



Editores

*Rosa De Oliveira-Miranda*

*Janeth Lessmann*

*Adriana Rodríguez-Ferraro*

*Franklin Rojas-Suárez*

---

CIENCIA Y CONSERVACIÓN  
DE ESPECIES AMENAZADAS  
EN VENEZUELA:

**Conservación  
Basada en  
Evidencias e  
Intervenciones  
Estratégicas**



PRO VITA

ConocoPhillips

CIENCIA Y CONSERVACIÓN DE ESPECIES AMENAZADAS EN VENEZUELA:  
Conservación Basada en Evidencias e Intervenciones Estratégicas

Editores

Rosa De Oliveira-Miranda

Janeth Lessmann

Adriana Rodríguez-Ferraro

Franklin Rojas-Suárez

2010

Una producción conjunta de:



J- 00247777-6



J- 30450748-8

En el marco de la Ley Orgánica de Ciencia, Tecnología e Innovación, LOCTI

CIENCIA Y CONSERVACIÓN DE ESPECIES  
AMENAZADAS EN VENEZUELA:

Conservación Basada en Evidencias e  
Intervenciones Estratégicas

Editores

Rosa De Oliveira-Miranda

Janeth Lessmann

Adriana Rodríguez-Ferraro

Franklin Rojas-Suárez

Autores

Ada M. Medina

Ada Sánchez-Mercado

Adriana Rodríguez-Ferraro

Andrés E. Seijas

Ángela Arias-Ortiz

Ariel S. Espinosa Blanco

César Molina Rodríguez

Claret Michelangeli de Clavijo

Denis Torres

Dorixa Monsalve Dam

Edgard Yerena

Elena Bulmer

Emiliana Isasi-Catalá

Enrique Martínez

Franklin Rojas-Suárez

Hedelvy Guada

Heide Joana Heredia

Jafet M. Nassar

Janeth Lessmann

Joaquín Buitrago

Jon Paul Rodríguez

José Castillo

José Manuel Briceño Linares

Magddy Jiménez-Oraá

Maira A. Betancourt

May Lugo Castillo

Nisson Arcila

Omar Hernández

Pedro Vernet P.

Rafael E. Ortiz

Rosa De Oliveira-Miranda

Shaenandhoa García-Rangel

Tito Barros

Verónica de Los Llanos

**Coordinación editorial:**

Jeanette Rojas Suárez

**Diseño Gráfico:**

Oswaldo Salazar y Reyna Contreras

**Corrección:**

Cristina Raffalli

Jeanette Rojas Suárez

**Portada:**

Orquídea de navidad (*Masdevallia towarensis*)  
por Karl Weidmann

Sapito rayado (*Atelopus cruciger*)  
por César Molina Rodríguez

Oso frontino (*Tremarctos ornatus*)  
por Denis Torres

**Impresión:**

Grupo Intenso (Venezuela)

Tiraje: 1.000 ejemplares

**Derechos Reservados**

**De la edición:**

© PROVITA Caracas (Venezuela)

**De los artículos:**

© Los autores

**De las fotografías:**

© Los autores

**Hecho el depósito de ley:**

Depósito Legal: If 25220085003423

ISBN: 978-980-6774-01-8

Asociación Civil Provita

Rif. J-00247777-6

[www.provita.org.ve](http://www.provita.org.ve)

**Cita recomendada:**

**Para la obra completa**

De Oliveira-Miranda, R., J. Lessmann, A. Rodríguez-Ferraro & F. Rojas-Suárez (eds.) 2010. Ciencia y conservación de especies amenazadas en Venezuela: Conservación Basada en Evidencias e Intervenciones Estratégicas. Provita, Caracas, Venezuela, 234 pp.

**Para un capítulo particular**

Rodríguez-Ferraro, A. 2010. Efectividad de las áreas protegidas en la conservación de especies amenazadas del género *Amazona*. pp: 119-126. En: R. De Oliveira-Miranda, J. Lessmann, A. Rodríguez-Ferraro & F. Rojas-Suárez (eds.). Ciencia y conservación de especies amenazadas en Venezuela: Conservación Basada en Evidencias e Intervenciones Estratégicas. Provita, Caracas, Venezuela, 234 pp.

# Contenido

Presentación	10	Capítulo 6	77
<b>Sección 1.</b> Métodos para incrementar la efectividad en conservación de especies amenazadas	13	Efectividad de la liberación de individuos criados en cautiverio como herramienta para restaurar poblaciones de cocodrilos (género <i>Crocodylus</i> ) en el Neotrópico <i>Andrés E. Seijas</i>	
Capítulo 1 La Conservación Basada en Evidencias y su aplicación <i>Rosa De Oliveira-Miranda, Jafet M. Nassar, Janeth Lessmann, Elena Bulmer</i>	15	Capítulo 7 Efectividad de las áreas naturales protegidas para la conservación de las especies de tortugas de agua dulce de Venezuela <i>Omar Hernández, Enrique Martínez</i>	87
Capítulo 2 Definición de prioridades para la conservación de especies amenazadas venezolanas <i>Janeth Lessmann, Franklin Rojas-Suárez, Rosa De Oliveira-Miranda, Jon Paul Rodríguez</i>	29	Capítulo 8 Efectividad del cuidado de nidos y reforzamiento poblacional en la recuperación de las poblaciones de las especies de tortugas de agua dulce de Venezuela <i>Omar Hernández, Enrique Martínez</i>	97
Capítulo 3 Lecciones aprendidas en la aplicación de la Conservación Basada en Evidencias de especies amenazadas en Venezuela <i>Rosa De Oliveira-Miranda, Janeth Lessmann, Andrés E. Seijas, Hedelvy Guada, Omar Hernández, César Molina Rodríguez, Emiliana Isasi-Catalá, Adriana Rodríguez-Ferraro, Ada Sánchez-Mercado, Edgard Yerena</i>	45	Capítulo 9 Efectos del traslado de nidadas a viveros en el éxito reproductivo de tortugas marinas en el Caribe <i>Joaquín Buitrago, Hedelvy Guada, Verónica de Los Llanos</i>	105
<b>Sección 2.</b> Revisiones sistemáticas sobre estrategias aplicadas a la conservación de especies amenazadas	53	Capítulo 10 ¿Cuáles son las mejores prácticas para la protección de nidadas de tortugas marinas en playas de reproducción? <i>Pedro Vernet P., Ángela Arias-Ortiz</i>	113
Capítulo 4 ¿Las reintroducciones de anfibios amenazados han sido exitosas como estrategia de conservación? <i>César Molina Rodríguez</i>	55	Capítulo 11 Efectividad de las áreas protegidas en la conservación de especies amenazadas del género <i>Amazona</i> <i>Adriana Rodríguez-Ferraro</i>	119
Capítulo 5 Efectividad de las áreas protegidas en la conservación del caimán del Orinoco ( <i>Crocodylus intermedius</i> ) y del caimán de la costa ( <i>Crocodylus acutus</i> ) en Latinoamérica <i>Andrés E. Seijas</i>	67	Capítulo 12 Efectividad de las áreas protegidas para la conservación del oso andino ( <i>Tremarctos ornatus</i> ) en los andes suramericanos <i>Dorixa Monsalve Dam, Ada Sánchez-Mercado, Edgard Yerena, Shaenandhoa García-Rangel, Denis Torres</i>	127

<p>Capítulo 13 Efectividad de las iniciativas de educación ambiental para la conservación del oso andino (<i>Tremarctos ornatus</i>) en la cordillera andina <i>Ada Sánchez-Mercado, Edgard Yerena, Dorixa Monsalve Dam, Shaenandhoa García-Rangel, Denis Torres</i> 137</p>	<p>Capítulo 21 Manejo de nidadas de terecay (<i>Podocnemis unifilis</i>) en los ríos Cojedes y Manapire, como medida para evitar su pérdida por inundación y depredación <i>Omar Hernández, Ariel S. Espinosa Blanco, May Lugo Castillo, Magddy Jiménez-Oraá, Andrés E. Seijas</i> 207</p>
<p>Capítulo 14 ¿Las áreas protegidas son efectivas para la conservación de poblaciones de yaguar? <i>Emiliana Isasi-Catalá</i> 147</p>	<p>Capítulo 22 Conservación y manejo de nidadas de tortugas marinas en playas de reproducción, ¿trabajo efectivo para recuperar las poblaciones? <i>Pedro Vernet P., Ángela Arias-Ortiz</i> 213</p>
<p>Capítulo 15 ¿La reubicación de los yaguares-problema es una estrategia efectiva para la solución de los conflictos hombre-depredador? <i>Emiliana Isasi-Catalá</i> 159</p>	<p>Capítulo 23 Micropropagación sexual de <i>Masdevallia tovarensis</i>, orquídea En Peligro Crítico de extinción en Venezuela <i>Claret Michelangeli de Clavijo</i> 219</p>
<p>Capítulo 16 ¿Los programas de educación ambiental son una medida efectiva para la conservación del yaguar? <i>Emiliana Isasi-Catalá</i> 169</p>	<p>Capítulo 24 Morfogénesis <i>in vitro</i> de nogal de Caracas (<i>Juglans venezuelensis</i>), especie endémica de Venezuela En Peligro de extinción <i>Ada M. Medina, Maira A. Betancourt, Rafael E. Ortiz</i> 223</p>
<p>Capítulo 17 Efectividad del uso de técnicas de micropropagación para aumentar la tasa reproductiva en orquídeas <i>Claret Michelangeli de Clavijo</i> 179</p>	<p>Capítulo 25 Nidos artificiales como una estrategia de manejo para la conservación de la cotorra cabeciamarilla (<i>Amazona barbadensis</i>) en quebrada La Chica, península de Macanao, estado Nueva Esparta <i>José Manuel Briceño Linares</i> 229</p>
<p><b>Sección 3.</b> Intervenciones estratégicas aplicadas a la conservación de especies amenazadas venezolanas 187</p>	
<p>Capítulo 18 Hacia la posibilidad de una experiencia de reintroducción del sapito arlequín de Rancho Grande (<i>Atelopus cruciger</i>) en Venezuela <i>César Molina Rodríguez</i> 189</p>	
<p>Capítulo 19 Colecta de huevos de caimanes (<i>Crocodylus acutus</i> y <i>C. intermedius</i>) en Venezuela para fines de conservación <i>Tito Barros, Magddy Jiménez-Oraá, Heide Joana Heredia, Andrés E. Seijas</i> 195</p>	
<p>Capítulo 20 Monitoreo del estado de las poblaciones del caimán del Orinoco (<i>Crocodylus intermedius</i>) en Venezuela <i>Andrés E. Seijas, Magddy Jiménez-Oraá, Ariel S. Espinosa Blanco, José Castillo, Nisson Arcila</i> 201</p>	

Ada M. Medina<sup>1\*</sup>,  
Maira A. Betancourt<sup>1</sup>,  
Rafael E. Ortiz<sup>2</sup>

## Morfogénesis *in vitro* de nogal de Caracas (*Juglans venezuelensis*), especie endémica de Venezuela En Peligro de extinción

### Resumen

Para diseñar un plan de micropropagación del nogal de Caracas (*Juglans venezuelensis*), se realizaron estudios de morfogénesis a partir de diferentes explantes en crecimiento en un plantel madre cultivados en medios con diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento bajo condiciones de iluminación y oscuridad. A partir de segmentos nodales y apicales, se desarrollaron brotes aéreos con el uso de Tiazuron (TDZ) en concentraciones de 0,3 mg/l, 1,2 mg/l y 3 mg/l, y Benzil Amino Purina (BA) a una concentración entre 0,2 y 1,5 mg/l. Así mismo, las microestacas con una yema lateral, cultivadas en medio complementado con Ácido Indol Butírico (IBA) [0,01 y 0,05 mg/l] + BA (1 mg/l) y TDZ (0,01 y 0,02 mg/l), también desarrollaron brotes aéreos, que luego se transfirieron a otro medio de cultivo para promover la emisión de raíces. Adicionalmente, a partir de explantes foliares en medio complementado con Kinetina (Kin) [1 mg/l] en combinación con Ácido Naftalenacético (ANA) [0,1 mg/l], se desarrollaron embriones somáticos en estado globular y torpedo, así como estructuras radicales gruesas de coloración cremosa y numerosos pelos radicales. La eventual formación de nuevos brotes, seguida de una fase de enraizamiento y la conversión a plantas a partir de embriones, es un factor clave en un plan para la producción acelerada de plantas en programas de reforestación de esta importante especie.

### Antecedentes

El nogal de Caracas (*Juglans venezuelensis*) es una especie endémica de una pequeña región ubicada en el Parque Nacional El Ávila con una población silvestre que no pasa de 100 individuos adultos (Ortiz & Salazar 2004). El lento crecimiento poblacional de la especie, debido al bajo porcentaje de germinación de sus semillas y a la destrucción de áreas forestales en la región, son las principales causas de la drástica reducción de sus poblaciones

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA), Facultad de Agronomía, UCV, Maracay, Venezuela.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Conservación de los Recursos Fitogenéticos (CNCRF), Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, Maracay, Venezuela.  
Correo electrónico:  
amaumed@yahoo.com

silvestres, por lo que en el Libro Rojo de la Flora Venezolana está clasificada “En Peligro Crítico” (Llamozas *et al.* 2003).

A mediados del año 2006, se inició un proyecto de reforestación en las laderas descubiertas del parque nacional (Martínez *et al.* 2007). Sin embargo, las dificultades reproductivas requieren buscar alternativas que ayuden a aumentar el número de individuos para futuros planes de reforestación. En tal sentido, la técnica de cultivo *in vitro*, mediante la regeneración de plantas, se utiliza actualmente como un medio para lograr la amplificación rápida de individuos que se encuentren en poblaciones amenazadas (Toribio & Celestino 2000). Esta técnica ha demostrado ser una importante alternativa para la propagación de especies leñosas y ha sido probada en otras especies del género *Juglans* (Pijut 1997, Artioli 2003, Fatima *et al.* 2004). Este método presenta la ventaja de permitir la propagación masiva de plantas a partir de secciones muy pequeñas, en cualquier época del año y en corto tiempo. Por tal motivo, el objetivo de la investigación se concentró en estudiar la respuesta morfogénica *in vitro* de la especie nogal de Caracas (*Juglans venezuelensis*), a partir de diferentes explantes cultivados en diversos medios con miras a desarrollar un protocolo de micropropagación y así rescatar esta especie endémica de Venezuela.

#### **Acción**

Para el establecimiento de un plantel de individuos jóvenes de nogal de Caracas, se trasladaron 20 plantas jóvenes desde el vivero del

Centro Nacional de Conservación de los Recursos Fitogenéticos (CNCRF) al umbráculo del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA), donde fueron trasplantadas en bolsas de polietileno (capacidad 5 kg) en tierra abonada con suministro de riego interdiario. Se les aplicó fungicida sistémico (Funlate 50 mg/l) cada 3 semanas y fertilizante foliar 20-20-20 (2,5 g/l), además de efectuarse una poda parcial para la emisión de brotes nuevos.

Se probó cuatro tipos de explantes: a) segmentos de hojas con nervadura central y lateral, b) segmentos nodales, c) segmentos apicales y d) microestacas. Se tomaron hojas de color verde brillante con un tamaño de aproximadamente 3/4 de su expansión total, eliminándoles el pecíolo y lavándolas con agua jabonosa (jabón azul) para eliminar restos de tierra y polvo. Seguidamente, se colocaron en una solución de Funlate (2 g/l) durante 15 min y fueron lavadas tres veces con agua destilada. Posteriormente, se colocaron bajo una campana de flujo laminar en una solución de cloro comercial 2%, y se les agitó constantemente durante 10 minutos; para luego lavarlas tres veces con agua destilada estéril y así eliminar los restos de cloro. Finalmente, con la ayuda de un sacabocado se cortaron los segmentos foliares, los cuales se colocaron en solución de ácido ascórbico (50 mg/l) para evitar la producción de fenoles y posteriormente fueron pasados por etanol 70% durante 60 seg. En el caso de los ápices y los segmentos nodales, así como de las microestacas, se cortaron fragmentos de aproximados 0,7 y 3 cm, respectivamente, variando



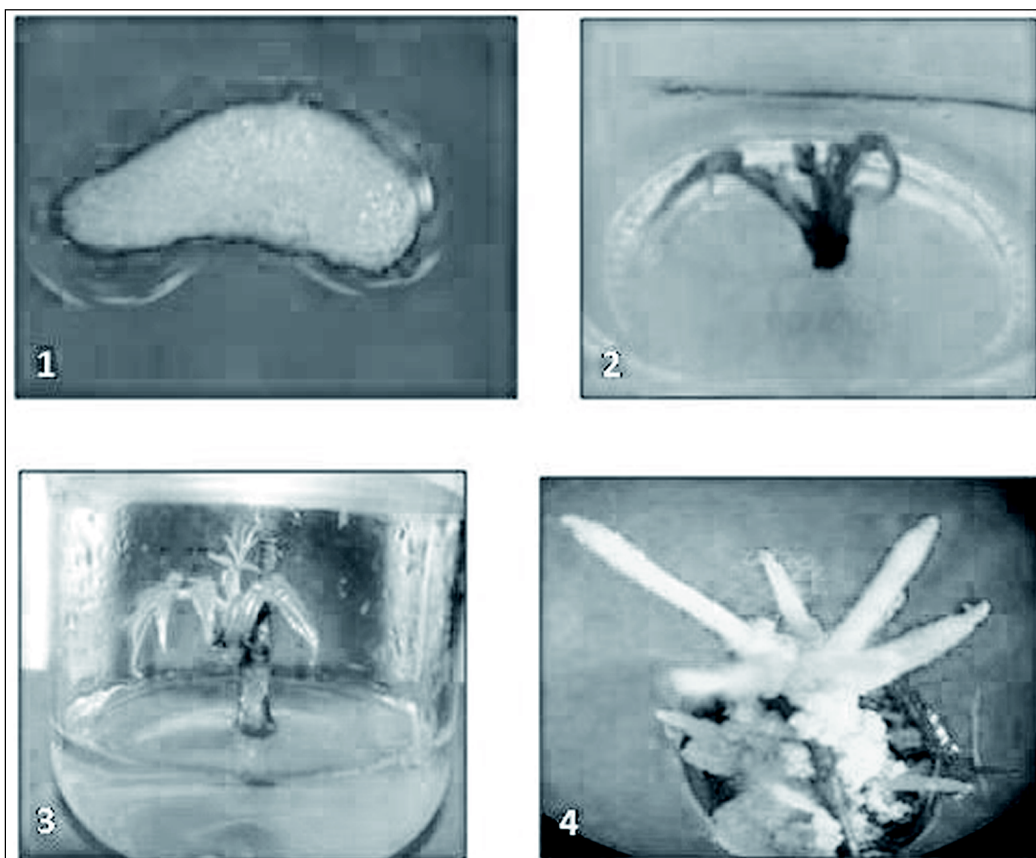
sólo el tiempo de exposición al cloro (5 min) y etanol (20 seg).

Como medio de cultivo se usaron las sales de MS (Murashige & Skoog 1962), complementadas con reguladores de crecimiento: 6-Bencilaminopurina (BA) [0,05; 0,02; 0,1; 0,11; 0,2; 0,23; 0,4; 0,5; 0,68; 0,9; 1; 1,13; 1,5; 1,58; 2; 2,25; 3; 3,38; 4; 4,51; 5,63; 8 y 12 mg/l], Thidiazuron (TDZ) [0,01; 0,02; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1; 1,2; 1,5; 1,8; 2,4 y 3 mg/l], Ácido Indol Butírico (AIB) [0,01; 0,05; 0,1 y 0,2 mg/l], Ácido Indol Acético (AIA) [1; 2 y 3 mg/l], Kinetina (KIN) [1 y 2 mg/l], Ácido Naftalenacético (ANA) [0,1; 0,2 ; 0,3; 1 y 2 mg/l], Sulfato de Cobre (0,5

mg/l), Picloran (10; 15 y 20 mg/l), Caseína hidrolizada (250 y 1000 mg/l), 2,4-Ácido Diclorafenoxiacético (2,4-D) [0,5; 1 y 1,5 mg/l] solos o en combinación. Así mismo, se usaron las sales de B5, y Caseína (500 mg/l) complementadas con 2,4-D (1; 2,5; 3,5 y 10 mg/l) + KIN (0,2 mg/l) [Gamborg *et al.* 1968]. En todos los casos el pH fue ajustado a  $5,8 \pm 2$  y solidificado con Phytigel (3 g/l), probándose las condiciones de luminosidad y oscuridad.

Se realizaron subcultivos mensuales en medios de cultivo para inducir embriogénesis y/o organogénesis. Para la inducción de embriones

**Figuras 1-4.** Respuesta morfogénica *in vitro* del nogal de Caracas en medio MS. 1) Embrión somático obtenido a partir de segmentos foliares con 1mg/l KIN + 0,1 mg/l ANA. 2) Brotes obtenidos a partir de segmentos apicales con 0,23 mg/l BA. 3) Brotes obtenidos a partir de microestacas en medio con 0,05 mg/l AIB + 1 mg/l BA. 4) Estructuras radicales a partir de explantes foliares con 2 mg/l KIN + 0,2 mg/l ANA.



somáticos, los callos obtenidos fueron disgregados y colocados en medio MS, Caseína hidrolizada (1g/l) complementado con 2,4-D (1 mg/l) + BA (0,2 mg/l); BA (0,9 mg/l) + ANA (0,3 mg/l); y BA solo (1,5 mg/l). Posteriormente, fueron transferidos a un medio de desarrollo de embriones, el cual contenía las sales de MS con Caseína hidrolizada (250 mg/l) complementadas con los reguladores de crecimiento ANA (0,1 mg/l) y BA (0,05 mg/l). Por otra parte, para la inducción de raíces, los brotes aéreos fueron transferidos a un medio con las sales de MS y Sulfato de Cobre (0,5 mg/l) complementado con Picloran (10; 15 y 20 mg/l), con KIN (1 y 2 mg/l) + ANA (0,1 y 0,2 mg/l), KIN (1 y 2 mg/l) + AIB (0,1 y 0,2 mg/l) y AIB solo (4 y 8 mg/l).

#### Consecuencias

Con el uso de segmentos de hoja en medio complementado con Kin (1 mg/l), en combinación con ANA (0,1 mg/l), se desarrollaron embriones somáticos a partir de callo en estado globular y torpedo (Fig. 1). Al ser transferidos a un medio de desarrollo de embriones para inducir su crecimiento, los embriones adoptaron una coloración marrón con aspecto oxidado para luego tornar a una coloración crema con presencia de callo secundario en la porción apical. Hoy en día los callos continúan su desarrollo con un aumento en la masa del callo, sin la presencia aparente de embriones somáticos.

A través de organogénesis se obtuvo brotes aéreos y raíces. Los brotes aéreos se desarrollaron a partir de segmentos nodales y apicales, siendo el regulador TDZ el que presentó los

mejores resultados en concentraciones de 0,3 mg/l, 1,2 mg/l y 3 mg/l, y con menor eficiencia el BA, a concentraciones entre de 0,23 y 1,5 mg/l (Fig. 2). Estos brotes fueron transferidos a otro medio de cultivo con el fin de promover la emisión de raíces. También se obtuvo brotes aéreos a partir de microestacas en medio MS complementado con IBA (0,01 y 0,05 mg/l) + BA (1 mg/l); y TDZ (0,01 y 0,02 mg/l) [Fig. 3]. Se observó estructuras radicales gruesas de coloración cremosa y numerosos pelos radicales a partir de explantes foliares cultivados en MS complementado con Kinetina (1 mg/l) en combinación con Ácido Naftalenacético (0,1 mg/l) [Fig. 4]. En algunos callos disgregados, se observó la presencia de una sola raíz, ligeramente globosa y de coloración más oscura.

En relación a la organogénesis, faltaría por establecer un protocolo que permita promover un mayor número de brotes seguido de una fase de enraizamiento, para así obtener la plántula completa. Por otra parte, la obtención de embriones somáticos en estado globular y torpedo constituye una de las etapas de desarrollo inicial en el crecimiento de la planta. Hasta ahora, el crecimiento de los embriones se encuentra detenido. Sin embargo, se continúa con la prueba de otros medios de cultivo para promover su desarrollo, sobre la base de protocolos utilizados exitosamente en otros cultivos leñosos tropicales, especialmente del género *Juglans* (Michelangeli *et al.* 2002, Rahman *et al.* 2003, Fatima *et al.* 2005, Feitosa *et al.* 2007, Ríos *et al.* 2007). La eventual formación de nuevos brotes seguida de una fase de enraizamiento

y la conversión a plantas a partir de los embriones somáticos, es un factor clave en un plan para la producción acelerada de plantas en programas de reforestación de esta importante especie.

Las numerosas fallas eléctricas en las cámaras de crecimiento afectaron las condiciones ambientales donde se encontraban los diferentes ensayos, con presencia de alta humedad relativa y altas temperaturas, lo que ocasionó la formación de gotas de agua dentro de la superficie de las cápsulas de vidrio (cápsulas de Petri). Evidentemente esto afectó mucho las condiciones de crecimiento de explantes, así como de callos, brotes y embriones obtenidos hasta ahora.

#### Referencias bibliográficas

- Artioli, P., C. Michelangeli & R. Ortiz (2003). Estudios preliminares para la regeneración *in vitro* de Juglandaceae en peligro de extinción en Venezuela. I Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola. Maracay, Venezuela.
- Fatima, A., A. Kamili & A. Shad (2005). Plantlet regeneration from excised embryonal axes, shoot apices and nodal segments of *Juglans regia*. ISHS Acta Horticulturae 705: 387-392.
- Feitosa, T., J. Pinheiro, L. Ferreira, A. Ponte, T. Lustosa & F. Assis (2007). Somatic embryogenesis in cassava genotypes from the northeast of Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 50: 201-206.
- Gamborg, O., R. Miller & J. Ojima (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research 50: 151-158.
- Llamoza, S., R. Duno de Stefano, W. Meier, R. Riina, F. Stauffer, G. Aymard, O. Huber & R. Ortiz (2003). Libro rojo de la flora venezolana. Provita, Fundación Polar y Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Martínez, L., N. Pérez, L. Garrido, E. Coa, R. Rodríguez, D. Alfonso & D. Griffon (2007). Proyecto Nogal de Caracas. Reforestando las cuencas altas del Parque Nacional El Ávila [en línea]. Consultado el <14 abr. 2008> en <www.agroecologiavenezuela>
- Michelangeli, C., P. Artioli & A. Medina (2002). Embriogénesis somática en onoto. Agronomía Tropical 52: 523-541.
- Murashige, T. & F. Skoog (1962). A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
- Ortiz, R. & A. Salazar (2004). El Nogal de Caracas, patrimonio emblemático de la ciudad de Caracas. Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, Caracas, Venezuela.
- Pijut, P. (1997). Micropropagation of *Juglans cinerea* L. (Butternut). Biotechnology in Agriculture and Forestry 39: 345-357.
- Rahman, M., M. Amin, M. Azad, F. Begum & M. Karim (2003). *In vitro* rapid regeneration of plantlets from leaf exolants of native-olive (*Elaeocarpus robustus* Roxb.). Online Journal of Biological Science 3: 718-725.
- Ríos, D., M. Sánchez, F. Avilés, M. Materan, M. Uribe, R. Hasbún & R. Rodríguez (2007). Micropropagation

of *Juglans regia*. pp. 381-390. En:  
S.M. Jain & H. Häggman (eds.).  
Protocols for micropropagation of  
woody trees and fruits. Springer,  
Dordrecht, Países Bajos.

Toribio, M. & C. Celestino (2000). El uso  
de la biotecnología en la conservación  
de recursos genéticos forestales.  
Investigación Agraria: Sistemas y  
Recursos Forestales 2: 249-261.