



Regeneración *in vitro* de arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.) a partir de yemas apicales

In vitro regeneration of arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.) from apical buds

Angel David Hernández Amasifuen; Alexandra Jherina Pineda Lázaro; Julio Alcides Rojas Chávez; Hermila Belba Díaz Pillasca


Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Av. Mercedes Indacochea 609, Huacho.


*Autor corresponsal: adhernandz@hotmail.com (A. D. Hernández Amasifuen).

ID ORCID de los autores

A. D. Hernández Amasifuen:  <https://orcid.org/0000-0001-8267-409X>

A. J. Pineda Lázaro:  <https://orcid.org/0000-0002-0783-8434>

J. A. Rojas Chávez:  <https://orcid.org/0000-0001-7410-9154>

H. B. Díaz Pillasca:  <https://orcid.org/0000-0002-2491-3774>

RESUMEN

El ají supano o arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.), es un ecotipo originario del valle de Supe, provincia de Barranca, de gran importancia en la cultura culinaria del norte chico de la región Lima. En la actualidad su área de cultivo se encuentra reducida, siendo su única área de conservación *in situ*, por lo que es necesario su conservación en condiciones *ex situ*, como bancos de semillas o *in vitro*. La alternativa de conservación en condiciones *in vitro* permitirá obtener plántulas libres de patógenos, su multiplicación masiva en cualquier época del año y conservación para programas de mejoramiento genéticos. Con este contexto, se planteó el objetivo de obtener plántulas completas mediante la regeneración *in vitro* de arnaucho a partir de yemas apicales. Se establecieron *in vitro* semillas de arnaucho desinfectando con alcohol (70%) y NaClO (1.5 %) y cultivados en medio MS. Para la regeneración se presentaron tratamientos con diferentes concentraciones de sales MS y ácido giberélico. Se regeneraron plántulas completas en todos los tratamientos, así como la formación de raíces. Se obtuvieron plántulas de mayor altura (9,11 cm), número de nudos (5,89) y número de hojas (8,35) con la adición de 0,5 mg/L de ácido giberélico al medio de cultivo.

Palabras clave: Biotecnología; ají supano; ácido giberélico; Supe; Barranca.

ABSTRACT

The chili from Supe or arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.), is an ecotype native to the Supe valley, Barranca province, of great importance in the culinary culture of the northern part of the Lima region. At present, its cultivation area is reduced, being its only conservation area *in situ*, so it is necessary to preserve it *ex situ* conditions, such as seed banks or *in vitro*. The alternative of conservation under *in vitro* conditions will allow obtaining pathogen-free seedlings, their massive multiplication at any time of the year and conservation for genetic improvement programs. With this context, the objective of obtaining complete seedlings by *in vitro* regeneration of arnaucho from apical buds was raised. Arnaucho seeds were established *in vitro* by disinfecting with alcohol (70%) and NaClO (1.5%) and cultured in MS medium. For regeneration, treatments with different concentrations of MS salts and gibberellic acid were presented. Complete seedlings were regenerated in all treatments, as well as the formation of roots. Seedlings of greater height (9.11 cm), number of nodes (5.89) and number of leaves (8.35) were obtained with the addition of 0.5 mg / L of gibberellic acid to the culture medium.

Keywords: Biotechnology; chili from Supe; gibberellic acid; Supe; Barranca.

Recibido: 14-01-2021.
Aceptado: 11-03-2021.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

INTRODUCCIÓN

Dentro de los miembros más importantes de la familia de las Solanáceas forma parte el género *Capsicum*, dotada de gran importancia histórica, culinaria y agroeconómica. El uso del cultivo se remonta a la época prehispánica por lo que se le considera dentro de los cultivos domesticados más antiguos, siendo útil como condimento y en aplicaciones medicinales (Rodríguez et al., 2015). La expansión y modificación de los ajíes al mundo surgió a mediados de la década de 1650 impulsada por los españoles en Europa, desde sus centros de origen; la región Andina Central y Mesoamérica, en estas zonas se concentran de 20 a 30 ancestros silvestres, de los cuales 11 se ubican en el Perú, donde se puede encontrar comercialmente distintas variedades de 5 especies principalmente cultivadas como; *Capsicum annum* L., *Capsicum baccatum* L., *Capsicum chinense* Jacq. y *Capsicum frutescens* L., *Capsicum pubescens* Ruiz & Pav. Esta producción se desarrolla dentro de 24 departamentos del Perú, donde Lima destaca por su mayor producción de ají amarillo y en Oxapampa se produce más el rocoto (Ibiza et al., 2012).

El consumo del ají es difundido por la gran gastronomía peruana, que en favor de potenciar la economía peruana y de los productores de ajíes, propone el uso de los ajíes nativos de nuestro país por lo que investigaciones como Meckelmann et al. (2013), plantean profundizar los conocimientos sobre éstos asimismo de seleccionar ajíes promisorios proyectando el incremento de la producción de semillas de estas variedades en los campos. De esta selección reluce en la gastronomía los ajíes de la especie *Capsicum chinense* Jacq., oriundos de la Amazonia peruana y distribuidos y adaptados a climas cálidos y secos de la costa norte del Perú y países del norte de Sudamérica.

En el Perú se considera a *Capsicum chinense* Jacq., como el ají que presenta mayor variabilidad genética, debido a su diversidad de tamaños, formas y colores, una característica común en cultivos de la costa del norte del Perú. Los principales cultivos de *Capsicum chinense* Jacq., que se consideran en el Perú son el ají dulce, ají limo, ají mochoero, ají panca y ají supano (Aliaga, 2019; López et al., 2020).

El ají supano o arnaucho, es un ecotipo de *Capsicum chinense* Jacq., originario del valle de Supe, en la provincia de Barranca. Es precariamente estudiado pero muy representativo en la cultura culinaria del Norte Chico de la región Lima, su fruto se comercializa en los mercados de los distritos de la provincia de Barranca. Se caracteriza por poseer un color

morado rojo tipo trompo o globoso (Aliaga, 2019). Como recurso filogenético, el arnaucho comparte un acervo común con *Capsicum annum* L. por lo que son compatibles. Además, se reconoce que *Capsicum chinense* Jacq. contiene genes útiles en el rendimiento de la fruta, la resistencia a enfermedades y la acumulación de metabolitos; por tanto, esto conlleva a que su conservación sea de importancia para el mejoramiento genético de otras especies de ajíes (Aliaga et al., 2018; Aliaga & Vega, 2018).

El arnaucho presenta pocas áreas de cultivo, representado por ocho agricultores que los mantienen de manera tradicional en un área aproximada de 250 m² en la cuenca baja del río Supe, abordando los sectores de la campiña de río seco, campiña de Supe y Supe Pueblo. Considerándose al ecotipo en riesgo por preferencia en otros cultivos comerciales, de continuar esta actividad se podría presentar la pérdida de estos genotipos con genes de gran valor agronómico, así como se va evidenciando en ciudades cercanas a la provincia de Barranca y otras partes del Perú, en especies nativas o endémicas (Aliaga et al., 2020; Díaz et al., 2020).

El método de conservación que presenta el arnaucho es *in situ*, a partir de semillas de sus propias producciones. Pero es necesario la conservación de este importante material vegetal *ex situ*, en bancos de germoplasma que puedan respaldar al método convencional de conservación. Dentro de los métodos *ex situ* se podría optar por la conservación *in vitro*, debido a que permite mantener el material vegetal durante todo el año sin el efecto de los cambios estacionales, además presenta la ventaja de mantenerlos libre de patógenos y aprovechar en propagar los genotipos más promisorios para futuros programas de mejoramiento genético (Bonilla, 2015).

La aplicación de la biotecnología en especies de interés agronómico ha permitido desarrollar nuevos métodos de conservación y mejoramiento genético, es así mediante el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales se ha logrado regenerar plantas completas a partir de cualquier órgano, tejido o celular de una planta madre. Así mismo se ha logrado en estas condiciones propagar clonalmente individuos que no presentaban estas características de manera natural, multiplicando en gran cantidad individuos que presentan características de gran interés agronómico (Gutiérrez et al., 2003).

Por lo tanto, el objetivo del trabajo de investigación fue obtener plántulas completas mediante la regeneración *in vitro* de arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.) a partir de yemas apicales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron frutos maduros de arnaucho de la campiña del distrito de Supe, provincia de Barranca, departamento de Lima, y fueron trasladados al Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la escuela de Biología con mención en Biotecnología, ubicado en la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

Preparación de medios de cultivo

El medio de cultivo MS estuvo constituido por sales descritas por Murashige & Skoog (1962) a la mitad de su concentración, suplementado con sacarosa (17 g/L) y agar (6 g/L). El pH se ajustó antes de llevar a la autoclave a 5,8 con HCl 1N y NaOH 1N. Los medios de cultivo se autoclavaron a 121 °C y 1,2 bar de presión durante 20 minutos.

Establecimiento *in vitro*

Los frutos fueron seccionados para extraer las semillas de su interior, posterior se enjuagaron con agua y detergente líquido por unos cinco minutos. Las semillas pasaron por la fase de desinfección según el protocolo para el establecimiento *in vitro* de semilla de *Capsicum* (Hernández et al., 2019), sumergiéndolas en solución de alcohol (70%) durante 60 segundos, seguidamente en solución de NaClO (1,5%) durante 10 minutos en agitación constante, después se enjuagaron en agua destilado estéril por cinco minutos, repitiéndose este último paso dos veces más. Finalmente se colocaron tres semillas en tubo de ensayo con medio de cultivo y se mantuvieron en cámara de crecimiento con 25 ± 1 °C, 75% de humedad, intensidad lumínica de 1500 lux, fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad durante seis semanas.

Regeneración *in vitro*

Se seccionaron hojas y raíces de las plántulas germinadas *in vitro*, dejando epicótilos con yemas terminales. Los explantes se transfirieron a medios de cultivo con diferentes concentraciones de sales MS y ácido giberélico (Tabla 1). Todos los tratamientos estuvieron suplementados con glicina (2 mg/L), mioinositol (100 mg/L), ácido nicotínico (0,5 mg/L), piridoxina HCL (0,5 mg/L), tiamina HCL (0,1 mg/L), sacarosa (21 g/L) y agar (7 g/L), con pH de 5,8.

Todos los tratamientos se mantuvieron en condiciones controladas de 25 ± 1 °C, 75% de humedad, intensidad lumínica de 1500 lux, fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad durante ocho semanas.

Tabla 1

Composición de los medios de cultivo en cada tratamiento para la regeneración *in vitro* de arnaucho

Tratamiento	MS (%)	AG ₃ (mg/L)
T1	50	0
T2	100	0
T3	50	0,25
T4	100	0,25
T5	50	0,5
T6	100	0,5

AG₃ = ácido giberélico

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño estadístico fue completamente al azar (DCA) con arreglo factorial, para evaluar el efecto de la concentración de sales MS y del ácido giberélico. Cada tratamiento presento 10 repeticiones, teniendo como unidad experimental cada tubo de ensayo con un epicótilo con yema terminal. Se realizó la evaluación de las variables: porcentaje de explantes con regeneración, altura de explantes, número de nudos por explante, número de hojas por explante y porcentaje de explantes con formación de raíces.

Los datos de las variables evaluadas se colectaron transcurrida las ocho semanas del establecimiento en los medios de regeneración *in vitro*. Los datos se analizaron con el paquete estadístico Agricolae del programa R (versión 4.0.3), mediante Análisis de Varianza (ANVA) y prueba de Tukey para la comparación de medias ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El protocolo de desinfección empleado en el establecimiento *in vitro* de semillas de arnaucho permitió obtener 0% de contaminación y 91% germinación (Figura 1a). Resultados similares fueron obtenidos por Argüelles et al. (2020), quienes utilizando la misma metodología obtuvieron 0% de contaminación en semillas de paprika (*Capsicum annuum* L.) cv. Papri King, En el caso de Hernández et al. (2020), tuvieron 0% de contaminación en semillas de rocoto (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.) empleando el mismo protocolo, pero con modificaciones en la concentración de hipoclorito de sodio (2%) y el tiempo de exposición a la solución (15 minutos).

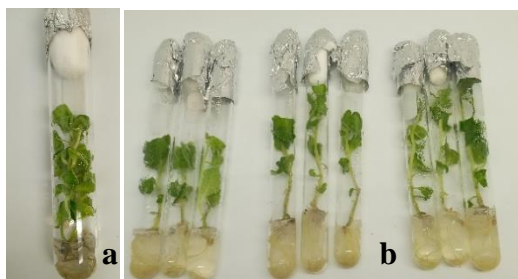


Figura 1. Plántulas de arnaucho germinadas en condiciones *in vitro* a las seis semanas de establecidos (a). Plántulas de arnaucho regeneradas a partir epicótilos con yemas terminales a las ocho semanas de establecidos (b).

Los explantes de epicótilos con yema terminal de arnaucho regeneraron en plantas completas y formaron raíces en condiciones *in vitro* (Figura 1b), en la primera semana se logró apreciar la respuesta de crecimiento de hojas y a partir de la segunda semana dio inicio a la formación de raíces.

En todos los tratamientos se obtuvo 100% de regeneración de las plántulas y formación de raíces a partir de epicótilos con yema terminal de arnaucho (Tabla 2). Estos resultados demuestran que el arnaucho es una especie que presenta respuesta positiva en regeneración y elongación en condiciones *in vitro*, y no respuesta recalcitrante como es considerada las especies del género *Capsicum* (Ochoa-Alejo & Ramírez-Malagón, 2001). Pero es importante destacar que en cultivo de tejidos vegetales la respuesta de cada explante y el éxito en la regeneración de órganos es genotipo dependiente (Andrade et al., 2013).

Los resultados en la regeneración son similares a los obtenidos por Izquierdo et al. (2017), quienes obtuvieron 100% de supervivencia y regeneración a partir de explantes de segmentos nodales de chiltepín (*Capsicum annuum* L.) cv. glabriusculum en medios de cultivo con sales basales MS adicionadas con 3% de sacarosa y también con tratamiento adicionando con 6-bencilaminopurina (BAP). Gutierrez-Rosati & Vega (2016) lograron la

regeneración de plantas completas sin anomalías a partir de epicótilos sin cotiledones, epicótilos sin yema terminal y epicótilos sin cotiledones y yema terminal en ají mirasol (*Capsicum baccatum* var. *Pendulum*), empleando medio basal y vitaminas MS, sin adicionar regulares de crecimiento.

Tabla 2

Respuesta de explantes de arnaucho a la regeneración *in vitro*

Tratamiento	Explantes regenerados (%)	Explantes con raíces (%)
T1	100 a	100 a
T2	100 a	100 a
T3	100 a	100 a
T4	100 a	100 a
T5	100 a	100 a
T6	100 a	100 a

Medias con letras distintas difieren significativamente según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Se formaron raíces en los explantes sin necesidad de la adición de regulares de crecimiento (T1 y T2), evidenciando que el genotipo en estudio no necesita de hormonas exógenas para dar inicio a rizogénesis. Una característica de algunos genotipos de la familia Solanaceae, es la capacidad de formar brotes, elongar, enraizar y regenerar plantas completas con bajas concentraciones de nutrientes y sin regulares de crecimiento (Rai et al., 2012; Srivastava et al., 2012).

Dentro de la familia Solanaceae se obtuvieron buenos resultados en la formación de raíces sin adicionar auxinas en los medios de cultivo en las especies de *Solanum betaceum* con 97% de plantas enraizadas (Criollo et al., 2016), *Solanum tuberosum* L. ssp. indígena (Araque et al., 2018), *Solanum lycopersicum* var. Cerasiforme (Botero-Giraldo et al., 2011), *Solanum tuberosum* var. María Reiche (López-Medina et al., 2019), papa nativa de pulpa de color (*Solanum tuberosum* L.) (López-Medina et al., 2020). Dentro del género *Capsicum* Gutierrez-Rosati & Vega (2016), obtuvieron raíces en todos sus explantes en estudio a partir de ají mirasol (*Capsicum baccatum* var. *Pendulum*), Izquierdo et al. (2017) formaron raíces a partir de

segmentos nodales de chiltepín (*Capsicum annuum* L.) cv. *Glabriusculum*, en medios de cultivo sin hormonas adicionales, el número de raíces y su longitud fue inferior a los que obtuvieron al adicionar Pectimorf (10 mg/L).

La respuesta de los explantes no presentaron interacción de los factores de concentración de sales MS y de ácido giberélico. En el caso del factor de concentración de sales MS (50% y 100%) no se presentó significancia, pero si evidencio significancia en el factor de concentración de ácido giberélico. Mostrándose diferencias significativas para las variables de altura de planta, número de nudos y número de hojas (Tabla 3). Obteniéndose plántulas de arnaucho con mayor altura, número de nudos y hojas adicionando 0,5 mg/L de ácido giberélico.

Tabla 3

Variables morfológicas evaluadas en el cultivo *in vitro* de epicótilos con yema terminal de arnaucho

Tratamiento	Altura (cm)	Número de nudos	Número de hojas
T1	6,02 c	4,45 b	6,26 b
T2	6,07 c	4,57 b	6,24 b
T3	7,94 b	5,27 ab	6,93 b
T4	7,85 b	5,12 ab	7,02 b
T5	9,11 a	5,89 a	8,35 a
T6	9,03 a	5,82 a	8,22 a

Medias con letras distintas difieren significativamente según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

La respuesta positiva de los explantees al adicionar ácido giberélico en los medios de cultivo, está relacionado a la propiedad del regulador de crecimiento en la estimulación de elongación de tallos y el crecimiento de hojas, proceso que permite un crecimiento y desarrollo mayor en las plantas (Ortega-Martínez et al., 2013).

Izquierdo et al. (2017) obtuvieron plántulas de chiltepín (*Capsicum annuum* L.) cv. *Glabriusculum* con 7,66 cm de altura a partir de segmentos nodales en medio MS, y también obtuvo plántulas de 7,05 cm de altura adicionando 10 mg/L de Pectimorf al medio de cultivo.

CONCLUSIONES

Se logró obtener plántulas completas mediante la regeneración *in vitro* de arnaucho (*Capsicum chinense* Jacq.) a partir de yemas apicales, en medio de cultivo MS sin la necesidad adicionar reguladores de crecimiento y también con la adición de ácido giberélico, pero con este último logrando obtener plántulas con mayor tamaño, número de hojas y número de nudos.

Se recomienda continuar con la fase de multiplicación, enraizamiento y aclimatación para establecer un protocolo de micropropagación de esta especie; también realizar estudios de organogénesis con otras estructuras de la planta o embriogénesis somática para obtener un mayor número de individuos por explante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aliaga, J. 2019. Caracterización y sostenibilidad del ají supano (*Capsicum chinense* Jacq.) En la cuenca baja del río supe, Lima. Tesis de doctorado, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Aliaga, J., Portalatino, E., Obregón, K., Rodríguez, A., & Jiménez, J. 2020. Presencia del "ají nativo supano" (*Capsicum chinense* Jacq.) en el valle de Supe, Perú. *Peruvian Agricultural Research*, 1(2), 58-63.

- Aliaga, J., & Vega, E. 2018. Variabilidad intragenotípica de *Capsicum chinense* Jacq. "ají Supano" provenientes de la cuenca baja del río Supe-Barranca. *Aporte Santiaguino*, 11(2), 251-262.
- Aliaga, J., Vega, E., Jiménez, J., & Rodríguez, A. 2018. Nivel de ploidía del ají Supano (*Capsicum chinense* Jacq.) provenientes de la cuenca baja del río Supe. *Infinitum*, 8(2), 121-125.
- Andrade, D., Córdoba, M., Criollo, H., & Lagos, T. 2013. Evaluación de medios de cultivo para propagación in vitro de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*. *Acta Agronómica*, 62(1), 27-36.
- Araque, E., Bohórquez, M., Pacheco, J., Correa, L., Urquijo, J., Castañeda, S., & Pacheco, J. 2018. Propagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21-31.
- Argüelles, A., Hernández, A., Cortez, A., & Díaz, H. 2020. Calogénesis in vitro de paprika (*Capsicum annuum* L.) cv. Papri King a partir de tallos. *Big bang faustiniano*, 9(1), 4-7.
- Bonilla, M. 2015. Conservación in vitro: una perspectiva para el manejo de los recursos fitogenéticos. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 6(1), 67-82.
- Botero-Giraldo, C., Restrepo-Osorio, C., & Urrea-Trujillo, A. 2011. Respuesta de tres genotipos de tomate al cultivo in vitro y asilamiento de protoplastos. *Actualidades Biológicas*, 33(94), 35-49.
- Criollo, H., Insuasti, K., & Delgado, W. 2016. Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol [*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt.]. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 252-261.
- Díaz, H., Honorio, Z., Hernández, A., Durand, M., Gózalo, A., & Domínguez, G. 2020. Identificación de especies frutícolas nativas con potencialidad productiva en peligro de extinción en la provincia de Huaura. *Aporte Santiaguino*, 13(2), 78-91.
- Gutiérrez, A., Santacruz, F., Cabrera, J., & Rodríguez, B. 2003. Mejoramiento genético vegetal in vitro. *E-Gnosis*, 1(4), 1-19.
- Gutiérrez-Rosati, A., & Vega, B. 2016. Micropropagación in vitro de "ají mirasol", *Capsicum Baccatum* var. *Pendulum*. *The Biologist*, 15(1), 171-181.
- Hernández, A., Argüelles, A., Cortez, A., & Díaz, H. 2020. Efecto de la concentración de 2,4-diclorofenoxiacético en la inducción de callos in vitro utilizando cotiledones de rocoto (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *The Biologist*, 17(2), 327-334.
- Hernández, A., Pineda, A., & Díaz, H. 2019. Efecto de la luz y del ácido giberélico en la germinación in vitro de *Capsicum annuum* L. cv. 'Papri King'. *Bioteología Vegetal*, 19(3), 165-170.
- Ibiza, V., Joaquín, J., & Nuez, F. 2012. Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(6), 1077-1088.
- Izquierdo, H., Alcaraz, L., & Rodríguez-Álvarez, M. 2017. Micropropagación de chiltepín (*Capsicum annuum* L. cv. 'glabriusculum') mediante el empleo de una oligosacarina de origen péctico. *Acta Universitaria*, 27(5), 34-43.
- López, S.; López, A., Gil, A.; Mostacero, J.; De La Cruz, A.; & Villena, L. 2020. Morfometría de frutos y semillas del "ají mochero" *Capsicum chinense* Jacq. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), e1598.
- López-Medina, E., Mostacero-León, J., Gil-Rivero, A., López-Zavaleta, A. & De La Cruz-Castillo, A. 2019. Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. *Maria Reiche*. *Rebiol*, 39(1), 1-9.
- López-Medina, E., Mostacero-León, J., Gil-Rivero, A., López-Zavaleta, A., De La Cruz-Castillo, A., & Villena, L. 2020. Efecto sinérgico del Ácido giberélico y del Ácido indolacético en la propagación in vitro de *Solanum tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color". *Rebiol*, 39(2), 49-57.
- Meckelmann, S., Riegel, D., van Zonneveld, M., Ríos, L., Peña, K., Ugas, R., Quinonez, L., Mueller-Seitz, E., & Petz, M. 2013. Compositional Characterization of Native Peruvian Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(10), 2530-2537.
- Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant*, 15, 473-497.
- Ochoa-Alejo, N., & Ramírez-Malagón, R. 2001. In vitro chilli pepper Biotechnology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 37(6), 701-729.
- Ortega-Martínez, L., Ocampo, J., Martínez, C., Pérez, A., & Sánchez, J. 2013. Efecto de las giberelinas sobre el crecimiento y calidad de plántulas de tomate. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 15(3), 56-60.
- Rai, R.; Diengdoh, L., Srivastava, A., & Bag, T. 2012. Efficiency of different nodal segments for potato micropropagation. *Environment and Ecology*, 30(3), 594-597.
- Rodríguez, W., Celis, A., Carvalho, R., Ferreira, R., & Peron, A. 2015. Caracterização cariotípica de acessos de *Capsicum* sp. *Acta Scientiarum Agronomy*, 37(2), 147-153.
- Srivastava, A., Diengdoh, L., Rai, R., Bag, T., & Singh, B. 2012. In vitro micropropagation and micro-tuberization potential of selected potato varieties. *Indian Journal of Hill Farming*, 25(2), 14-17.