



Influencia de la luz en el sinergismo entre la 6-BAP y el 2, 4-D para la inducción de callos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho”

Influence of light on the synergism between 6-BAP and 2,4-D for the induction of calluses of *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho”

Angélica López-Zavaleta¹; Segundo Eloy López-Medina¹; José Mostacero-León^{1*}; Armando Efraín Gil-Rivero¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹; Luigi Villena-Zapata²

1 Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Ciudad Universitaria, Av. Juan Pablo Segundo S/N, Trujillo- Perú.

2 Facultad de Ciencias Naturales y Aplicadas. Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua

*Autor corresponsal: jmostacero@unitru.edu.pe (J. Mostacero-León).

ID ORCID de los autores

A. López-Zavaleta:  <https://orcid.org/0000-0001-8935-2683>

A. E. Gil-Rivero:  <https://orcid.org/0000-0002-4521-5588>

S. E. López-Medina:  <https://orcid.org/0000-0001-7719-8607>

A. J. De La Cruz-Castillo:  <https://orcid.org/0000-0002-5409-6146>

J. Mostacero-León:  <https://orcid.org/0000-0003-2556-3013>

L. Villena-Zapata:  <https://orcid.org/0000-0001-9430-0028>

RESUMEN

Perú al ser megadiverso, alberga una ingente cantidad de flora medicinal; destacando de ellas *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”; especie promisoriosa, utilizada en el tratamiento de enfermedades respiratorias, nerviosas; además de ser un excelente depurativo y potenciador sexual masculino. Por lo que urge recurrir a procesos biotecnológicos que permitan generar cultivos celulares capaces de producir a gran escala estos metabolitos secundarios de interés farmacológico. Ante ello, se propuso determinar la influencia de la luz en el sinergismo del 6-bencil aminopurina (BAP) y el 2, 4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”. El material colectado procedió de la quebrada Los Molles, San Benito, Contumazá, Cajamarca. En Laboratorio, se procedió a cultivar explantes de *J. macrantha*, en medio de cultivo MS (1962), con distintas concentraciones de 6-BAP y 2, 4-D en condiciones de luz y oscuridad. La evaluación se efectuó 45 días después de la siembra, a través del software R. Se concluye que el sinergismo entre la 6-BAP y el 2, 4-D, no es influenciado por las condiciones de luz ni oscuridad; pudiéndose generar callos de *J. macrantha* a la concentración de 1mg^{-L} de BAP y 2,4 D indistintamente de las condiciones de luminosidad.

Palabras clave: hormona; in vitro; medio de cultivo; flora medicinal; callo celular.

ABSTRACT

Peru, being megadiverse, is home to a huge amount of medicinal flora; highlighting of them *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”; promising species, used in the treatment of respiratory and nervous diseases; besides being an excellent cleanser and male sexual enhancer. Therefore, it is urgent to resort to biotechnological processes that allow the generation of cell cultures capable of producing these secondary metabolites of pharmacological interest on a large scale. Given this, it was proposed to determine the influence of light on the synergism of 6-benzyl aminopurine (BAP) and 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D) in the induction of calluses of *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”. The collected material came from the Los Molles creek, San Benito, Contumaza, Cajamarca. In the laboratory, explants of *J. macrantha* were grown in MS (1962) culture medium, with different concentrations of 6-BAP and 2,4-D under light and dark conditions. The evaluation was carried out 45 days after sowing, through the R software. It is concluded that the synergism between 6-BAP and 2, 4-D, is not influenced by light or dark conditions; being able to generate calli of *J. macrantha* at the concentration of 1mg^{-L} of BAP and 2.4 D regardless of the light conditions.

Keywords: hormone; *in vitro*; culture medium; medicinal plant; cellular callus.

Recibido: 28-03-2021.

Aceptado: 23-05-2021.



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

INTRODUCCIÓN

Jatropha macrantha Müll. Arg. "huanarpo macho"; es una especie arbustiva promisoriosa de 2 a 3 m de alto, perteneciente a la familia Euphorbiaceae; se caracteriza por ser latescente, de ramas extendidas y carnosas; de raíz pivotante; y de flores con brácteas pequeñas, rojizas y periantadas, con sépalos oblongo-ovalados y pétalos de 2 cm de largo; dispuestas en inflorescencias tipo capítulos (Mostacero et al., 2009; Aguilar, 2015; López & López, 2017).

J. macrantha "huanarpo macho", es nativa y autóctona del Perú, propia de sitios pedregosos y de las laderas de los valles en la costa y sierra, entre los 1080- 1350 m.s.n.sm. Se reporta para las regiones de Arequipa, Huánuco, Lima, Cajamarca y Ancash; donde es empleado como parte de la medicina tradicional de las comunidades altoandinas del Perú (Mostacero, et al., 2009; Brako & Zarucchi, 1993; Aguilar, 2015; López & López, 2017).

Su uso etnobotánico se debe a la presencia de los compuestos: proantocianidinas, cumarinas, saponinas, flavonas, jatrofano y esteroides, que le atribuye propiedades farmacológicas de acción antiinflamatoria, antiasmáticas y afrodisíacas; por lo que hoy en día es considerado como el "viagra peruano", al aumentar los niveles de hormonas sexuales y mejorar la disfunción eréctil; por lo que se hace indispensable recurrir a tecnologías que permitan identificar, aislar y producir a gran escala

estos metabolitos secundarios de interés farmacológico (Cavalcante et al., 2020; Tinco et al., 2011; López & López, 2017; Guillen et al., 2018).

En tal sentido, la biotecnología vegetal procura ser el instrumento ideal para inducir y producir callos celulares. Estos son masas amorfas producto de la proliferación celular, con potencial de generar embriones, brotes y raíces; permitiendo así un mejor estudio de los metabolitos secundarios empleados en la industria farmacéutica (López & López, 2017; Morillo et al., 2018; Rosales, 2019).

El cultivo *in vitro* de callos constituye ser una buena alternativa para la producción a gran escala de metabolitos secundarios de interés industrial y farmacéutico; considerando que para la inducción de los mismos se ven involucrados factores hormonales y medio ambientales, responsables de generar la desdiferenciación y división celular intensiva (Barcia, 2020; Matos & Sánchez, 2011; Morán, 2020; Rodríguez et al., 2014; Borjas et al., 2020). Ante la necesidad de un mayor conocimiento en cuanto a la generación de callos en *J. macrantha*; se propuso como objetivo de investigación determinar la influencia de la luz en el sinergismo entre la 6-bencil aminopurina y el 2, 4-Diclorofenoxiacético en la inducción de callos de *J. macrantha* "huanarpo macho"; como una forma de cimentar las bases para la realización de futuras investigaciones que busquen la sustentabilidad de este recurso promisorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de colecta

El material biológico estuvo conformado por ramas con hojas, colectadas en la quebrada de los Molles, entre Ascope y San Benito, donde aún se conservan relictos de *J. macrantha* "huanarpo macho"; en las coordenadas 07°25'32" S y 78°55'37" W, y a una altitud de 1370 m.s.n.m. También se colectaron ramas floríferas de *J. macrantha*, la cual fue prensada, secada; para luego ser transportada al *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo (HUT), donde se realizó la determinación taxonómica y el posterior registro con el código N° 59026.



Figura 1. Hábito y flor *J. macrantha* "huanarpo macho", en la quebrada de los Molles.

Preparación de medio de cultivo

Para ello, se seleccionaron como explantes secciones foliares de 01 cm². Estos fueron desinfectados con una solución de Benlate al 1% por 5 minutos; siendo luego llevados a la cámara de flujo laminar, donde se les aplicó alcohol al 70% por

30 segundos e hipoclorito de sodio al 3%, por 3 minutos. Seguidamente se procedió a enjuagar 4 veces dichos explantes, con agua destilada estéril; para finalmente ser cultivados en medio de cultivo MS (1962), suplementada con distintas concentraciones de 6- Bencilaminopurina (6-BAP) y 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D), dependiendo del tipo de tratamiento (tabla1).

Tabla 1

Diseño experimental sobre la influencia de la luz en el sinergismo entre la 6- BAP y el 2, 4-D para la inducción de callos de *J. macrantha* "huanarpo macho"

	Tratamiento	MS	BAP (ppm)	2,4-D (ppm)
Luz	T1	0,5	0	0
	T2	1	0	0
	T3	1	1	1
	T4	0,5	1	1
	T5	1	1	0
	T6	0,5	1	0
	T7	1	0	1
	T8	0,5	0	1
Oscuridad	T9	0,5	0	0
	T10	1	0	0
	T11	1	1	1
	T12	0,5	1	1
	T13	1	1	0
	T14	0,5	1	0
	T15	1	0	1
	T16	0,5	0	1

Concluida esta actividad se transportaron a un cuarto de incubación, manteniéndose a una tempe-

ratura de 25 ± 2 °C, con un 80% de humedad relativa y un fotoperiodo de luz y/o oscuridad, según sea el tratamiento (tabla1).

Diseño y análisis estadístico

Este consistió de 16 tratamientos con 8 repeticiones por cada tratamiento, asignados de forma aleatoria (tabla 1). Los mismo que fueron evaluados a los 45 días de realizada la siembra;

tomándose como base para el estudio de la presencia de callos, la escala de Santana (1982), la cual consistió en tomar datos referentes al porcentaje de formación, color y consistencia de callos. Finalmente, estos valores se analizaron estadísticamente mediante el software R, empleando la prueba estadística Q de Cochran, Kruskal-Wallis y Duncan en la comparación de tratamientos del estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Si analizamos la tabla 2 y figura 2, se puede observar la distribución porcentual según tratamiento y la variable presencia de callo de *J. macrantha* “huanarpo macho”, a los 45 días de evaluación; en donde claramente los tratamientos T3 y T11, manifestaron presencia de callos en un 100 % (figura 3). De ello se infiere que, indistintamente a la condición de luz u oscuridad, se puede inducir la formación de callos celulares en la especie *J. macrantha*. Hecho que en parte concuerda con las investigaciones de López y López (2017), quienes sostienen haber obtenido callos celulares en *J. macrantha*, empleando un fotoperiodo 16:8 (luz: oscuridad); por lo que desde ya se podría decir que este factor físico, no influiría en la inducción de callos; por otro lado Solís et al.

(2013), también manifiestan haber obtenido callos celulares en dos especies pertenecientes al mismo género *Jatropha* (*J. curcas* y *J. gossypifolia*), sometidos a un fotoperiodo 16:8.

Existen investigaciones realizadas en otras especies; como las de Sánchez y Alvarenga (2014), quienes sostienen haber obtenido callos celulares de *U. tomentosa* en condiciones de oscuridad, a una temperatura aproximada de $27 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$. De igual manera, Torres & Olivera (2016), afirman haber obtenido callos de *Taxus globosa*, en oscuridad y temperatura de $25 \pm 2 \text{ °C}$; hecho que pone de manifiesto que la inducción a la calogénesis es un factor condicionado muchas veces por el genotipo de la especie, pudiéndose en algunos casos presentar una mayor inducción en oscuridad.

Tabla 2

Distribución porcentual según tratamiento y la variable presencia de callo de *J. macrantha* “huanarpo macho”

Tratamiento	Presencia de callo				Total	%
	Presencia	%	Ausencia	%		
T3	8	100,00%	0	0,00%	8	100,00%
T11	8	100,00%	0	0,00%	8	100,00%
T12	5	62,50%	3	37,50%	8	100,00%
T1	4	50,00%	4	50,00%	8	100,00%
T5	3	37,50%	5	62,50%	8	100,00%
T15	3	37,50%	5	62,50%	8	100,00%
T2	2	25,00%	6	75,00%	8	100,00%
T4	2	25,00%	6	75,00%	8	100,00%
T13	2	25,00%	6	75,00%	8	100,00%
T16	2	25,00%	6	75,00%	8	100,00%
T7	1	12,50%	7	87,50%	8	100,00%
T8	1	12,50%	7	87,50%	8	100,00%
T9	1	12,50%	7	87,50%	8	100,00%
T10	1	12,50%	7	87,50%	8	100,00%
T6	0	0,00%	8	100,00%	8	100,00%
T14	0	0,00%	8	100,00%	8	100,00%

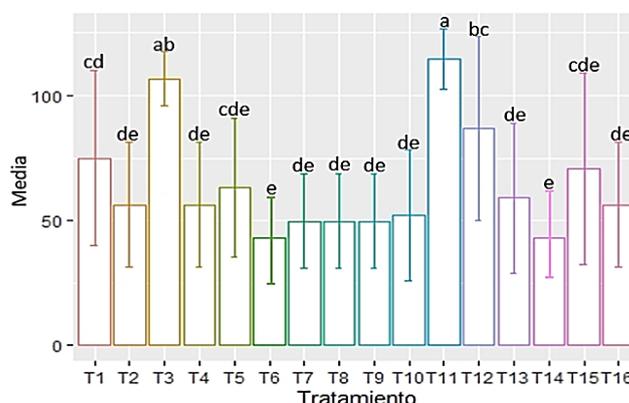


Figura 2. Barras de error de cada grupo en la comparación de tratamientos del estudio, Influencia de la luz en el sinergismo entre la 6-BAP y el 2, 4-D para la inducción de callos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho”, según la variable desarrollo. Nota: Se aplicó la prueba de Duncan sobre los rangos de cada grupo, donde las letras diferentes en grupos presentan una diferencia significativa al 95% de confianza.



Figura 3. Callos de *J. macrantha* "huanarpo macho", a los 45 días de siembra.

En lo que respecta al análisis estadístico, el p-valor de la prueba Q de Cochran, este presentó un valor menor que 0,05 ($p < 0,05$). Demostrándose la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos, para la variable "presencia de callos celulares". De la misma manera la prueba estadística Kruskal Wallis, para la variable desarrollo de callos de *J. macrantha*, corrobora la existencia de tales diferencias entre los tratamientos; demostrándose a su vez que las diferentes concentraciones de 6-BAP y de 2, 4-D, inducen a diferentes respuestas en los explantes de *J. macrantha*; hecho que pone de manifiesto el efecto sinérgico positivo de ambos reguladores de crecimientos, evidenciado en el tratamiento T3 y T11; toda vez que por separado, no generan resultados óptimos en la inducción de callos; concordando con lo reportado por Gil et al. (2016), quienes reportaron que el sinergismo de las hormonas; en este caso AIA y AG3, es clave en la propagación in vitro de *Carica papaya*.

Del análisis para la visualización de grupos homogéneos, la prueba de Duncan reporta que los tratamientos T3 y T11 no presentan diferencias significativas (Tabla 3), pero si, los mayores niveles de desarrollo de callos celulares de *J. macrantha*. Así, manteniéndose la concentración de MS 1x, a 1 ppm de BAP y 1 ppm de 2,4-D, indistintamente ante la condición de luz y/o oscuridad, igualmente se generará formación de callos celulares en *J. macrantha*. Valores que resaltan la importancia del uso del 6-BAP y del 2,4-D en la inducción a callogénesis, embriogénesis y organogénesis; evidencias que al respecto quedan demostradas en múltiples investigaciones (Córdova et al., 2014; Fernández et al., 2016; Argente et al., 2017; Gil et al., 2019; Borjas et al., 2020).

Tabla 3

Prueba de Duncan sobre los rangos de cada grupo en la comparación de tratamientos del estudio, según la variable desarrollo de callos de *J. macrantha* "huanarpo macho"

Tratamiento	Grupos
T11	a
T3	ab
T12	bc
T1	cd
T15	cde
T5	cde
T13	de
T16	de
T2	de
T4	de
T10	de
T7	de
T8	de
T9	de
T14	e
T6	e

Las diferentes letras (a,b,c,d,e) reportadas en los Grupos, indican la presencia de diferencias significativas, con un nivel de confianza del 95%.

A los 45 días, el tratamiento 3 manifestó una mayor callogénesis y morfogénesis, por lo tanto, una mayor producción de metabolitos secundarios. Además, se pudo observar la presencia de callos blancos en un 87,5%, los cuales en un 62,5% eran friables (tabla 4 y 5). Cabe resaltar que los callos friables están conformados por masas proembriogénicas de color blanco translucido, ideales para llevar a cabo el proceso de suspensiones celulares embriogénicas (Aguilar et al., 2008; Teruya, 2016; Quiñones et al., 2020). Cabe resaltar que investigaciones de García et al. (2007), han demostrado que la luz artificial en un fotoperiodo de 16 h, contribuye con la formación de callos celulares y un mayor número de embriones somáticos, contribuyendo al sinergismo entre las hormonas 6- Bencilaminopurina y el 2, 4-Diclorofenoxiacético, en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. "huanarpo macho", el correcto balance entre ambas hormonas se ve reflejado en el adecuado desarrollo de la callogénesis y morfogénesis, como lo observado en el tratamiento 3 (Domínguez et al., 2021; Gil et al., 2016; Hernández & Chico, 2020).

Tabla 4

Distribución porcentual del estudio según tratamiento y la variable color de callos de *J. macrantha* "huanarpo macho"

Tratamiento	Color						Sin presencia de callo	%	Total	%
	Blanco	%	Cremoso	%	Blanco cremoso	%				
T1	4	50,0%	0	0,0%	0	0,0%	4	50,0%	8	100,0%
T2	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%
T3	7	87,5%	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	8	100,0%
T4	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%
T5	3	37,5%	0	0,0%	0	0,0%	5	62,5%	8	100,0%
T6	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	8	100,0%	8	100,0%
T7	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T8	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T9	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T10	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T11	4	50,0%	3	37,5%	1	12,5%	0	0,0%	8	100,0%
T12	3	37,5%	2	25,0%	0	0,0%	3	37,5%	8	100,0%
T13	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%
T14	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	8	100,0%	8	100,0%
T15	0	0,0%	3	37,5%	0	0,0%	5	62,5%	8	100,0%
T16	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%

Tabla 5
Distribución porcentual del estudio según tratamiento y la variable consistencia de callos de *J. macrantha* "huanarpo macho"

Tratamiento	Consistencia						Total	%
	Compacto	%	Friable	%	Sin presencia de cayo	%		
T1	4	50,0%	0	0,0%	4	50,0%	8	100,0%
T2	2	25,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%
T3	5	62,5%	3	37,5%	0	0,0%	8	100,0%
T4	2	25,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%
T5	3	37,5%	0	0,0%	5	62,5%	8	100,0%
T6	0	0,0%	0	0,0%	8	100,0%	8	100,0%
T7	1	12,5%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T8	1	12,5%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T9	1	12,5%	0	0,0%	7	87,5%	8	100,0%
T10	0	0,0%	1	12,5%	7	87,5%	8	100,0%
T11	2	25,0%	6	75,0%	0	0,0%	8	100,0%
T12	0	0,0%	5	62,5%	3	37,5%	8	100,0%
T13	1	12,5%	1	12,5%	6	75,0%	8	100,0%
T14	0	0,0%	0	0,0%	8	100,0%	8	100,0%
T15	0	0,0%	3	37,5%	5	62,5%	8	100,0%
T16	2	25,0%	0	0,0%	6	75,0%	8	100,0%

CONCLUSIONES

La luz no influye en el sinergismo entre la 6-BAP y el 2, 4-D, pudiendo generarse callos de *J. macrantha* "huanarpo macho", indistintamente para la condición luz u oscuridad a la concentración de

1mg^{-l} de BAP y 2,4 D. Se recomienda en posteriores investigaciones cuantificar la producción de metabolitos secundarios.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Biotecnología del "Instituto de La Papa y Cultivos Andinos" (IPACA) de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú; por el apoyo logístico y

de ambientes brindados, posibilitando de esta manera la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, M., Ortiz, J., & Sandoval, J. (2008). Embriogénesis somática en plátanos y bananos. Guápiles, Costa Rica: Ed. Bib. Orton IICA / CATIE.
- Aguilar, C. (2015). Efecto broncodilatador del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho" en cobayos. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- Argente, L., Fonseca, L., Garatuza, J., Yépez, E., & González, J. (2017). Efecto de la salinidad en callos de variedades de trigo durante el cultivo in vitro. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(3), 477-488.
- Barcia, B. (2020). Evaluación de diferentes dosis de la citocinina BAP en la propagación in vitro de *Vainilla tahitensis*. (tesis pregrado). Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Borjas, R., Julca, A., & Alvarado, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 150-164.
- Brako, L., Zarucchi, J. (1993). Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Missouri, USA: Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden.
- Cavalcante, N., Diego da Conceição, A., & Guedes da Silva, J. (2020). The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects. *Chemico-Biological Interactions*, 108976. doi:10.1016/j.cbi.2020.108976
- Córdova, A., Cobos, M., Imán, S., & Castro, J. (2014). Un método eficiente para la inducción de callos in vitro en *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh "Camu Camu". *Scientia Agropecuaria*, 5(1), 25-34.
- Domínguez, A., Nah, J., García, I., Nahuat, S., Giorgana, J., Escalante, E., Ramírez, J., Gamba, A. (2021). Efecto de 6-bencilaminopurina y ácido 2,4-diclorofenoxiacético en la calogénesis de *Brosimum alicastrum*. *Agrociencia*, 55(2), 133-144.
- Fernández, R., Villarroel, A., Cuamo, L., & Storaci, V. (2016). Evaluación de un sistema de regeneración por embriogénesis somática de Neem (*Azadirachta indica*). *Acta biológica Colombiana*, 21(3), 581-592.
- García, L., Gómez, K., Albany, N., Vilchez, J., Alvarado, Y., & Reyes, M. (2007). Influencia de las condiciones de iluminación en la germinación de embriones somáticos del cultivar híbrido de plátano 'FHIA-21'. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(4), 679-689.
- Gil, A., López, E., & López, A. (2016). Efecto sinérgico del ácido indolacético, ácido giberélico y 6-bencilaminopurina en la propagación in vitro de "papaya" *Carica papaya* L. (Caricaceae). *Arnaldoa*, 23 (2), 577-586.
- Gil, C., Ariza, C., Castillo, T., Salgado, D., Banda, L., & Vanegas L. (2019). Inducción de organogénesis in vitro con 6-bencilaminopurina en *Cattleya trianae* Linden & Rchb.f. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22 (2), e1275.
- Guillen, Y., Hwang, S., Wang, Z., & Lim, S. (2017). Screening of Peruvian Medicinal Plants for Tyrosinase Inhibitory Properties: Identification of Tyrosinase Inhibitors in *Hypericum laricifolium* Juss. *Molecules*, 22 (3), 402.
- Hernández, K., & Chico, J. (2020). Inducción de brotes y raíces en hipocotilos y cotiledones de *Physalis peruviana* L. utilizando 6-bencilaminopurina y 2,4-diclorofenoxiacético. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(1), 87-94.
- López, A., & López, E. (2017). Efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético y el Bencilaminopurina en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* (Euphorbiaceae). *Rebiol*, 37(2), 22-26.
- Matos, A., & Sánchez, A. (2011). Evaluación de reguladores de crecimiento para la inducción de callo en *Aloe vera* L. *Multiciencias*, 11(1), 7-14.
- Morán, M. (2020). Determinación de las concentraciones de los reguladores de crecimiento en la inducción de callo embriogénico en *Theobroma cacao* L. var. Criollo de la región Piura. (tesis pregrado). Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.
- Morillo, A., González, J., & Morillo, Y. (2018). Characterization of genetic diversity uchua (*physalis peruviana* L.) In Boyacá. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 26-33.

- Mostacero, J., Mejía, F., & Gamarra, O. (2009). *Fanerógamas del Perú: Taxonomía, utilidad y ecogeografía*. Trujillo, Perú: Ed. CONCYTEC.
- Quiñones, M., Yafac, N., Garavito, R., & Príncipe, L. (2020). Desdiferenciación celular *in vitro* de *Coffea arabica* L. "café" var. caturra a partir de explantes foliares. *Scientia*, 22(22), 141-148.
- Rodríguez, M., Latsague, M., Chacón, M., & Astorga, P. (2014). Inducción *in vitro* de callogénesis y organogénesis indirecta a partir de explantes de cotiledón, hipocótilo y hoja en *Ugni molinae*. *Bosque (Valdivia)*, 35(1), 24-29.
- Rosales, C. (2019). Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial. *Tecnología en Marcha. Especial*, 32(9), 41-46.
- Sánchez, L., & Alvarenga, S. (2014). Callogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C. (uña de gato). *Tecnología en Marcha*, 28 (1), 105-120.
- Santana, N. (1982). Determinación de un medio adecuado para la obtención de callos en variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp) *in vitro*. *Cultivos Tropicales*, 4 (3), 48-52.
- Solís, L., Miranda, L., & Valdez, M. (2013). Establishment of cell suspension cultures of two Costa Rican *Jatropha* species (Euphorbiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 61 (3), 1095-1107.
- Teruya, M. (2016). Evaluación de fitorreguladores del crecimiento en la inducción de callo embriogénico en *Gossypium barbadense* L. 1753 "algodón nativo" color pardo. (Tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
- Tinco, A., Arroyo, J., & Bonilla, P. (2011). Efecto del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg., en la disfunción eréctil inducida en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 72 (3), 161-8.
- Torres, M., & Olivera, T. (2016). Evaluación del crecimiento de cultivos de callos de diferentes explantes (tallo y acícula) bajo condiciones de fotoperiodo y oscuridad de *Taxus globosa*. *Tlamati Sabiduría*, 7(2), 1-9.