aquí observamos callos y plantas deformes cuando los explantes están expuestos 30 días a los reguladores del crecimiento.

El análisis por días muestra que los explantes expuestos por un día a los reguladores del crecimiento el mejor tratamiento es el II para raíces y nudos; a los 2 y 30 días los nudos desarrollan mejor en el tratamiento I y las raíces en el tratamiento III a los dos días y tratamiento II a los 30 días.

Con lo expuesto establecemos que el tratamiento II y con un día de exposición a los reguladores del crecimiento es suficiente para inducir el desarrollo de las raíces y nudos en los explantes nodales de la var. borgoña.

Existen diferencias significativas, según el análisis de varianza aplicado para los promedios en el número de nudos y en la inducción raíces en los segmentos nodales de vid, (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

Según los tratamientos propuestos todos ellos tienen mayor concentración de ANA que BAP y estas formulaciones favorecen el desarrollo de raíces y nudos, siendo los favorables cuando se exponen por un día a los reguladores del crecimiento. También se presenta un desencadenamiento fisiológico de la acción hormonal, condicionado por la aplicación, interacción y dosificación de los reguladores de crecimiento.

Al respecto Sheldrake (2021) y Bartel, (1997), señalan que existe un control regido en gran proporción por los gradientes de las sustancias reguladoras del crecimiento, así mismo, el factor tiempo influye significativamente para que los explantes produzcan nuevas y visibles características morfológicas, tal es así que una exposición de 1 día (24 horas) del explante al medio resultó ser el tratamiento más adecuado, (Tabla 2, II) esto se debería a la acción conjunta del tiempo de exposición y dosificación de los reguladores de crecimiento, y por la capacidad de absorción de los tejidos por difusión, a velocidades suficientemente altas (Hu et al., 2017), esto se observó en estacas de ciruelo mediante la aplicación de auxina (IAI), radiactiva a 400 ppm por 5 segundos, en la cual la auxina era absorbida y distribuida a lo largo de la estaca en 24 horas (Hartmann & Kester 1994). De igual modo se conoce la habilidad de las citoquininas para moverse por difusión (Wang & Chong, 2016; Xu et al., 2019)

**Tabla 2.** Promedios de las variables número de raíces y número de nudos por explantes de *V. vinifera* var. "Borgoña" expuestos a tiempos y concentraciones diferentes de ANA- BAP. La evaluación fue a los 30 días de introducidos los explantes.

TRATAMIENTO (DÍAS)	Nº RAÍCES			Nº NUDOS		
	I	II	III	I	II	III
1	0,8	2,8	2,5	1,4	2,2	1,4
2	1,0	1,3	2,3	1,8	0,4	1,0
30	1,3	2,2	0,7	1,4	0,3	0,2

I, II, III: Tratamientos

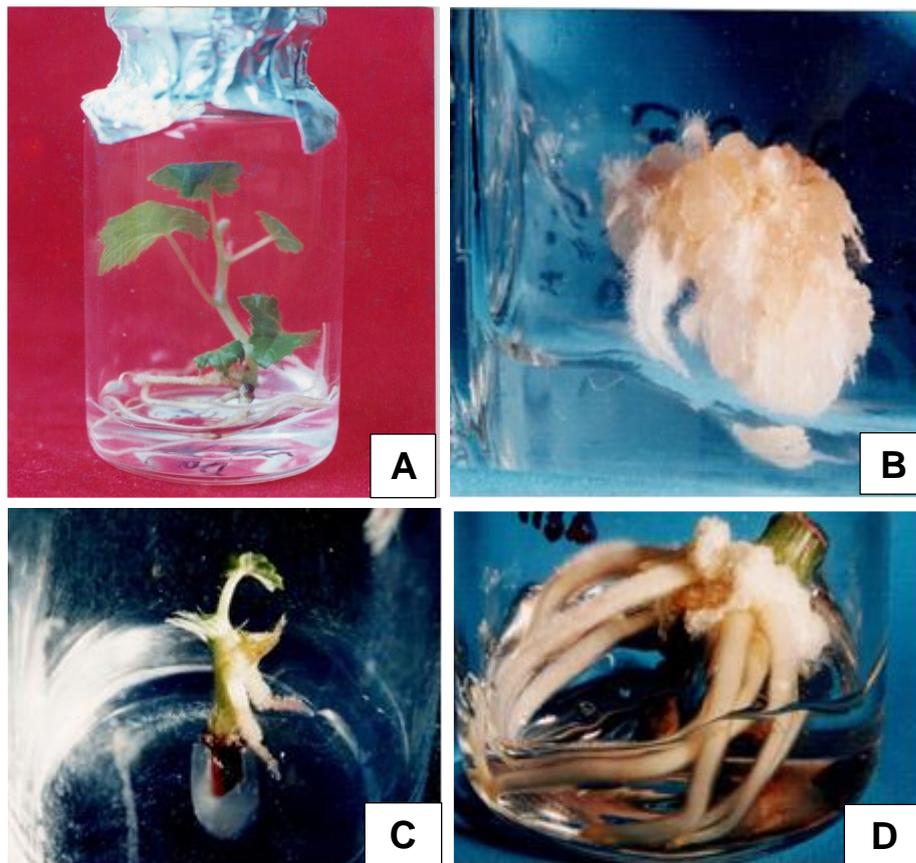
**Tabla 3:** Análisis de varianza para las variables número de raíces y número de nudos para los explantes de *V. vinífera* var. “Borgoña” expuestos a tiempos y concentraciones diferentes de ANA – BAP.

	Nº DE RAICES			Nº DE NUDOS		
	Fw	Ft		Fw	Ft	
<b>a</b>	5,52	3,11	*	2,89	3,11	*
<b>b</b>	1,87	3,11	*	6,77	3,11	*
<b>axb</b>	5,85	2,48	*	3,57	2,48	*
			no			no

a. concentración  
 b. tiempo  
 \* significativamente  
 Pei = 0.05

Un tiempo mayor de exposición del explante a los reguladores del crecimiento, no resultó ser beneficioso debido a la presencia de callo o plántulas deformes y esto se puede explicar por el efecto tóxico que se presenta en los tejidos por concentraciones elevadas de los reguladores, p.e. el ANA y el BAP tienden a acumularse en el tejido por tiempo mas prolongado, al respecto Munguía & Martínez (2018), refieren que las auxinas sintéticas son mas estables debido a que existen pocos sistemas enzimáticos que las ataquen fácilmente por lo que tienden a acumularse hasta el punto de llegar a ser tóxicos. Moncalean et al. (1997), explica que la concentración de BA en el medio de cultivo puede ser perjudicial para el crecimiento de los tallos y la expansión de las hojas, además de promover la hiperhidratación. Para Santner & Estelle, (2009) y Bondada (2011) el BA actúa directamente sobre los tejidos y no a través de la inducción de síntesis de citoquininas naturales. A las 36 horas está libre, luego se asocia a su ribósido (RBA), aquí se inactiva y se almacena.

La proporción auxina/citoquina es constante en los tratamientos con un valor de 1.4 (Tabla 2) y es conocido el efecto sinérgico del BAP y una auxina lo cual ha sido demostrado en muchas plantas. Una baja concentración de una auxina en combinación con una citoquinina modifica positivamente la frecuencia de la inducción del vástago y su crecimiento, lo cual se observa en II, TD, para nudos y raíces (Tabla 2). Un incremento en la concentración auxínica facilita la formación de los callos. El BAP a una alta concentración no sólo reduce el número de vástagos, sino que también frena su crecimiento (Martin, 2003; Li y Liu, 2003) o que la síntesis de auxinas, etileno y ácido jasmónico inducen las raíces adventicias (Druege et al., 2016).



**Fig. 1.** Desarrollo in vitro de los segmentos nodales de la var. borgoña. A. plántula in vitro con crecimiento normal. B. organogénesis de un callo con crecimiento de raíces. C. plántula in vitro con crecimiento anormal. D. crecimiento excesivo de raíces a partir de un segmento nodal. A. Tratamiento II de un día. B, C y D crecimiento a los 30 días de expuestos a reguladores del crecimiento.

Se postula que las auxinas controlan la expresión genética a través de una familia de genes funcionalmente distintos, que son los Factores de respuesta a auxinas (ARF) que confieren especificidad a la respuesta a las auxinas mediante la selección de genes diana como factores de transcripción (Li et al., 2016; Tsukaya, 2000).

En general todos los procesos de crecimiento in vitro son altamente dependientes de las interacciones de los reguladores naturales endógenos y los análogos de los reguladores añadidos al medio, por lo tanto, el estado fisiológico del material vegetal es de mayor importancia. Futuras investigaciones en el cultivo “in vitro” de vid permitirán desarrollar un eficiente protocolo de micro propagación para las variedades de importancia económica.

## CONCLUSIONES

La combinación ANA (2,6  $\mu\text{M}$ ) y BAP (1,8  $\mu\text{M}$ ) en el cual, los explantes son expuestos por 24 horas, fué el mas adecuado para la inducción en número de raíces y número de nudos a partir de segmentos nodales de vid provenientes de micropropagación. Es suficiente que el explante sea

Chico-Ruíz et al.: Los segmentos nodales de *Vitis vinifera* son afectados por el tiempo de exposición a los reguladores de crecimiento.

expuesto 1 día a los reguladores del crecimiento para obtener los mejores resultados, pues los resultados no son óptimos a los 2 y 30 días.

### CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

J.C., L.C., R.V., A.L., C.D., L.G. & J.C: Recolección de información, realización de la experimentación y redacción del manuscrito original; todos los autores han leído el manuscrito final y autorizan su publicación.

### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzubi, H.; L. Yepes & M. Fuchs.** 2012. Enhanced micropropagation and establishment of grapevine rootstock genotypes. *Int J Plant Dev Biol* 6:9–14
- Bartel, B.** 1997. Auxin biosíntesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 51-66.
- Bhojwani, S.S.** 1990. *Plant Tissue Culture. Applications and Limitations.* Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Bhojwani, S.S. & M.K. Razdan.** 1983. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice.* Elsevier. New York
- Bondada, B.R.** 2011. Micromorpho-Anatomical Examination of 2,4-D Phytotoxicity in Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Leaves. *J Plant Growth Regul* 30:185–198
- Bouquet A. & L. Torregrosa.** 2003. Micropropagation of the grapevine (*Vitis* spp.). In: Jain SM, Ishii K (eds) *Micropropagation of woody tres and fruits.* Kluwer Academic, Dordrecht, pp 319–352
- Cavazos-Galindo J.M.; O. Alvarado-Gómez; J. Santos-Haliscak; G. Moreno-Degollado; H. Rodríguez & M. Ojeda-Zacarías.** 2018. Propagación clonal de dos cultivares adultos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su conservación in vitro. *Polibotánica* 45: 181-190
- Druege U.; P. Franken & M. Hajirezaei.** 2016. Plant hormone homeostasis, signaling, and function during adventitious root formation in cuttings. *Front. Plant Sci.* 7:381.
- García S.; E. González; O. Ruiz; M. Pacheco; M. Gutiérrez; E. Fernández & H. Pedranzani.** 2023. In vitro micropropagation of *Vitis vinifera* L. var. Cabernet Franc and callus production. *Asian Journal of Agriculture and Allied Sciences* Volume 6(1):30-38
- Gutiérrez-Rosati, A. & P. Gonzales.** 2019. Reguladores de crecimiento en el cultivo in vitro de tres cultivares portainjertos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su uso en la industria del pisco. *Scientia Agropecuaria* 10(4): 461-468.
- Hartman, H. & Y Kester.** 1994. *Propagación de plantas, principios y prácticas.* Editorial Continental S. A. México, D.F.
- Hu W.; S. Fagundez; L. Katin-Grazzini; Y. Li; W. Li; Y. Chen; X. Wang; Z. Deng; S. Xie; R. McAvoy & Y. Li.** 2017. Endogenous auxin and its manipulation influence in vitro shoot organogenesis of citrus epicotyl explants. *Horticulture Research* 4, 17071
- Ke-dong, X.; W. Wang; Y. De-shui; L. Xiao-li; C. Jia-min; F. Bo-jin; Y. Zhao; C. Meng-jia; L. Xin-xin & L. Cheng-wei.** 2019. NAA at a high concentration promotes efficient plant regeneration via direct somatic

Chico-Ruiz et al., Los segmentos nodales de *Vitis vinifera* son afectados por el tiempo de exposición a los reguladores de crecimiento.

embryogenesis and SE-mediated transformation system in *Ranunculus sceleratus*. *Scientific Reports* 9:18321

**Kinfe B.; F. Tileye & B. Girma.** 2017. In vitro micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. *African Journal of Biotechnology* Vol. 16(43), pp. 2083-2091

**Li, Z. & Z. Liu.** 2003. Effects of benzyladenine and naphthalene acetic acid on growth and camptothecin accumulation in *Camptotheca acuminata* seedlings. *J. Plant Growth* 22:205-216

**Li S.-B.; Z. Xie; C.-G. Hu & J. Z. Zhang.** 2016. A Review of auxin response factors (ARFs) in plants. *Front. Plant Sci.* 7:47.

**Martin, K.P.** 2003. Rapid in vitro multiplication and ex vitro rooting of *Rotula aquatica* Lour., a rare rheophytic woody medicinal plant. *Plant Cell Rep.* 21:415-420

**Moncalean, P.; M.J. Cañal; A. Rodríguez; I. Feito & B. Fernández.** 1997. Pauta de aplicación de BA al medio de cultivo y respuesta morfogénica en explantos de *Actinidia deliciosa* cultivados in vitro. XII Reunión de la Soc. Esp. Fisiol. Veg. y V Cong. Hispano-Luso de Fisiol. Veg. Libro de Resúmenes. 314 p.

**Mostacero, L. J. & C. Mejía.** 1993. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. CONCYTEC. Perú.

**Munguía, A. & M. Martínez.** 2018. Las auxinas: síntesis, transporte y señalización. *Biológicas*, 20(1): 1 – 7

**Murashige, T. & F. Skoog.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497.

**Neves, C.C. & S. Amancio.** 1995. Multiplicação in vitro de videira e controlo da vitrificação e do enraizamento. XI Reunión Esp. Fisiol. Veg. y IV Cong. Luso-Espanhol de Fisiol. Veg. Libro de Resúmenes. 235 p.

**Picornell, M.R. & J.M., Melero.** 2012. Historia de cultivo de la vid y el vino; su expresión en la Biblia. *Revista de la Facultad de Educación de Albacete*, Nº 27. (Enlace web: <http://www.revista.uclm.es/index.php/ensayos>

**Pierik, R. L. M.** 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Editorial Mundi Prensa. Madrid. España.

**Salisbury, F.B & W. Ross.** 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamericana: México D. F.

**Santner, A. & M. Estelle.** 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature* 459: 25

**Sheldrake, R.** 2021. The production of auxin by dying cells. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 72(7): 2288–2300,

**Tsukaya, H.** 2000. The role of meristematic activities in the formation of leaf blades. *J. Plant Res.* 113:119–126.

**Wang L. & K. Chong.** 2016. The essential role of cytokinin signaling in root apical meristem formation during somatic embryogenesis. *Front. Plant Sci.* 6:1196.

Chico-Ruíz et al.: Los segmentos nodales de *Vitis vinífera* son afectados por el tiempo de exposición a los reguladores de crecimiento.