

Respuesta de plantas micropropagadas de *Opuntia stricta* Haw. en aclimatización y campo

Marina Medeiros de Araújo Silva¹, Lindomar Maria de Souza²

¹Instituto Nacional do Semiárido (Insa/MCTIC). Av Francisco Lopes de Almeida S/N Serrotão. Campina Grande. Paraíba. Brasil. CP 10067. e-mail: marinamedeirosas@yahoo.com.br

²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros S/N Dois Irmãos. Recife. Pernambuco. Brasil. CEP 52171-900.

RESUMEN

El nopal forrajero (*Opuntia stricta* Haw.) es un cultivo de gran importancia para la región semiárida de Brasil que se ha propagado a través de cultivo *in vitro* mediante la activación de areolas. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de plantas micropropagadas de *Opuntia stricta* Haw. variedad 'Oreja de Elefante Mexicana' durante su aclimatización y plantación en campo. Las plantas fueron aclimatizadas en tubetes y bolsas plásticas con una mezcla de suelo y estiércol, y mantenidas en invernadero por 130 días. Posteriormente las plantas cultivadas en tubetes fueron divididas en nueve tratamientos, de acuerdo con su altura (entre 6 y 14 cm) y llevadas al campo. El uso de tubetes proporcionó mayor supervivencia, altura y masa fresca y seca de los cladodios. En cuanto al desarrollo radicular, no hubo diferencias significativas entre los envases utilizados. Al final de la aclimatización se observó que las plantas no tenían un desarrollo uniforme, con variaciones de altura. Después de los 15 primeros días en campo, la mayoría de las plantas con brotes primarios tenían altura superior a 10 cm. A los 60 días la supervivencia fue 100% y todas las plantas presentaban brotes, incluso las de menor altura, pero se recomienda que sean utilizadas plantas mayores de 10 cm, debido al mejor establecimiento a las condiciones de campo. Los resultados demostraron la viabilidad del uso de plantas micropropagadas para el establecimiento de campos de nopal forrajero.

Palabras clave: cladodios, cultivo *in vitro*, nopal forrajero, región semiárida

Response of *Opuntia stricta* Haw micropropagated plants in acclimatization and field

ABSTRACT

Forage palm (*Opuntia stricta* Haw.) is a great important crop for the semi-arid region of Brasil. It has been propagated through *in vitro* culture, by areole activation. This work aimed to determine the response of *Opuntia stricta* Haw. variety 'Oreja de Elefante Mexicana' micropropagated plants during its acclimatization and field planting. Plants were acclimatized in tubes and plastic bags with a mixture of soil and manure, and it were kept in greenhouse for 130 days. Later, the plants kept in tubes were divided into nine treatments, according to their size (between 6 to 14 cm), and transfer to the field. The use of tubes provided a higher survival, height, fresh and dry mass of the cladodes. There was no significant differences between the recipients used for root development. At the end of acclimatization it was observed that plants did not have a uniform development, presenting size variation. After the first 15 days in the field, the majority of the plants with primary shoots were larger than 10 cm. At 60 days the survival was 100%, and all plants presented shoots, even the smallest. However, is recommended that plants larger than 10 cm will be used, due to the better establishment to field conditions. The results demonstrate the feasibility in the use of micropropagated plants for the establishment of forage palm fields.

Keywords: cladodes, forage palm, *in vitro* culture, semi-arid region

INTRODUCCIÓN

El nopal forrajero (*Opuntia stricta* Haw.) presenta alta eficiencia en el uso de agua, por ello es considerada una especie xerofítica con potencial de exploración para la región

semiárida de Brasil (Cushman *et al.*, 2015). Además, constituye un importante recurso forrajero para la alimentación animal, especialmente en la estación seca. La variedad 'Oreja de Elefante Mexicana' se destaca por su rusticidad, potencial de crecimiento y facilidad

de adaptación a las condiciones del clima. Por otra parte, es resistente a la plaga cochinilla del carmín (*Dactylopius* sp.), de manera que sus áreas de cultivo se están expandiendo en el Nordeste brasileño (Pinheiro *et al.*, 2014).

La plantación de estacas o cladodios es la principal vía de propagación vegetativa de las especies de *Opuntia*. Sin embargo, la micropropagación se ha mostrado como un sistema eficiente de multiplicación a gran escala de este cultivo, ya que permite la producción de plantas sanas y uniformes en corto tiempo (Escobar *et al.*, 1986; Vasconcelos *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2010). Entre las fases de la micropropagación, la aclimatización, que se refiere al ajuste gradual de las plantas a condiciones *ex vitro* antes de que sean llevadas al campo, depende de diversos factores (Souza *et al.*, 2015). El tipo de envase y sustrato utilizado podrá, por ejemplo, ejercer una influencia notable en el crecimiento y desarrollo de las plantas y, consecuentemente, en la duración de esta fase (Oliveira *et al.*, 2014).

Después de la aclimatización se recomienda que las plántulas de mayor tamaño sean empleadas para el establecimiento de un nuevo campo de nopal, ya que estas tendrán mayor resistencia y un crecimiento más uniforme, así como evita costos adicionales por la replantación (Costa *et al.*, 2010). En este sentido, Peixoto *et al.* (2006) y Costa *et al.* (2010) consiguieron obtener plantas de *O. ficus-indica* var. 'Gigante' mayores que 20 cm después de seis y ocho meses de cultivo en invernadero, respectivamente. Sin embargo, este período es considerado largo y demanda mano de obra y atenciones culturales lo que eleva los costos de producción.

De este modo, las estrategias para reducir el tiempo de cultivo de las plantas en invernadero y definir las condiciones ideales para que estas sean llevadas al campo deben ser más investigadas, ya que pueden conducir a una mayor efectividad de los procesos de producción de plantas por micropropagación. En el caso de *O. stricta* no se encontraron referencias previas sobre indicadores de las características que deben tener las plantas micropropagadas para ser llevadas a campo.

Atendiendo a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de plantas

micropropagadas de *O. stricta* en aclimatización y campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon plantas *in vitro* de *O. stricta*, var. 'Oreja de Elefante Mexicana', micropropagadas por medio de la activación de areolas en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) con 2.2 μ M de N⁶-bencilaminopurina (BAP) y 0.57 μ M de ácido indolacético (AIA), de acuerdo con el procedimiento descrito por Souza (2013).

Aclimatización

Las plantas (>2 cm) fueron individualizadas y transferidas para dos tipos de envases: tubetes de polipropileno (volumen de 290 cm³) y bolsas plásticas (volumen de 470 cm³), que contenían como sustrato una mezcla de suelo y estiércol bovino curtido (1:1). Los envases (160 de cada tipo) fueron mantenidos en invernadero con reducción del 50% de luminosidad (Figura 1 A). El riego se realizó dos veces por semana. A los 40 días, en cada tratamiento, se cuantificó el número de plantas vivas y se calculó el porcentaje de supervivencia de las plantas. Además, se evaluaron las variables de crecimiento: altura y grosor de los cladodios (cm), longitud de las raíces (cm), masa fresca y seca (g) de la parte aérea y raíces. Posteriormente, las plantas fueron transferidas al invernadero sin sombreado, donde permanecieron por otros tres meses, con un riego por semana.

Después del período de tres meses, sólo las plantas mantenidas en tubetes se consideraron para ser llevadas al campo, dado que éstas presentaban un mejor desarrollo.

Plantación en campo

A los 130 días de aclimatización (Figura 1 B), se midió la altura (cm), ancho (cm), perímetro (cm) y grosor (cm) de las plantas cultivadas en tubetes. Además, se cuantificó el número de plantas con brotes primarios. Esta caracterización fue utilizada para el establecimiento de tratamientos para la plantación en campo, que tuvo en cuenta especialmente la altura de los cladodios. Las plantas que formaban los tratamientos fueron elegidas considerando pequeños intervalos en la altura y excluyendo aquellas que presentaban

brotos. Posteriormente las plantas se llevaron a campo (Figura 1 C).

El experimento fue conducido en la Estación Experimental del INSA (Instituto Nacional do Semiárido), situada en el área de alcance del semiárido brasileño, en la ciudad de Campina Grande, Paraíba, Brasil, entre septiembre y noviembre de 2014. Se utilizó un área de 71.25 m² y las plantas fueron dispuestas con una distancia de plantación de 1.5 x 0.5 x 0.5 m, en tres hileras dobles, totalizando 108 plantas (12 por tratamiento, divididos en parcelas de cuatro plantas cada una). No se realizaron riegos.

Las evaluaciones consistieron en observaciones de las características morfológicas y cuantificación del número de plantas vivas (con lo cual se calculó el porcentaje de supervivencia) y del número de plantas que emitieron brotes (cladodios primarios) a los 15, 30, 45 y 60 días después de la plantación (DDP).

Los valores registrados de las variables climáticas durante el período del experimento fueron: temperatura media de 24 ± 2°C, humedad relativa 72 - 79% y precipitación media de 0.029 mm día⁻¹.

Análisis estadístico

Para la aclimatación el diseño experimental fue enteramente aleatorizado. Los datos cuantitativos se sometieron a un análisis de varianza y la comparación entre las medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. El experimento de campo fue conducido en bloques al azar y los datos se analizaron mediante técnicas estadísticas descriptivas. Todos los análisis se procesaron con el software Assistat, versión 7.7 beta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo de recipiente utilizado tuvo influencia en la aclimatación de plantas de nopal forrajero var. 'Oreja de Elefante Mexicana' (Tabla 1). El uso de tubetes proporcionó una mayor supervivencia, altura y masa fresca y seca de los cladodios en comparación con el uso de bolsas plásticas. Tasas de supervivencia superiores a 90% se han referido para diferentes especies de cactus por otros autores (Montiel-Frausto *et al.*, 2016; Silva y Ferreira, 2016). Esto es debido a las características especializadas que estas plantas tienen para la reducción de la pérdida de agua, lo que favorece la adaptación a condiciones *ex vitro*.

En relación con las otras variables analizadas grosor del cladodio, longitud de las raíces, masa fresca y seca de las raíces no hubo diferencias significativas para las plantas cultivadas en los dos tipos de envases utilizados. A pesar de que la bolsa plástica presenta un volumen mayor que el tubete, para las variables relacionadas con el sistema radical a este tiempo de evaluación (40 días de aclimatación) no se encontraron diferencias. Sobre lo anterior, se ha informado que en envases mayores el crecimiento de las plantas es superior, sin embargo, la restricción de espacio impuesta por el volumen del tubete no fue una limitante para el desarrollo de las plantas de la variedad de nopal estudiada. Según Antoniazzi *et al.* (2013), las plantas producidas en condiciones de restricción radical pueden pasar por un proceso de endurecimiento, que puede propiciar el desarrollo de mecanismos de tolerancia a condiciones de campo y contribuir al aumento en el desempeño después de la plantación. Sin embargo, es importante señalar que estas respuestas pueden variar de acuerdo con la especie y/o variedad estudiada.

Tabla 1. Crecimiento de plantas micropropagadas de *O. stricta* var. 'Oreja de Elefante Mexicana' a los 40 días de aclimatación en dos tipos de envases.

| Envase | Supervivencia (%) | AC (cm) | MFC (g) | MSC (g) |
|----------------|-------------------|---------|---------|---------|
| Tubete | 100 a | 7.7 a | 3.6 a | 0.14 a |
| Bolsa plástica | 92 b | 6.3 b | 2.0 b | 0.09 b |

AC= Altura de los cladodios, MFC= masa fresca del cladodio, MSC= masa seca del cladodio. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

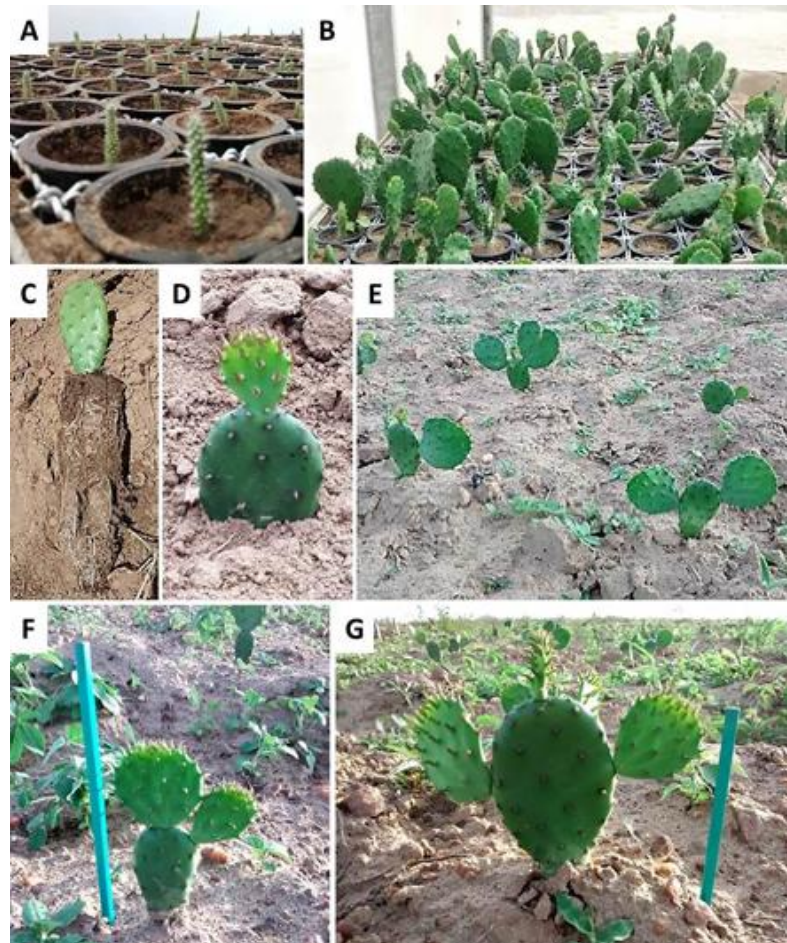


Figura 1. Plantas micropropagadas de *O. stricta* var. 'Oreja de Elefante Mexicana', en fase de aclimatización y en campo: (A) Plantas en el principio y (B) en el fin de la aclimatización bajo condiciones de invernadero, (C) planta proveniente del tubete listo para la plantación en campo, (D) planta del tratamiento T3 ($>8 <9$ cm) a los 15 días de la plantación, (E) aspecto de las plantas a los 60 días de la plantación, (F) planta del tratamiento T1 ($>6 <7$ cm) y (G) T9 ($>14 <15$ cm) a los 60 días de la plantación en campo.

El sustrato utilizado fue adecuado para el proceso de aclimatización, lo que permitió el desarrollo del sistema radical en ambos envases utilizados. Sobre lo anterior, Peixoto *et al.* (2006) estudiando diferentes sustratos para la aclimatización de *O. ficus-indica* var. 'Gigante', concluyeron que los sustratos a base de estiércol bovino (1:1 y 2:1) proporcionan un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas. La proporción de 1:1 también fue recomendada por Souza *et al.* (2015), ya que mostró buenos resultados para la aclimatización de diferentes variedades de nopal forrajero.

A los 130 días de aclimatización se observó que las plantas no mostraron un desarrollo uniforme, y presentaron variación en la altura

(Tabla 2 y Figura 1 B). Las plantas que provenían de los tubetes, mostraron un mayor desarrollo y por ello se consideraron para su evaluación en campo. Según la altura se conformaron diez grupos: T1 ($\geq 6 < 7$ cm), T2 ($\geq 7 < 8$ cm), T3 ($\geq 8 < 9$ cm), T4 ($\geq 9 < 10$ cm), T5 ($\geq 10 < 11$ cm), T6 ($\geq 11 < 12$ cm), T7 ($\geq 12 < 13$ cm), T8 ($\geq 13 < 14$ cm), T9 ($\geq 14 < 15$ cm), T10 ($\geq 15-20$ cm). Los resultados en relación con la altura, el ancho, el perímetro, el grosor de los cladodios y la presencia de brotes (cladodios primarios) se observan en la Tabla 2. Según Donato (2011), el conocimiento de las variables morfológicas como alargamiento y brotación de los cladodios es muy importante para la evaluación del potencial de adaptación de una especie o variedad al ambiente donde se cultiva.

Tabla 2. Características de los cladodios de plantas micropropagadas de *O. stricta* var. 'Oreja de Elefante Mexicana', después de 130 días de aclimatización en tubetes, utilizadas para el establecimiento de los tratamientos de plantación en campo (T1 a T9).

| Grupos en base a la altura de las plantas | Nº de plantas | Altura (cm) | Ancho (cm) | Perímetro (cm) | Grosor (mm) | Nº de plantas con brotes |
|---|---------------|--------------|-------------|----------------|--------------|--------------------------|
| T1 | 14 | 6.38 ± 0.26 | 2.95 ± 0.33 | 14.52 ± 1.14 | 8.88 ± 0.85 | 0 |
| T2 | 14 | 7.24 ± 0.23 | 3.02 ± 0.32 | 16.50 ± 0.71 | 8.51 ± 1.67 | 0 |
| T3 | 12 | 8.28 ± 0.19 | 3.13 ± 0.45 | 17.71 ± 0.91 | 9.21 ± 1.35 | 0 |
| T4 | 21 | 9.26 ± 0.25 | 3.41 ± 0.42 | 19.90 ± 1.27 | 8.60 ± 1.06 | 0 |
| T5 | 18 | 10.31 ± 0.25 | 3.84 ± 0.44 | 22.18 ± 0.98 | 9.61 ± 1.78 | 0 |
| T6 | 17 | 11.28 ± 0.27 | 4.18 ± 0.60 | 24.01 ± 1.29 | 10.29 ± 2.46 | 0 |
| T7 | 16 | 12.23 ± 0.22 | 4.64 ± 0.91 | 24.90 ± 2.71 | 10.00 ± 1.99 | 2 |
| T8 | 17 | 13.34 ± 0.29 | 4.86 ± 0.82 | 25.45 ± 4.49 | 10.78 ± 2.49 | 2 |
| T9 | 14 | 14.24 ± 0.23 | 5.20 ± 0.58 | 28.38 ± 4.00 | 11.15 ± 0.76 | 2 |
| T10 | 17 | 16.85 ± 1.52 | 5.57 ± 0.59 | 30.92 ± 4.89 | 10.69 ± 1.67 | 10 |

Se presentan las medias ± desviación estándar. T1 ($\geq 6 < 7$ cm), T2 ($\geq 7 < 8$ cm), T3 ($\geq 8 < 9$ cm), T4 ($\geq 9 < 10$ cm), T5 ($\geq 10 < 11$ cm), T6 ($\geq 11 < 12$ cm), T7 ($\geq 12 < 13$ cm), T8 ($\geq 13 < 14$ cm), T9 ($\geq 14 < 15$ cm), T10 ($\geq 15 - 20$ cm)

De las 160 plantas aclimatizadas en tubetes, la mayoría (64.37%) presentaba entre 9 y 13 cm, y sólo 17 plantas tenían entre 15 y 20 cm. Los cladodios primarios fueron emitidos por pocas plantas y sólo por aquellas de mayor altura (superior a 12 cm) (Tabla 2). Las plantas llevadas al campo fueron las correspondientes a los grupos del T1 al T9 y que no tuvieran brotes. Para la var. 'Gigante', Peixoto *et al.* (2006) verificaron un mayor número de brotes (2.25 y 2.50 por planta) en plantas cultivadas en sustratos a base de estiércol bovino (1:1 y 2:1), a los 180 días de aclimatización. En estos tratamientos también se obtuvieron plantas con mayor altura (más de 25 cm). Según los autores, la mezcla de estiércol bovino con suelo mejora las características del suelo, forneciendo materia orgánica para el buen desarrollo de las plantas. Aunque no fue evaluado, las raíces tenían buen volumen y desarrollo, de modo que el terrón no se rompió en el momento de la retirada del tubete (Figura 1 C).

Las plantas micropropagadas y llevadas al campo con cladodio con altura inferior a 10 cm lograron sobrevivir y empezaron la emisión de brotes a partir de los 15 primeros días después del trasplante (Figura 1 D), sin diferencias significativas entre los tratamientos estudiados para las medias obtenidas en cuanto al número de cladodios con brotes (Figura 2). Sin

embargo, hubo un mayor número de plantas con brotes en aquellas trasplantadas con tamaño superior a 10 cm, de las cuales 68% ya habían emitido cladodios primarios hasta los 30 DDP. Para este mismo período, sólo 35% de las plantas menores que 10 cm presentaban brotes. Las plantas con mayor tamaño tienen mayor cantidad de reservas, las cuales favorecen el crecimiento de los tejidos vegetales y, en consecuencia, el aumento de la producción por área (Costa *et al.*, 2010).

Después de los 60 días en campo la supervivencia fue 100% y todas las plantas presentaban emisión de brotes primarios (Figura 1 E, F, G y Figura 2), incluso las de menor altura, lo que demostró que el tiempo de aclimatización puede ser reducido. Sin embargo, es importante señalar que, dependiendo de las condiciones climáticas, el empleo de plantas con menor área de cladodio puede requerir riegos frecuentes durante su cultivo, debido a la menor cantidad de reservas. El crecimiento inicial del nopal forrajero es relativamente lento, y su desarrollo inicial se realiza en función de las reservas ya existentes en el cladodio madre (Donato, 2011). De esta manera, se recomienda que sean utilizadas las plantas con altura superior a 10 cm, ya que como contienen más reservas de agua y nutrientes, se puede favorecer su

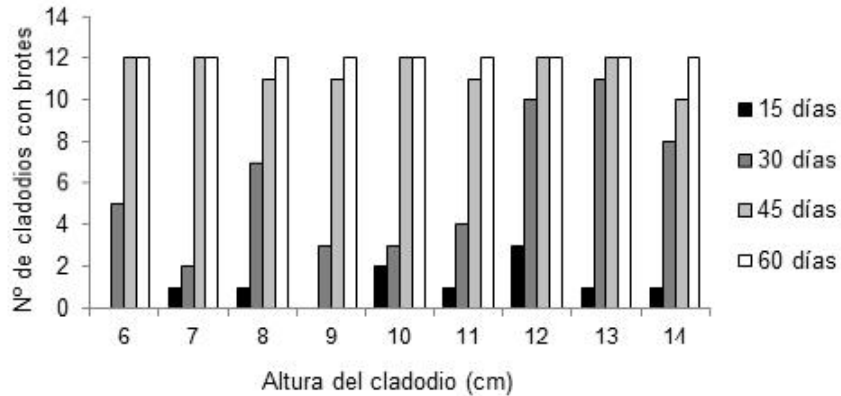


Figura 2. Número de plantas micropropagadas de *O. stricta* var. 'Oreja de Elefante Mexicana' que emitieron brotes a lo largo de 60 días después de la plantación en campo.

establecimiento en condiciones de campo. Costa *et al.* (2010) verificaron que para la var. 'Gigante' las plantas de mayor tamaño presentaban una producción superior de masa seca, pero que no había influencia del tamaño en relación con la composición química de las plantas.

Durante el período en que se observó el crecimiento vegetativo, no fueron verificadas alteraciones morfofisiológicas en las plantas. Se descartó la ocurrencia de posibles variaciones que se pueden encontrar en plantas obtenidas por cultivo de tejidos. El alto grado de fidelidad clonal que presentan las técnicas de cultivo *in vitro* para el nopal forrajero, las hacen factible para la propagación masiva y la conservación *in vitro* de los recursos genéticos de interés de esta especie (Zoghalmi *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

La presente investigación demostró las potencialidades de las plantas de nopal forrajero var. 'Oreja de Elefante Mexicana' procedentes de la propagación clonal *in vitro*, por lo que se recomienda que la aclimatización se realice en tubetes con sustrato de una mezcla de suelo y estiércol bovino curtido (1:1), por proporcionar una supervivencia elevada y mayor calidad de las plantas. Las plantas llevadas al campo presentaron buen desarrollo y alcanzaron una alta supervivencia, independientemente de su altura. No obstante, se recomienda que sean plantadas con altura superior a 10 cm, ya que contienen mayores reservas y emiten brotes más precozmente, lo que favoreció el

establecimiento de estas plantas en condiciones de campo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CETENE (Centro de Tecnologías Estratégicas para el Nordeste, Recife, Pernambuco, Brasil) por la donación de las plantas usadas en este trabajo.

REFERENCIAS

- Antoniazzi AP, Binotto B, Neumann GM, Sausen TL, Budke, JC (2013) Eficiência de recipientes no desenvolvimento de mudas de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae). *Revista Brasileira de Biociências* 11(3): 313-317
- Costa MRGF, Carneiro MSS, Pereira ES, Feitosa JV, Sales RO, Morais Neto LB, Peixoto MJA (2010) Produção e composição química da palma forrageira micropropagada *in vitro*. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 11(4): 953-960
- Cushman JC, Davis SC, Yang X, Borland AM (2015) Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66(14): 4177-4193; doi: 10.1093/jxb/erv087
- Donato PER (2011) Características morfológicas, de rendimento e nutricionais da palma forrageira sob diferentes espaçamentos e doses de esterco. Tesis presentada como requisito para obtener el grado de Doctor en Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Brasil
- Escobar HA, Villalobos VM, Villegas A (1986) *Opuntia* micropropagation by axillary proliferation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 7(3): 269-277; doi: 10.1007/BF00037744

- Montiel-Frausto LB, del Valle JRE, Cisneros A (2016) Propagación *in vitro* de *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Britton y Rose. *Biotecnología Vegetal* 16(2): 113-123
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissues cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497; doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Oliveira JAA, Pereira MCT, Nietsche S, Souza VNR, Costa IJS (2014) Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira em diferentes substratos e recipientes. *Agrária* 9(1): 72-78; doi: 10.5039/agraria.v9i1a3682
- Peixoto MJA, Carneiro MSS, Souza PZ, Diniz JDN, Souto JS, Campos FAP (2006) Desenvolvimento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., em diferentes substratos, após micropropagação *in vitro*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 28(1): 17-20; doi: 10.4025/actascianimsci.v28i1.659
- Pinheiro KM, Silva TGF, Carvalho HFS, Santos JEO, Morais JEF, Zolnier S, Santos DC (2014) Correlações do índice de área do cladódio com características morfogênicas e produtivas da palma forrageira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 49(12): 939-947; doi: 10.1590/S0100-204X2014001200004
- Silva MMA, Ferreira LT (2016) Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactáceas. Insa, Campina Grande; ISBN: 978-85-64265-32-5
- Souza LM (2013) Uso de citocininas não convencionais (meta-topolinas) no controle de anomalias em plantas micropropagadas: redução de perdas na micropropagação. Tesis presentada como requisito para obtener el grado de Maestro en Agronomía, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil
- Souza LM, Silva MMA, Araújo JS (2015) Aclimatização de mudas de palma forrageira. Como fazer. Insa, Campina Grande; ISBN: 978-85-64265-29-5
- Vasconcelos AGV, Lira MA, Cavalcanti VAL, Santos MVF, Camara T, Willadino L (2007) Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenillifera* - SalmDyck). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 2(1): 28-31
- Zoghalmi N, Bouamama B, Khammassi M, Ghorbel A (2012) Genetic stability of long-term micropropagated *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. plantlets as assessed by molecular tools: Perspectives for *in vitro* conservation. *Industrial Crops and Products* 36(1): 59-64; doi: 10.1016/j.indcrop.2011.08.006

Recibido: 22-04-2017

Aceptado: 24-05-2017