



REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD JAVERIANA

CONTENIDO

	Pág.
EDITORIAL	7
TRABAJOS DE INVESTIGACION	11
Obtención <i>In Vitro</i> de yemas adventicias de <i>Podocarpus guatemalensis</i> (Standley): Esperanza Buitrago & Elizabeth H. de Jaramillo	13
Contribución al conocimiento de los odonata-Zigoptera de Colombia: los adultos de <i>Enallagma civile</i> (Hagen) y <i>Cianallagma lateralle</i> (Selys) (ODONATA: COENAGRIONIDAE): Fernando Cruz	27
Soluciones periódicas clásicas de la ecuación $L[\mu] \equiv b(1 + \ \Delta x^n\ ^2)$ y sus aplicaciones: José Humberto Serrano D.	35
Dermatoglifos en una población colombiana: María Victoria Vargas & Indiana Bustos	47
NOTAS	63
Una aproximación a la división prochlorophyta, nuevo grupo de algas: Santiago R. Duque E.	65
Un método elemental para encontrar números irracionales: Iván Castro Chadid	77
Notas sobre la vegetación acuática de Colombia II: Fisionomía: Udo Schmidt-Mumm	85
RESUMENES DE LOS TRABAJOS DE GRADO	121
Bacteriólogo	123
Biólogo	130
Nutricionista-Dietista	133
Matemático	136

OBTENCION *IN VITRO* DE YEMAS ADVENTICIAS DE *Podocarpus guatemalensis* (STANDLEY)

Esperanza Buitrago B¹
Elizabeth H. de Jaramillo²

RESUMEN

Se establecieron las condiciones para la obtención *In Vitro* de yemas adventicias a partir de yemas terminales de *Podocarpus guatemalensis* (Standley).

La desinfección de los explantes se llevó a cabo con hipoclorito de sodio al 2.5 por 100 durante cuatro minutos. La formación de las yemas adventicias se estimuló con la inmersión de las yemas en una solución de EDTA-Na (100 mg/L) durante veinte minutos antes de la siembra en medio Gresshoff y Doy (G.D.) líquido, suplementado con ANA (0,0 – 0.02 mg/L) y BA (2.5 – 5.0 mg/L). Las yemas se mantuvieron bajo luz roja en un fotoperíodo de 16 horas a 24°C.

A los 30 días de cultivo se transfirieron a medio G.D. diluido 1:1, libre de hormonas y suplementado con glicina al 5 por 100, sacarosa al 3 por 100 y carbón activado al 1 por 100, con el fin de estimular el desarrollo de los primordios de yemas adventicias. Se obtuvieron de 1 a 10 yemas adventicias por explante.

-
1. Bióloga. Unidad de Biología Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Dirección Actual: Fundación La Salle, EDIMAR. Apartado 144 Porlamar 6301A, Venezuela.
 2. Unidad de Biología Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.

ABSTRACT

Conditions for obtaining adventitious buds from shoot tips of Podocarpus guatemalensis (Standley) cultured in Vitro were established.

The explants were surface sterilized by immersion in 2.5 per 100 sodium hypochlorite for four minutes. The formation of adventitious buds was stimulated soaking the shoot tips in 100 mg/L EDTA solution for 20 minutes before transferring them on a ANA (0.0–0.02 mg/L) and BA (2.5–5.0 mg/L) supplemented Gresshoff and Doy (G.D.) liquid medium. The buds were cultured under red light and a photoperiod of 16 h. at 24°C.

After 30 days of culture, the buds were transferred to G.D. medium diluted 1:1, without hormones and supplemented with 5 per 100 glicine, 3 per 100 sucrose and 1 per 100 actived charcoal to stimulate the development adventitious bud primordia. Each explant formed 1 – 10 adventitious buds.

Palabras clave: Micropropagación - PODOCARPACEAE.

INTRODUCCION

Colombia cuenta con una gran riqueza forestal, el 34.4 por 100 de la superficie del país corresponde a bosques comerciales no intervenidos. Estos bosques son talados a un ritmo muy alto; estudios realizados en 1984, revelan una tala de 1.4 millones de hectáreas por año (PLANIF, 1984; SUAREZ et al., 1984).

Esta deforestación masiva representa un impacto ecológico y una pérdida invaluable de recursos genéticos; adicionalmente, la alteración de la masa vegetal inicial, crea un desequilibrio ecológico, cuyas repercusiones involucran entre otras, cambios en el clima, erosión y disminución del poder de retención del agua en las cuencas hidrográficas (KONG ET AL., 1981).

Aunque los programas de forestación en Colombia se han visto intensificados en los últimos años, la reposición del bosque es muy lenta, comparada con la alta tasa de tala (MONDRAGON, 1985). La forestación se lleva a cabo principalmente con especies foráneas. Es así como se han introducido al país diversas especies de coníferas que reemplazan al bosque nativo (SUAREZ et al., 1984), por poseer su madera un alto valor comercial, cuya demanda aumenta día a día a nivel mundial (BONGA, 1977; JOHN, 1983; SOMMER & CALDAS, 1981).

La madera de las coníferas es ampliamente utilizada para múltiples fines. Se calcula que el 90 por 100 de la materia prima para la fabricación de papel proviene de madera de coníferas; paralelamente al incremento en el consumo de estos productos básicos, crece la demanda por esta materia prima (LAMPRECHT, 1970).

Las selvas colombianas cuentan con coníferas nativas de la familia *PODOCARPACEA* (BUCHHOLZ & GRAY, 1984), cuya madera representa un potencial económico comparable al de los pinos boreales (VEILLON, 1962). Sin embargo estas especies autóctonas no han sido incorporadas a los programas de reforestación debido en parte a la dificultad que implica su propagación vegetativa (JAIMES, 1980) la cual representa problemas y ofrece limitadas posibilidades (CALDAS, 1978; CHENG, 1976; JOHN, 1983).

En las últimas décadas se han desarrollado nuevos métodos de propagación clonal de especies vegetales, los cuales pueden disminuir algunos de los problemas inherentes a los procedimientos tradicionales, y permitir la propagación rápida y masiva de genotipos seleccionados (BONGA, 1977; CHENG, 1979; THORPE & BIONDI, 1983).

Estas técnicas consisten en cultivar *In Vitro* células, tejidos y órganos, aislados de la planta bajo condiciones ambientales controladas y adecuadas que pueden permitir la propagación de individuos idénticos a la planta original (HARTMANN & KESTER, 1975; MURASHIGE & HUANG, 1984).

Uno de los sistemas utilizados para lograr la propagación masiva, es la inducción de yemas adventicias y su posterior diferenciación, ya que a partir de un sólo explante se puede obtener un gran número de yemas adventicias y cada una podría dar lugar a un árbol réplica del donante (THORPE & PATEL, 1984).

Podocarpus guatemalensis, es una conífera perteneciente a la flora Colombo-Venezolana, que crece en bosques húmedos de tierras bajas. La madera de esta especie es de características similares a las de *Podocarpus oleiifolius*, muy apreciada por su alto valor comercial (VEILLON, 1962).

Dada la importancia de desarrollar programas de silvicultura con especies nativas, y así contribuir al mantenimiento de los procesos biológicos en nuestros ecosistemas, y responder al mismo tiempo a una alta demanda comercial con madera de buena calidad, se realizó el presente trabajo con el fin de desarrollar metodologías para la obtención de yemas adventicias de *Podocarpus guatemalensis* como primer paso para lograr su propagación masiva.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron yemas terminales de *Podocarpus guatemalensis* tomadas de ejemplares de seis años de edad, suministrados por el Jardín Botánico de Bogotá, provenientes de Mocoa (Putumayo).

La obtención del explante se realizó a partir de plantas en el invernadero, eliminando las yemas terminales para inducir el desarrollo de yemas jóvenes. Las

yemas se cortaron después de tres meses y se colocaron inmediatamente en agua destilada con el fin de evitar su marchitamiento, se llevaron al laboratorio, donde se sumergieron en una solución antioxidante de ácido ascórbico (100 mg/l) durante 20 minutos (CARRIZOZA, 1984).

Se evaluaron diferentes tiempos de desinfestación en hipoclorito de sodio al 2.5 por 100, utilizando diferentes tamaños de explantes. Posteriormente se lavaron las yemas cuatro veces en agua destilada estéril, con el fin de eliminar los residuos de desinfectante en el tejido. La disección se realizó a continuación bajo condiciones de asepsia, se retiraron cuatro, cinco o seis primordios foliares dependiendo del tamaño del explante deseado, se aisló la yema del tallo y se sembró en frascos de vidrio que contenían 20 ml de medio estéril; los frascos se sellaron con papel de aluminio y una película plástica autoadherible con el fin de evitar la contaminación y regular así las condiciones de humedad para el cultivo.

Como medio básico se empleó la formulación de Gresshoff y Doy (G.D.), modificado por Sommer (SOMMER & BROWN, 1975), se ajustó el pH a 5.8 y se esterilizó en autoclave a 15 atmósferas de presión durante 15 minutos. Se incubaron en cámaras de crecimiento, con fotoperíodos de 16 horas, se evaluó el efecto del tratamiento con luz roja en la inducción de las yemas adventicias.

El medio básico se evaluó en forma sólida utilizando como agente solidificante agar-agar al 0.4 por 100, y en forma líquida con un soporte de fibra sintética (100 por 100 poliéster).

Se analizaron variantes en el medio como la adición de glicina, hidrolizado de caseína y pretratamientos con ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Se evaluaron cuarenta tratamientos hormonales, utilizando 6, benciladenina como citoquina y ácido naftalenacético como auxina, en rangos de 0.0 a 18.0 y 0.0 a 0.2 mg/l respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante la aplicación de un modelo factorial, con el fin de probar por separado el efecto de las hormonas aplicadas y detectar si existía interacción entre estas.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los tratamientos de desinfestación evaluados se determinó que el mejor tamaño fue de 3 a 5 mm. con un tiempo de desinfestación de cuatro minutos en hipoclorito de sodio al 2.5 por 100.

La formación de yemas adventicias *in Vitro* requiere en general de tres etapas; los requerimientos óptimos para cada etapa deben ser determinados experimentalmente para cada especie estudiada.

Inducción: El tratamiento con luz roja favorece la formación de las yemas adventicias, (Figura 1), lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos por KADKADE en 1978 quien evaluó la influencia de la calidad de la luz en la organogénesis (KADKADE & JOPSPN, 1978). MURASHIGE & HUANG, 1984, sugieren que puede existir un papel del fitocromo en este proceso.

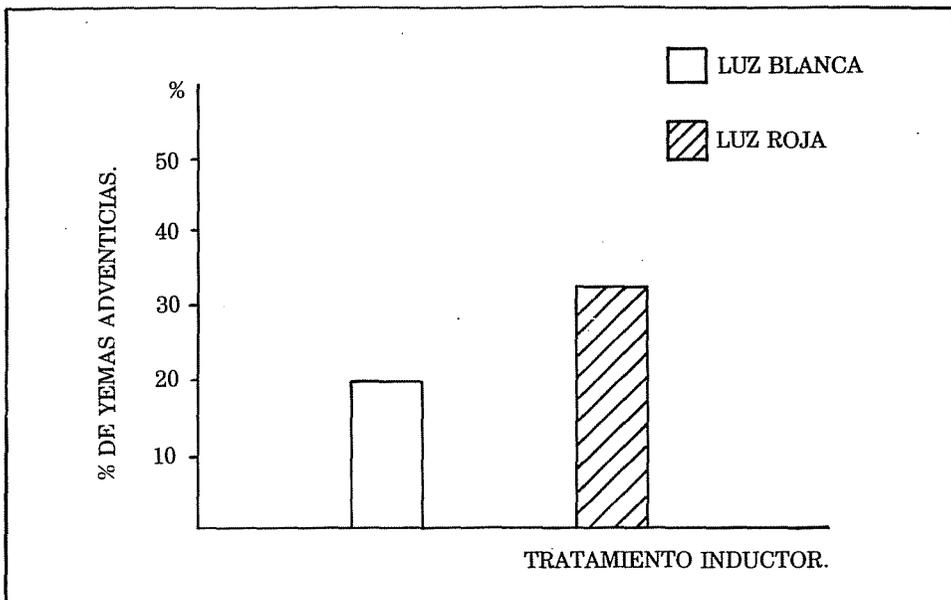


Figura 1. Influencia de la luz roja en la formación de yemas adventicias.

La Tabla 1 muestra el efecto del agar y del medio líquido con soporte de fibra sintética sobre la oxidación y la contaminación de las yemas; se encontró que el medio líquido con la fibra favorece la supervivencia de las yemas, al reducir el porcentaje de oxidación.

En las yemas sembradas en medio sólido, se observó la producción de sustancias fenólicas que causaron la oxidación del tejido. En medio líquido la oxidación se redujo posiblemente debido a que las sustancias tóxicas se pueden difundir y alejar del tejido más fácilmente (HARTMANN & KESTER, 1975; ROMBERGER et al., 1970).

Las respuestas morfogénicas de las yemas a los tratamientos hormonales evaluados se analizaron en porcentajes de oxidación, porcentajes de formación de callos y porcentajes de formación de yemas adventicias. A medida que se incrementa la concentración del ANA, aumenta el porcentaje de formación de callos (Figura 2), sin embargo se pueden considerar como adecuados para la inducción de yemas adventicias niveles de ANA iguales o inferiores a 0.02 mg/L.

En los resultados del análisis factorial (tabla 2) se observa que no se encontró un nivel significativo del efecto del ANA como inductor de yemas adventicias, si se analiza separadamente del BA. El BA presenta un efecto más marcado en la morfogénesis, encontrando que hay inducción de yemas adventicias en un rango de concentraciones que va desde 2.5 a 10.0 mg/L. Sin embargo, se puede delimitar el intervalo de BA óptimo entre 2.5 y 5.0 mg/L (Figura 2).

TIPO DE MEDIO \ EFECTO	% DE OXIDACION	% DE CONTAMINACION
SOLIDO (AGAR)	23	7.1
LIQUIDO (FIBROTEX)	14.3	1.4

Tabla 1. Influencia del tipo de medio sobre la oxidación y la contaminación de las yemas.

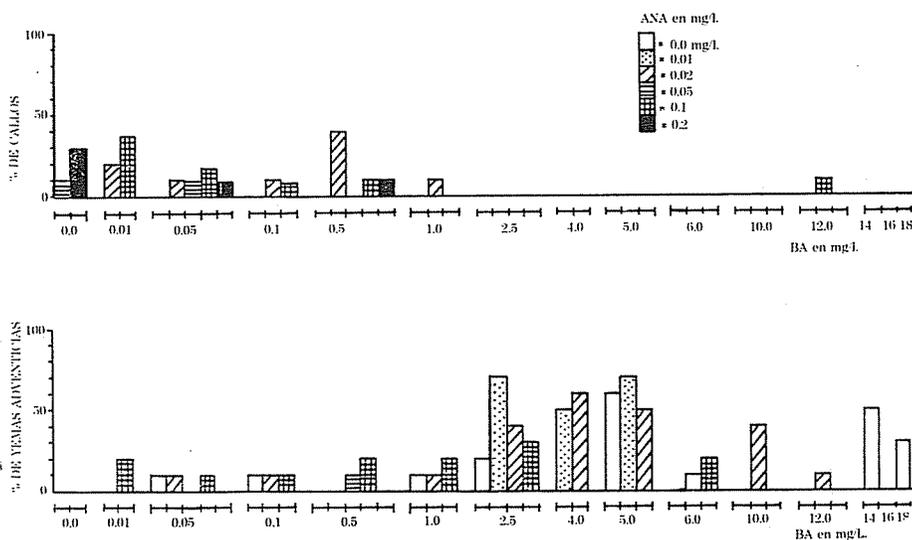


Figura 2. Porcentaje de yemas adventicias y de callos en los tratamientos hormonales evaluados.

FUENTE DE VARIACION	g.l.	SC	MC	F
ANA	2	1.1	0.55	0.46 NS
BA	3	14.7	4.9	4.13 *
Interacción	6	146.7	24.45	20.50 **
Error	108	128.3	1.19	
Total	119	306.6		

Tabla 2. Análisis de varianza para los tratamientos hormonales evaluados.

Del análisis estadístico se concluye que existe efecto altamente significativo en la interacción de las hormonas, lo que indica la importancia de que exista una relación adecuada citoquinina-auxina, para así obtener una respuesta morfogénica efectiva. Este resultado ya había sido evidenciado por algunos autores, aunque no se había descrito un análisis estadístico que lo corroborara (CAMPBELL & DURZAN, 1975; REILLY & BROWN, 1976).

La relación citoquinina-auxina es un factor crítico en la dirección de la organogénesis, hecho observado en esta investigación. Cuando dicha relación fué baja, indujo la formación de callos. En una relación adecuada de estas hormonas se produjo en unos casos la elongación y el desarrollo de la yema pero sin obtenerse yemas adventicias, y en otros, también la formación de callo. Finalmente, una relación citoquinina-auxina alta en los intervalos óptimos descritos anteriormente provocó el desarrollo de yemas adventicias.

Los primordios de yemas adventicias se observaron por primera vez en las cuatro semanas de inducción, los cuales se presentan como pequeños abultamientos verdes, a partir de los cuales se desarrollan dos tipos de yemas adventicias: Unas de aspecto vidrioso, translucidas, formadas hacia la parte basal del explante, que cuando se transfirieron al medio de cultivo para su desarrollo se oxidaron rápidamente (Figura 3).

El otro tipo de yemas adventicias observado fué más generalizado; son yemas redondas, verdes, se presentaron en número variable de uno a diez por explante y se localizaron en la parte media de la yema o cubriéndola completamente (Figura 4).

Se realizó un análisis de varianza completamente aleatorio, con el fin de establecer si los tratamientos evaluados presentan diferencias significativas en función de sus efectos sobre el número de yemas obtenidas. En la tabla 3 se muestra el número de yemas adventicias por explante para cada tratamiento. El resultado de dicho análisis indica que existen diferencias significativas entre los

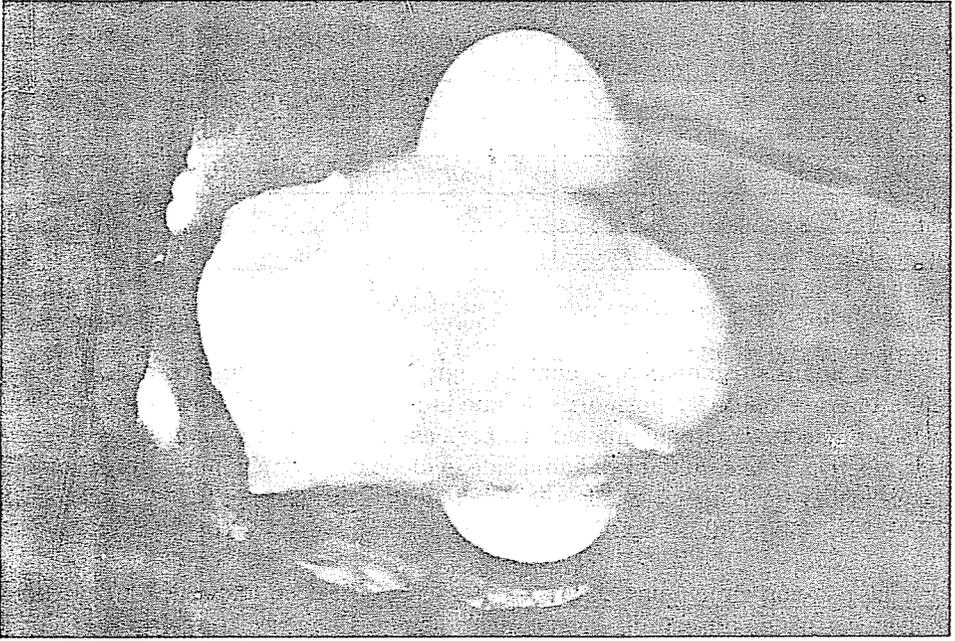


Figura 3. Yemas adventicias translucidas de *Podocarpus guatemalensis*.



Figura 4. Yemas adventicias *Podocarpus guatemalensis*

tratamientos, y por lo tanto es imposible seleccionar los más efectivos. En la Figura 2 se observa que éste intervalo de tratamientos está entre 2.5 y 5.0 mg/L de BA y 0.0 y 0.02 mg/L de ANA.

Se evaluó la adición de glicina (40 mg/L) y de hidrolizado de caseína (50 mg/L) al medio de cultivo, encontrando que la primera tuvo un efecto marcado sobre la

TRATAMIENTOS HORMONALES	NUMERO DE YEMAS ADVENTICIAS POR EXPLANTE DUPLICACIONES									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A ₁	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₂	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₄	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₅	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₆	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
A ₇	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₈	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₉	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0
A ₁₀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A ₁₁	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
B ₁	2	1	4	10	1	2	2	0	0	0
B ₂	1	1	1	0	0	4	3	0	0	0
B ₃	0	1	8	3	0	0	2	2	4	1
B ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₂	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₃	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₅	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₆	1	1	2	3	0	0	0	0	0	0
C ₇	1	5	2	2	2	2	0	0	0	0
C ₈	2	1	4	2	2	0	0	0	0	0
C ₉	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₁₀	0	0	2	1	4	1	0	0	0	0
C ₁₁	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D ₃	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₁	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₂	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₃	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₄	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₅	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₆	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
E ₇	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₈	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F ₃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 3. Número de yemas adventicias por explante, para los tratamientos evaluados.

reducción de la oxidación, y por otra parte le confirió al explante un aspecto sano y fuerte. DURZAN, (1982), habla de la importancia de la adición de aminoácidos al medio, debido a que los reguladores de crecimiento presentes en el medio promueven el crecimiento celular (DURZAN, 1982). El efecto del hidrolizado de caseína fué negativo, ya que produjo el 100 por 100 de oxidación de los explantes.

BONGA (1981) y BONGA & DURZAN (1983), mencionan el efecto organogénico de algunas sustancias utilizadas en pretratamientos. En este trabajo se evaluó el efecto inductor de yemas adventicias del ácido etilendiaminotetracético (EDTA); se observó un fuerte estímulo en la formación de yemas adventicias debido a la inmersión de las yemas en el EDTA antes de ser sembradas (Figura 5). El porcentaje de yemas adventicias se duplicó y las yemas así formadas presentaron mayor vigor que las obtenidas sin la utilización del pretratamiento. Este efecto estimulante del EDTA se debe tal vez a que aumenta la permeabilidad de las membranas celulares (BONGA, 1981) y permite por lo tanto una mayor interacción entre las sustancias nutritivas y hormonales del medio y el explante.

Desarrollo: Se utilizó medio G.D., diluido a la mitad y sin la adición de factores de crecimiento.

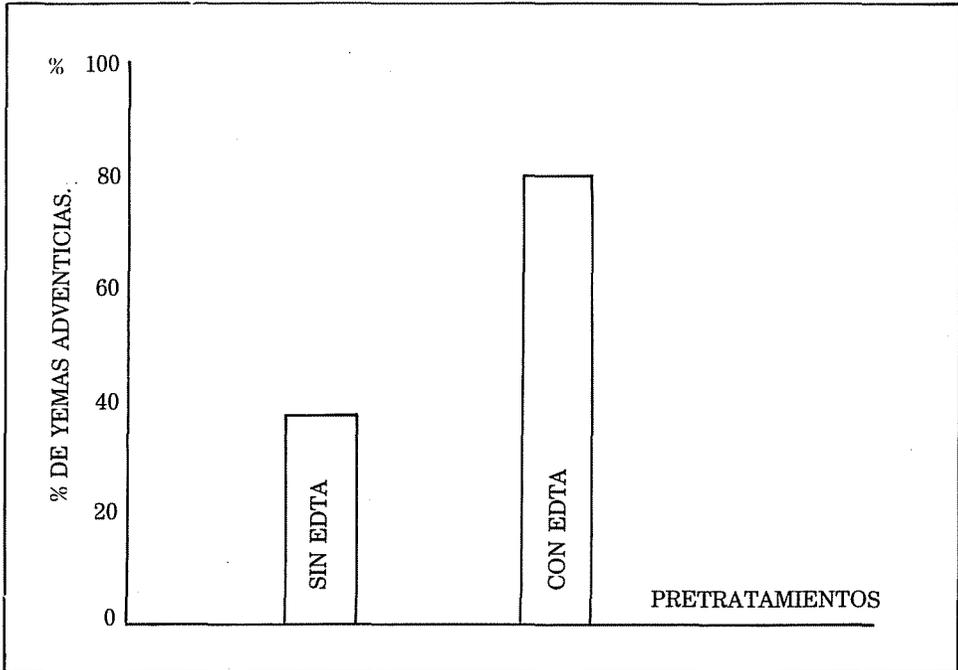


Figura 5. Porcentaje de yemas adventicias obtenidas con y sin edta. (100 mg/l.).

Se encontró que una concentración de sacarosa de 30 mg/L favorece la supervivencia y el desarrollo de las yemas, lo cual indica, que posiblemente en este estado las yemas adventicias, no estén fotointetizando activamente y requieran de niveles altos de una fuente de carbono.

Se evaluó el efecto del ácido giberélico sobre la elongación de las yemas adventicias, encontrándose que para *Podocarpus guatemalensis* el efecto es negativo, por cuanto provoca la oxidación parcial o total.

Obtención de brotes: Para obtener brotes a partir de las yemas adventicias es necesaria la transferencia de estas a un medio con concentraciones de nutrientes muy reducidas, esto con el fin de inducir respuesta morfogenética con órganos capaces de fotosintetizar y obtener plantas completamente autótrofas.

En este trabajo se seccionaron las yemas adventicias al alcanzar de 5 a 8 mm de longitud, y se sembraron en medio G.D. diluido 1:1 en todos sus componentes, sin hormonas y suplementado con carbón activado al 1 por 100.

Mientras que las yemas seccionadas se diferenciaron aquellas que no se separaron del explante presentaron detenimiento del desarrollo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Dada la obtención de yemas adventicias y su posterior diferenciación en brotes, vale la pena destacar el hecho de que se han sentado las bases para la micropropagación clonal de *Podocarpus guatemalensis*. Se recomienda continuar con estudios que conlleven al desarrollo de raíces en los brotes obtenidos para lograr así la obtención de plantas que puedan ser transferidas al campo y emprender investigaciones de reforestación con especies nativas de alto potencial económico.

LITERATURA CITADA

- BONGA, J. M. 1977. Applications of tissue culture in forestry. In: Rainert, j. y P.S. Bajaj. Applied & Fundamental aspects of plant cell tissue and organ culture. *Springer-Verlag, Berlin*. p.p. 93-108.
- BONGA, J.M. 1981. Organogenesis in vitro of tissues from mature conifers. *IN VITRO* 17 (6): 511-518.
- BONGA, J.M. & D.J. DURZAN, 1982. Tissue culture in forestry, Martinus Nijhoff, The Hague. pp. 15-39.
- BUCHHOLZ, J.T. & N.E. GRAY. 1948. A taxonomic revision of *Podocarpus*: II The American species of *Podocarpus*: Section *Stachycarpus*. *J. of the Arnold Arboretum*. 29: 64-76.
- CALDAS, L.S., 1978. Tissue culture applications with respect to forest trees, International training course on plant tissue culture methods and applications, Campinas pp 1-15.
- CAMPBELL, R.A. & D.J. DURZAN, 1975. Induction of multiple buds and needles in tissue cultures of *picea glauca*. *Can. J. Bot.* 53: 1652-1657.
- CARRIZOSA, M.S., 1984. Propagación vegetativa de *Podocarpus rospigliosii* por cultivo de yemas in vitro. Tesis Universidad Javeriana, Fac. de Ciencias, Bogotá. 52 p.
- CHENG, T.Y., 1976. Vegetative propagation of western hemlock *Tsuga heterophylla* through tissue culture, *Plant cell Physiol.* 17: 1347-1350.
- CHENG, T.Y., 1979. Advances in Development of *in vitro* techniques for douglas fir. In: Plant cell and tissue culture. Principles and applications. Edited by W.R. Sharp et al. Ohio State Univ. Press, Columbus pp 493-507.
- DURZAN, D.J., 1982. Nitrogen metabolism and vegetative propagation of forest trees. In: Tissue culture in forestry. Ed. J.M. Bonga & D.J. Durzan. Martinus Nijhoff, The Hague pp. 256-312.
- HARTMANN, H.T. & D.E. KESTER, 1975. Plant propagation Principles and practices, New Jersey, Prentice Hall, Inc. pp. 509-532.
- JAIMES, C. 1980. Enraizamiento de estacas de *Podocarpus rospigliosii* Pilger (pino romeón) y *Podocarpus oleifolius* Don. (pino chaquiro). Tesis Univ. de Los Andes. Dpto. de Ciencias Biológicas. 129. p.
- JOHN, A. 1983. Tissue culture of coniferous trees. In: Tissue culture of trees. Ed. By J.H. Dodds, C. Helm. London. pp. 6-21.
- KAKADE, P.G. & H. JOPSPN. 1978. Influence of light quality on organogenesis from the embryo-derived callus of douglas fir (*Pseudotsuga menziessi*). *Plant Science Letters.* 13: 67-73.

- KONG, L.S. & A.N. RAO. 1981. *In vitro* plantlet development in tropical trees. In: Proc. COSTED Symp. on tissue culture of Economically Important Plants. Singapore. Ed. A.N. Rao. pp. 185-190.
- LAMPRECHT, H. 1970. Sobre coníferas indígenas y exóticas en Venezuela. Su importancia forestal.
- MONDRAGON, F. 1985. Plantaciones forestales en Colombia. S.N.A.T. INDERENA. Bogotá, p. 3.
- MURASHIGE, T. 1974. Plant Propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 135-166.
- MURASHIGE, T. & L.C. HUANG. 1984. Organogenesis *In vitro*: Structural, Physiological and Biochemical aspects. In; Inter-Center Seminar on IARCs and Biothecnology, Filipinas, pp. 16.
- PLANIF, 1984. "Plan Nacional de Investigaciones Forestales" Ministerio de Agricultura Dpto. Nal. de Planeación, Inderena, Colciencias, Conif, Bogotá, pp. 3-26.
- REILLY, K. & C.L. BROWN, 1976. *In vitro* studies of bud and shoot formation in *Pinus radiata* and *Pseudotsuga menziesii*. **Georgia Forest Research Paper. (86): 1-9.**
- ROMBERGER, J.A., R.J. VARNELL & C.A. TABOR, 1970. Culture of apical meristems and embrionic shoots of *picea abies*: **approach and techniques. Technical Bulletin (1409): 1-30.**
- SOMMER, H.E., C.L. BROWN & P.P. KORMANIK. 1975. Differentiation of plantlets in longleaf pine (*Pinus pehustris* Mill). Tissue cultured *in vitro*. **Bot. Gaz. 136 (2): 196-200.**
- SOMMER H.E. & C.S. CALDAS. 1981. *In vitro* methods applied to forest trees. In: Plant tissue culture methods and applications in agriculture. Ed. Acad. Press. New York. pp. 349-358.
- SUAREZ A.E., G. HURTADO, P. CARVAJAL & R. RODRIGUEZ. 1984. Nota explicativa del mapa de bosques de Colombia. I.G.A.C., INDERENA, CONIF. Bogotá, pp. 167-190.
- THORPE T.A. & S. BIONDI. 1983. Conifers. In: Handbook of plant cell culture. Eds. Evans, Sharp, Ammirato & Yamada. McMillan, New York. pp. 435-470.
- THORPE. T.A. & K.R. PATEL. 1984. Clonal Propagation: Adventitious Buds. In: Cell Culture and somatic cell genetics of plants. Ed. I.K. Vasil. San Diego. pp. 49-60.
- VEILLON, J.P. 1962. Los Podocarpus. Coníferas autóctonas de Venezuela. Talleres gráficos Universitarios. Mérida, Venezuela, pp. 57-143.