



***In vitro* nutrition of anthurium (*Anthurium andreanum* Linden var. Tropical) in three culture systems**

Nutrición *in vitro* de anturio (*Anthurium andreanum* Linden var. Tropical) en tres sistemas de cultivo

Fátima Karina López-Páez¹, Joaquín Murguía-González¹, Odón Castañeda-Castro², Miriam Cristina Pastelín-Solano², María Elena Galindo-Tovar¹*

¹Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Camino Peñuela-Amatlán de los Reyes S/N. Amatlán de los Reyes, Veracruz. México. C.P. 94945. Teléfono 2717166129.

²Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Prolongación de Oriente 6 No. 1009. Orizaba, Veracruz. México. C.P. 94340. Teléfono y Fax: 2727240120.

*Corresponding author

E-mail address: megalindo@uv.mx (M. E. Galindo-Tovar)

Article history:

Received: 28 February 2022 / Received in revised form: 25 April 2022 / Accepted: / 25 Jun 2022 / Published online: 1 July 2022.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2022.7.3.1>

ABSTRACT

Anthurium is a very important ornamental plant in the market. However, its traditional reproduction presents problems, therefore *in vitro* culture represents an alternative for its propagation. In the *in vitro* plant tissue culture, the nutrients are provided by the media, but information on the *in vitro* nutrition for anthurium is scarce. The objective of this research was to evaluate plant growth characteristics, nutrient content in plant tissues and nutrient removal from the culture medium in three *in vitro* culture systems: semi-solid, partial immersion and the RITA[®] bioreactor. The data were analyzed, using an ANOVA and compared with Tukey tests, using the statistical software R-STUDIO. The highest length of shoots and roots were observed with partial immersion; the number of leaves, shoots and roots did not show differences with the RITA[®] bioreactors. The highest tissue content of nutrients occurred in plants cultivated in the RITA[®] bioreactor. For the content of nutrients in the culture medium, the highest one was observed in the RITA[®] bioreactor, which indicates a most efficient use of nutrients, due to the

greater contact of explants with the media and a best gas exchange. Therefore, the RITA® bioreactor represents the most viable option for anthurium plants production.

Keywords: anthurium, bioreactor, *in vitro*, nutrient absorption, partial immersion

RESUMEN

El anturio tiene gran importancia en el mercado ornamental; sin embargo, su reproducción tradicional presenta problemáticas; por ello, el cultivo *in vitro* representa una alternativa para su propagación. En el cultivo *in vitro*, los nutrientes son provistos por el medio de cultivo, pero la información sobre la nutrición *in vitro* para anturio es escasa. Esta investigación tuvo como objetivo comparar tres sistemas de cultivo *in vitro*: semisólido, inmersión parcial y biorreactor RITA®. Se evaluaron características de desarrollo y contenido nutrimental en plantas y medio de cultivo. Los datos se analizaron con ANOVA y pruebas de Tukey, se utilizó el software R-STUDIO. Los resultados más altos para brotes y longitud de raíz se obtuvieron con inmersión parcial; el número de hojas, brotes y raíces no mostró diferencias entre inmersión parcial y los biorreactores RITA®. El mayor contenido de nutrimentos en tejido se obtuvo en plantas cultivadas en el biorreactor RITA® y en el medio de cultivo para este biorreactor; lo que indica un uso más eficiente de nutrientes, debido al mayor contacto de los explantes con el medio y la renovación de la atmósfera gaseosa. Por ello, el biorreactor RITA® representa la mejor opción, para la producción de plantas de anturio.

Palabras clave: absorción de nutrientes, anturio, bioreactor, inmersión parcial, *in vitro*

1. INTRODUCCIÓN

La floricultura es una industria que se desarrolla en todo el mundo, debido a que resulta altamente lucrativa. A nivel mundial, el mercado de flores y ornamentales, se espera que crezca en un 6.3% en los próximos años, alcanzando \$ 57.4 billones de USD dólares en el 2024 (Proverde, 2021). La demanda de flores en el mercado va en aumento principalmente orquídeas y anturio; ya que han ganado popularidad por su belleza y tiempo de vida en jarrón (Desai *et al.*, 2015). Por su belleza, follaje, colores y durabilidad después del corte, el anturio ocupa el segundo lugar de venta de ornamentales a nivel mundial (Soleimani-Pour *et al.*, 2018). Los principales países productores de anturio en el mundo son Dinamarca, Mauritania y Hawai (Nataraj *et al.*, 2019).

Tradicionalmente la propagación del anturio se realiza utilizando estacas, esquejes o semillas. Sin embargo, estas técnicas pueden resultar lentas, propagar enfermedades o las plantas resultantes pueden presentar características no deseadas en tamaño, forma o color, lo cual se traduce en problemas de comercialización. En la actualidad las herramientas biotecnológicas de cultivo *in vitro* permiten una multiplicación eficiente, que facilita obtener plantas

genéticamente uniformes y libres de patógenos; además permite controlar la velocidad de crecimiento y regeneración de los tejidos (Alcántara-Cortés *et al.*, 2017). Para anturio se han realizado diversos trabajos que evalúan su producción *in vitro* (Marques-Pinheiro *et al.*, 2014; Morales-Orellana *et al.*, 2014; Martínez Estrada *et al.*, 2019; Alamilla-Magaña *et al.*, 2019); sin embargo, no se esclarecen del todo las condiciones nutrimentales *in vitro*.

En el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, los requerimientos nutricionales deben asemejar a los requeridos *in situ*. Pero debido a que los tejidos *in vitro* no son autótrofos, la tasa fotosintética es compensada con una fuente de carbono adicionada al medio de cultivo; que igual que los nutrimentos, es absorbida por los tejidos. Así mismo, existen factores que pueden afectar la disponibilidad de los minerales en el medio, como el agente gelificante que puede ocasionar la precipitación de éstos, limitando su absorción o generando una translocación inadecuada (Sharry *et al.*, 2015). Por lo cual, el uso de sistemas de inmersión temporal (SIT) representa una alternativa para el cultivo *in vitro*. Su función consiste en exponer los tejidos vegetales al medio de cultivo por periodos de tiempo, logrando automatizar el proceso de propagación a gran escala, evitar contaminación patógena, disminuir costos y propiciar una mejor absorción de nutrientes para mejorar el rendimiento. Un tipo de SIT son los Recipientes de Inmersión Temporal Automatizados RITA[®], los cuales son un avance tecnológico que permite una mejora en el cultivo de tejidos vegetales (Alamilla-Magaña *et al.*, 2019). El crecimiento y desarrollo de una planta se ven afectados por la absorción y asimilación de nutrientes y por las proporciones a los que se vea expuesta; ya que cada nutriente tiene una función específica en el desarrollo de la planta, que se verá reflejada en su producción y calidad (Puentes-Páramo *et al.*, 2016). Por ello, para hacer más eficiente la nutrición vegetal en el cultivo *in vitro* de anturio y buscar bajar costos con un uso más eficiente de las sales, el objetivo de la presente investigación fue evaluar las condiciones nutrimentales y el desarrollo *in vitro* de *A. andreanum* Linden en tres sistemas de cultivo: medio semisólido (SS), inmersión parcial (IP) y en biorreactores RITA[®].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Ubicación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Docencia, Investigación y Servicios (LADISER) de Biotecnología y Criobiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba, Ver., adscrita a la Universidad Veracruzana.

2.2 Condiciones de cultivo

Se propagaron *in vitro* plántulas de *A. andreanum* provenientes de cultivo *in vitro* previo. El medio de cultivo usado fue MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado con 1 mg/L de 6-bencilaminopurina (BAP) y 30 g/L de sacarosa. Para el medio semisólido se emplearon 3 g/L de Phytigel, el pH fue ajustado a 5.7 con un potenciómetro marca HANNA[®] y se esterilizó a 121°C por 15 min en un autoclave vertical marca EVAR[®]. Se utilizaron frascos de vidrio de 250 mL con 25

mL de medio de cultivo. Las plántulas se mantuvieron en incubación a 24 ± 2 °C con un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad. La intensidad lumínica fue de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, provista por lámparas fluorescentes blancas, durante un periodo de dos meses.

2.3 Propagación

Plantas de 0.5 cm de largo, con tres hojas y sin raíz, fueron establecidas en medio semisólido (SS), inmersión parcial (IP) y Recipientes de Inmersión Temporal Automatizados (RITA®). Para el sistema de inmersión parcial y medio semisólido se utilizaron frascos de cristal con capacidad de 250 mL, a los que se adicionaron 25 mL de medio de cultivo, en cada frasco fueron establecidos cuatro explantes. En los biorreactores RITA®, se adicionaron 200 mL de medio de cultivo y cuatro plantas por recipiente (Fig. 1). Estos fueron conectados a un sistema de aire, proveniente de un compresor marca Adir® con un flujo máximo de entrada de 5.89, con presión de 29 psi, dicho aire ingresó a los biorreactores a través de un filtro Midisart® 2000 de $0.2 \mu\text{m}$ (PTFE y polipropileno). Las inmersiones en el biorreactor se realizaron a intervalos de cuatro horas, seis inmersiones por día, con dos minutos de duración, según lo descrito por Morales-Orellana (2014), para la propagación *in vitro* de anturio.

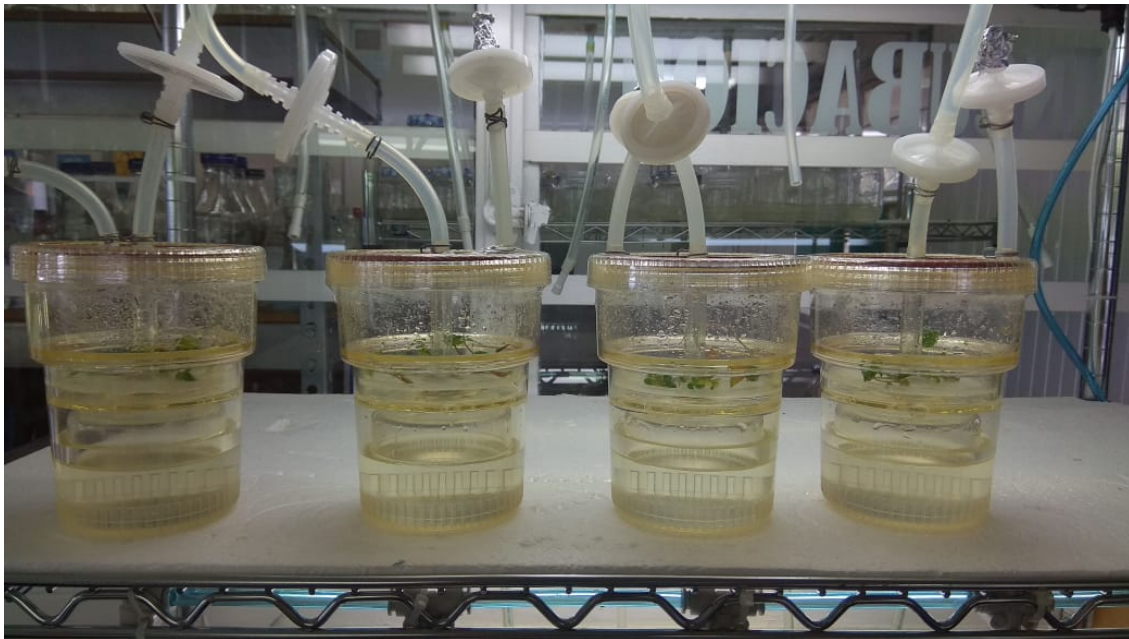


Fig. 1. Sistema de inmersión RITA® con 200 mL de medio de cultivo y cuatro plantas por recipiente.

Fig. 1. RITA® immersion system with 200 mL of culture medium and four plants per container.

2.4 Análisis del desarrollo morfológico

A los 60 días después del establecimiento en los tres sistemas, se analizó el desarrollo morfológico de las plantas cuantificando el número de hojas, brotes y raíces, y la longitud de brotes y raíz.

2.5 Análisis nutrimental

Para evaluar las condiciones nutrimentales, se determinó la concentración de nitrógeno en tejido vegetal y medio de cultivo por el método microkjeldahl (Bremner, 1965). El contenido de P, K, Ca, B, S, Mg, Zn, Cu, Mn y Fe se realizó por espectrofotometría de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (Alcántar & Sandoval, 1999), en un equipo ICP-OES modelo 725 (Agilent).

2.6 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones. Los datos se analizaron con un ANOVA de una vía y pruebas de comparación de medias de Tukey utilizando el software estadístico R-STUDIO versión 2019 para Windows.

2.7 Aclimatación

Las plantas obtenidas se aclimataron en invernadero. Posteriormente el 50 % de ellas se trasplantó a suelo en condiciones de cielo abierto y el otro 50 % a un sombreadero cubierto con malla sombra.

3. RESULTADOS

En la propagación *in vitro* es importante conocer el aprovechamiento de los nutrientes, tanto los macro como los microelementos en el medio de cultivo; ya que afectan el crecimiento y desarrollo vegetal (Gómez-Merino *et al.*, 2015).

Al comparar el desarrollo morfológico de las plantas de anturio en los tres sistemas de cultivo, se observaron diferencias significativas. Los valores más altos se observaron para longitud de brotes y de raíces en el sistema IP. Sin embargo, para número de brotes, número de hojas y número de raíces, el sistema RITA® e IP fueron estadísticamente iguales (Tabla 1).

Tabla 1. Desarrollo morfológico de anturio cultivado *in vitro* en medio semisólido, inmersión parcial y biorreactores RITA® durante 60 días.

Table 1. Morphological development of anthurium grown *in vitro* in semisolid media, partial immersion and RITA® bioreactor system for 60 days.

Sistema	Brotes (Núm.)	Brotes (cm)	Hojas (Núm.)	Raíz (Núm.)	Raíz (cm)
SS	1.81±0.14 b	2.59±0.17 b	6.19±0.40 b	1.40±0.09 b	3.05 ±0.28 b
IP	2.93±0.22 a	3.28±0.12 a	9.25±0.87 a	2.11±0.08 a	4.06 ±0.16 a
RITA®	3.19±0.40 a	2.40±0.12 b	10.25±1.24 a	1.98±0.08 a	3.90 ±0.31 ab

SS: medio semisólido, IP: inmersión parcial y biorreactor RITA®. Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En el contenido de macronutrientes en plantas, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tres sistemas a los 60 días de cultivo *in vitro*. El tratamiento con los valores más altos en contenido nutrimental en el tejido foliar de las plantas fue el biorreactor RITA® (Tabla 2) y los contenidos más bajos se observaron en el sistema semisólido.

Al emplear biorreactores RITA® la absorción de N, Mg, S, P y Ca fue estadísticamente superior; el contenido de nitrógeno no se separó claramente del sistema de inmersión parcial. Para el K, el sistema RITA® y SS no presentaron diferencias significativas; aunque RITA® fue superior a IP en 0.53 g/ kg-1.

En cuanto al contenido de micronutrientes en el tejido foliar de las plantas de anturio cultivadas *in vitro* durante 60 días, se observaron diferencias significativas entre los sistemas de cultivo inmersión parcial, medio semisólido y el biorreactor RITA®, mostrando los valores más altos las plantas desarrolladas en los sistemas que utilizaron medio líquido (Tabla 2) y los valores más bajos en el medio semisólido.

Tabla 2. Efecto de los sistemas de cultivo *in vitro* en el contenido de macroelementos y microelementos en plantas de anturio cultivadas durante 60 días.

Table 2. Effect of *in vitro* culture systems in macroelements and microelements in anthurium plants grown for 60 days.

Macronutrientes						
Sistema	N	K	Mg	S	P	Ca
g/ kg ⁻¹						
SS	45.5±0.47b	14.70±0.15a	2.67±0.03b	2.41±0.02c	2.48±0.02c	4.08±0.04c
IP	46.2±0.51ab	6.70±0.08b	2.71±0.03b	2.61±0.03b	2.90±0.033b	5.48±0.06b
RITA®	48.3±0.09a	14.17±0.16a	3.62±0.04a	2.99±0.07a	3.34± 0.04a	5.84±0.07a
Micronutrientes						
Sistema	B	Cu	Fe	Zn	Mn	
mg/ kg ⁻¹						
SS	97.50±1.02 c	2.29±0.02c	263.88±2.76c	42.98±0.45b	193.99±2.03c	
IP	180.0±1.99a	4.60±0.05b	463.27±5.35b	66.03±0.77a	271.51±3.13b	
RITA®	134.60±1.55b	4.94±0.06a	520.89±6.01a	63.59±0.73a	314.87±3.63a	

SS: medio semisólido, IP: inmersión parcial y biorreactor RITA®. Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En la extracción de nutrientes del medio de cultivo, al comparar los sistemas con medio semisólido, inmersión parcial y biorreactor RITA®, transcurridos 60 días de cultivo *in vitro* de plantas de anturio, se encontraron diferencias significativas. Se observó que en el biorreactor RITA® el medio de cultivo mostró contenidos más altos en la mayoría de los nutrientes analizados (Tabla 3), lo que indica una mayor eficiencia en el uso de los nutrientes.

Tabla 3. Contenido nutrimental en el medio de cultivo en tres sistemas, para la micropropagación *in vitro* de anturio.

Table 3. Nutritional content in the culture medium in three systems for *in vitro* micropropagation of anthurium.

Elemento	Sistema		
	SS	IP	RITA®
Macronutrientes (g/ kg ⁻¹)			
NH ₄ ⁺	226.82±12.60 a	135.60±17.02 b	269.22±9.90 a
NO ₃ ⁻	518.16±32.97 a	237.33±45.00 b	126.67±27.24 b
K	36.24±27.19 ab	161.1±93.94 b	431.05±4.64 a
Mg	15.85±1.50 b	835±1.29 c	25.02±0.13 a
S	38.85±0.76 a	18.35±0.91 c	33.86±1.42 b
P	16.47±1.96 a	18.35±0.91. c	33.89±1.42. b
Ca	226.81±3.13 a	135.60±1.15 b	269.21±2.67 a
Micronutrientes (mg L ⁻¹)			
Zn	0.57±0.07 b	0.49±0.9 b	0.92±0.005 a
Mn	1.97±0.24 b	2.11±0.12 b	3.65±0.005 a
Fe	2.76±0.07 a	2.37±1.27 a	0.94±0.33 a
Cu	0.2±0.05 a	0.007±0.003 a	0.003±0.004 a
B	0.74±0.004 a	0.79±0.37 a	0.73±0.04 a

SS: medio semisólido, IP: inmersión parcial y biorreactor RITA®. Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

El contenido de nitrógeno en el medio de cultivo después de 60 días presentó diferencias estadísticas significativas. Para NH₄⁺, aunque estadísticamente igual al medio semisólido, el mayor contenido fue para el sistema RITA®. En contraste para NO₃⁻ el menor contenido se observó en RITA®, aunque estadísticamente igual al medio semisólido. Esto sugiere que las plantas de anturio absorbieron la mayor cantidad de nitrógeno en forma de NO₃⁻, lo que coincide con un mejor crecimiento. Para K, aunque sin una clara separación de medias, el mayor contenido se observó en el sistema RITA®, lo que indica una menor extracción de este macronutriente. Esto se explica debido a que el K está relacionado con el metabolismo de los azúcares, función que se ve disminuida en el cultivo *in vitro*. Lo mismo se observó para el P y Ca que fueron absorbidos en menor cantidad en

el sistema RITA®; aunque sólo el P muestra diferencia estadística significativa. El Mg fue absorbido en mayor cantidad en el medio semisólido y el azufre en el de inmersión parcial.

Para el contenido de micronutrientes en el medio de cultivo después de 60 días, se observaron diferencias estadísticas significativas sólo para Zn y Mn; para los cuales el mayor contenido fue en el sistema RITA®. Aunque el contenido de Fe y Cu, no presentó una separación estadística clara, fue mayor en el medio SS y menor en el sistema RITA®; mientras que para B no se observaron diferencias estadísticas significativas. Esto tiene relación con los resultados obtenidos en contenido de nutrientes en tejido foliar de anturio donde las plantas provenientes del biorreactor RITA® mostraron mayor contenido; así como con los resultados morfológicos donde este biorreactor mostró los resultados estadísticos más altos en cuanto al número y tamaño de brotes, número y tamaño de hojas, y número de raíces.

En la aclimatación, tanto en invernadero como en cielo abierto y sombreadero se obtuvo un 100 % de sobrevivencia de plantas.

4. DISCUSIÓN

El desarrollo de las plantas es muy flexible, lo que les permite reaccionar a los cambios ambientales en tamaño, morfología, etc. (Escaso-Santos *et al.*, 2010). Esto explica las diferencias estadísticas significativas encontradas en el desarrollo morfológico en los diferentes sistemas de propagación *in vitro* del anturio. En los sistemas IP y RITA® que emplean medio líquido, el número de brotes, número de hojas y número de raíces fueron superiores respecto al medio semisólido. De acuerdo con Ontaneda *et al.* (2020), esto puede ser explicado debido a que el medio líquido proporciona una mejor difusión de los nutrientes propiciando mejor crecimiento de explantes y formación de brotes. Esto coincide con García *et al.* (2015), quienes reportaron mayor tasa de desarrollo en sistemas donde se utiliza medio líquido, debido al mayor contacto de los explantes con el medio de cultivo, permitiendo una mejor absorción, y con Alamilla-Magaña *et al.* (2019) y Martínez-Estrada *et al.* (2019), quienes obtuvieron mayores tasas de propagación de anturio utilizando sistemas de inmersión temporal.

Los resultados obtenidos para el contenido de macroelementos en el tejido foliar se explican debido al contacto directo entre los explantes y el medio de cultivo, permitiendo una mejor absorción de nutrientes maximizando su desarrollo (García *et al.*, 2015) y a la alternancia de ciclos de inmersión del material vegetal cultivado en medio líquido, seguido por el drenaje y la exposición de tejido al entorno gaseoso que ocurren en el sistema RITA®, lo que promueve una mejor absorción de nutrientes (Muñiz, 2019). Este biorreactor permite una renovación constante de la atmósfera creada en su interior y evita la acumulación de etileno (Batista *et al.*, 2020), influyendo en el flujo de otros minerales y mejorando la translocación de fotosintatos (Kalidass & Nayak, 2017); mientras que en el sistema de medio semisólido el agente gelificante propicia que disminuya la absorción de nutrientes, por la reducción del gradiente de difusión (Vilchez & Albany, 2014), lo que ocasiona el desarrollo de zonas de agotamiento nutrimental.

Para el contenido de micronutrientes en el tejido vegetal, el mayor contenido de B encontrado por el sistema IP puede ser explicado debido a que la absorción de este microelemento ocurre mediante difusión del espacio libre (Rosales *et al.*, 2018).

Características como el número de brotes, número de hojas y número de raíces, están relacionadas con la absorción de macro y micronutrientes, que fue superior en el biorreactor RITA®. Esto se debe a que el aprovechamiento de elementos como el N, presentan una relación directa con el desarrollo de hojas, tallos y brotes (Medellín, 2016). El P favorece el desarrollo del sistema radicular (Mixquititla-Casbis & Villegas, 2016), el S mejora la eficiencia del nitrógeno e interviene en la formación del sistema radical (Ramos *et al.*, 2015), el K tiene actividad enzimática importante, así como en la regulación de pH (Bonza-Espinoza *et al.*, 2016), el Ca favorece el crecimiento meristemático (Cardona, 2017), el Mg destaca como componente de la clorofila y la turgencia celular (Ross, 2004), lo que concuerda con Ramírez-Mosqueda *et al.* (2019), quienes reportan mayor contenido de clorofila en el sistema RITA®. Por su parte los microelementos como B, Fe, Mn, Mo, Zn, Co, Al, Si y Na contribuyen en la síntesis de ácidos nucleicos, actividad enzimática, así como ayudan a fijar eficientemente algunos de los macroelementos (Gómez-Merino *et al.*, 2015; Ortega & Malavolta, 2012; Cuacua-Temiz *et al.*, 2017).

La extracción de nutrientes se refiere a la cantidad en que la planta los absorbe y por lo tanto son retirados del sistema. Para las plantas cultivadas *in vitro* no hay una fórmula óptima que se adapte a todos los tejidos, células u órganos (Rego & de Faria, 2001). El mayor contenido de nutrientes en el medio de cultivo y en los tejidos de las plantas indica una mayor eficiencia en su uso. Por ello, los contenidos más altos en el medio, relacionados con el mayor contenido nutrimental en tejido vegetal en los sistemas que utilizan medio líquido indican una mayor eficiencia en su uso, con los mejores resultados en el sistema RITA®. Los resultados obtenidos en la extracción nutrimental en el medio de cultivo son similares a lo descrito por Ergun *et al.* (2018), quienes reportaron que para el cultivo de *Lilium* después de 16 semanas aún se encontraban presentes en el medio de cultivo nutrientes como K, Mg, Ca (Martínez-Villegas *et al.*, 2015). Esto se explica debido a que el medio líquido permite un mayor contacto de las plantas con el medio de cultivo. Además, el uso de sistemas de inmersión temporal, permite la renovación de la atmósfera gaseosa, evitando con ello la acumulación de gases tóxicos dentro de los sistemas.

En resumen, aunque el desarrollo morfofisiológico no mostró diferencias significativas entre los sistemas que emplearon medio líquido (IP y RITA®), es importante señalar que en el biorreactor RITA® el contenido de macro y micronutrientes en el tejido vegetal de anturio y en el medio de cultivo fue mayor y que las variables estudiadas mostraron una mejor nutrición, que se reflejó en el desarrollo y la productividad de la planta de anturio propagado *in vitro*, en el biorreactor RITA®. Se concluye que la mejor opción para la propagación *in vitro* de anturio es el sistema RITA®. Sin embargo, asumiendo que la concentración de nutrientes en la planta es un valor que resulta de la interacción del medio y el manejo, para eficientar el uso de los bioreactores RITA® es importante realizar estudios para ajustar el contenido de nutrientes en el medio; ya que la disminución

en el uso de sales y el cuidado de un equilibrio adecuado permitirá disminuir costos para escalar la producción de plantas de anturio.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de Maestría en Horticultura Tropical, Universidad Veracruzana. A la Universidad Veracruzana por el apoyo en infraestructura para realizar la parte experimental de este proyecto.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

REFERENCIAS

Alamilla-Magaña J.C., Caamal-Velázquez J.H., Criollo-Chan M.A., Vera-López J.E. & Reyes-Montero J.A. 2019. Biofactory and temporary immersion bioreactor: *In vitro* propagation of *Anthurium andreanum* L., and economic viability. *Agroproductividad*. 12(10): 23–29. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi0.1457>.

Alcántar G.G. & Sandoval V.M. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Publicación especial.

Alcántara-Cortés J., Pérez M.C. & Mora R.S. 2017. Importancia de los cultivos vegetales *in vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias*. 1(1): 71-83. <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/Biociencias/article/viewFile/2222/2382>.

Batista R.M.G., Ontaneda A.L.C. & Herrera A.M. 2020. Características y uso del sistema de inmersión temporal en la propagación *in vitro* en la familia Bromeliaceae. *Revista Científica Agroecosistemas*. 8(1): 64-67. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/384/364>.

Bonza-Espinoza M., Pinzón-Sandoval E. & Álvarez-Herrera J. 2016. Efecto del nitrato de potasio y la sacarosa sobre el rendimiento de plantas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Temas Agrarios*. 21(2):40-50. <https://doi.org/10.21897/rta.v21i2.900>.

Bremner J.M. 1965. Total, nitrogen. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*. 9. 1149-1178. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c32>.

Cardona W.A. 2017. Requerimientos nutricionales (nitrógeno, fósforo, potasio y calcio) en etapa vegetativa y reproductiva de un cultivo de mora (*Rubus glaucus Benth.*), ubicado en el municipio de Sylvania (Cundinamarca) (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá).

Cuacua-Temiz C., Trejo-Téllez L.I., Velasco-Velasco J. & Gómez-Merino F.C. 2017. Efecto de los elementos benéficos Al, Co, Se y Si en la nutrición de heliconias (*Heliconia* sp.). Agroproductividad. 10(3): 62-68.

Desai C., Inghalihalli R. & Krishnamurthy R. 2015. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* an important tool in floriculture. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 4(3): 112-117.

Ergun K.A.Y.A., Galatali S., Guldag S., Ozturk B., Ceylan M., Celik, O. & Aktay I. 2018. Mass Production of Medicinal Plants for Obtaining Secondary Metabolite Using Liquid Mediums Via Bioreactor Systems: SETISTM and RITA®. Turkish Journal of Scientific Reviews. 11(2): 5-10.

Escaso-Santos F., Martínez-Guitarte J.L. & Planelló-Carro M.R. 2010. Fundamentos básicos de fisiología vegetal y animal. Pearson Educación, S.A. Madrid. pp 264.

García A.V., Sandra Y., González O., Díaz A., Albarran J.G., Schmidt A., Salazar E., Mujica Y., Casado R., Fernández J. & Marin C. 2015. Micropropagación de plantas de lechosa en recipientes de inmersión temporal a partir de brotes axilares. Revista Colombiana de Biotecnología. 17(1): 70-78.

Gómez-Merino F.C., Trejo-Téllez L.I., Cuacua-Temiz C., Jácome-Chacón M.A. & Senties-Herrera H.E. 2015. Los elementos benéficos; potencial para innovar la producción agrícola. Agroentorno. 166(18): 19-20.

Kalidass C., Nayak P. & Ram S. S. 2017. PIXE-based detection of elemental accumulation during direct organogenesis in *Blepharispermum subsessile* DC.: An endangered medicinal plant of Odisha, India. X-Ray Spectrometry. 46(6): 529-536. <https://doi.org/10.1002/xrs.2791>.

Marques-Pinheiro M.V., Bolzan-Martins F., Ferreira-Cruz A.C., Portugal- Pinto A.C., Jardim-Oliveira E., & Campos-Otoni W. 2014. Somatic embryogenesis in anthurium (*Anthurium andraeanum* cv. Eidibel) as affected by different explants. Acta Scientiarum, Agronomy. 36 (1): 87-98. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i1.16557>.

Martínez-Estrada E., Islas-Luna B., Pérez-Sato J.A., Bello-Bello J.J. 2019. Temporary immersion improves *in vitro* multiplication and acclimatization of *Anthurium andraeanum* Lind. Scientia Horticulturae. 249: 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.053>.

Martínez-Villegas Y.M., Andrade-Rodríguez M., Colinas-León M.T., Villegas-Torres Ó.G., Castillo-Gutiérrez A. & Alia-Tejacal I. 2015. Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lotsy).

Medellín L.A.C., Rozo A.M.B. & Trujillo M.M.P. 2016. Ensayo preliminar sobre la utilización de un medidor portátil de clorofila para estimar el nitrógeno foliar en orégano (*Origanum vulgare* L.). Revista Facultad de Ciencias Básicas. 7(2): 150-165. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2051>.

Mixquititla-Casbis G. & Villegas-Torres Ó.G. 2016. Importancia de los fosfatos y fosfitos en la nutrición de cultivos. Acta Agrícola y Pecuaria. 2(3): 55-61.

Morales-Orellana R.J., Jadan M. & Romero P. 2014. Micropropagación de Anturio (*Anthurium andreanum* L.) en un sistema de inmersión temporal mediante organogénesis indirecta a partir de secciones de hoja. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Universidad de las fuerzas armadas ESPE. Sede Sangolquí.

Muñiz R. 2019. Diseño y construcción de un sistema de inmersión temporal de bajo costo para la propagación *in vitro* de plantas bajo el enfoque de una tecnología apropiable. Tekhné. 22(2): 60-79.

Murashige T. & Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.

Nataraj S.K., Kirtimala B., Naik H.S., Yallesh K., & Ramesha Y.S. 2019. Performance of Anthurium (*Anthurium anderanum* Lindl) cultivars under hill zone of Karnatak. Journal of Horticultural Sciences. 14(1): 69-74. <https://doi.org/10.24154/jhs.2019.v14i01.012>.

Ontaneda A.L.C., Herrera A.M. & Batista R.M.G. 2020. Eficiencia del sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional *in vitro*. Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas. 3(2): 173-182.

Ortega A. & Malavolta E. 2012. Los más recientes micronutrientes vegetales. Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica. 7: 16-25.

ProVerde, Trade strategies. 2021. <https://proverde.nl>. The Netherlands. (consultado abril 11, 2022).

Puentes-Páramo Y.J., Menjivar-Flores J.C. & Aranzazu-Hernández F. 2016. Concentración de nutrientes en hojas, una herramienta para el diagnóstico nutricional en cacao. Agronomía Mesoamericana. 27(2): 329-336. <https://doi.org/10.15517/AM.V27I2.19728>.

Ramírez-Mosqueda M.A., Cruz-Cruz C., Cano-Ricardez A. & Bello-Bello J.J. 2019. Assesment of different temporary immersion systems in the micropropagation of

anthurium (*Anthurium andreanum*). Biotechnology. 9(8): 1-7.
<https://doi.org/10.1007/s13205-019-1833-2>

Ramos Y.C., González A.J.T. & de los Baños A. 2015. Importancia del azufre en la agricultura. Cuba Tabaco. 16(1): 78-85.

Rego L.V.D. & de Faria R.T. 2001. Tissue culture in ornamental plant breeding: A review. Crop Breeding and Applied Biotechnology. 1(3): 283-299.
<https://doi.org/10.13082/1984-7033.V01N03A09>.

Rosales C., Brenes J., Salas K., Solano S.A. & Esquivel A.A. 2018. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* in temporary immersion systems as an alternative horticultural production method. Revista Chapingo Serie Horticultura. 24(1): 69-84.

Ross, M. 2004. Importancia del magnesio para altos rendimientos sostenibles en palma de aceite. Revista Palmas. 25(especial): 98-104.

Sharry, S.E., Adema, M. & Abedini, W. 2015. Plantas de probeta. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).

Soleimani-Pour, A., Chegini, G., Zarafshan, P. & Massah, J. 2018. Curvature-based pattern recognition for cultivar classification of Anthurium flowers. Postharvest Biology and Technology. 139: 67-74.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.013>.

Vilchez, J. & Albany, N. 2014. Multiplicación *in vitro* de *Psidium guajava* L. en sistemas de inmersión temporal. Revista Colombiana de Biotecnología. XVI(2): 96-103. <https://doi.org/10.14446/rev.colomb.biotec.v16n2.42180>.