

Efecto del 2,4-Diclorofenoxiacético y Thidiazurón en la obtención de callos de *Ladenbergia oblongifolia* "árbol de la quina"

Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and Thidiazuron in obtaining calluses from *Ladenbergia oblongifolia* "quina tree"

Angélica López-Zavaleta¹; Segundo Eloy López-Medina¹; José Mostacero-León^{1*}; Armando Efraín Gil-Rivero¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹; Luigi Villena-Zapata²; Angelita Cabrera-De Cipriano¹

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

² Departamento de Ciencias, Estudios Generales, Universidad Privada del Norte, Campus Virtual, 13001 Trujillo, Perú. Grupo de Investigación Augusto Weberbauer

* Autor correspondiente: slopezm@unitru.edu.pe (S. López- Medina).

ORCID de los autores

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

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

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

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

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

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

A. Cabrera-De Cipriano: <https://orcid.org/0000-0003-3490-5011>

RESUMEN

Los géneros *Ladenbergia*, *Cinchona* y *Remijia*, denominados "árboles de la quina" (familia Rubiaceae), son reconocidos por sus propiedades medicinales en el tratamiento del paludismo y enfermedades virales. Sin embargo, la extracción tradicional de sus metabolitos, mediante maceración de la corteza en alcohol ha generado deforestación y riesgo de extinción de especies como *Ladenbergia oblongifolia*. Ante esta problemática, la investigación propuso un enfoque biotecnológico para producir metabolitos de forma sostenible, evaluando el efecto de los reguladores de crecimiento 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y Thidiazurón (TDZ) en la inducción y proliferación de callos *in vitro*. Se utilizó el medio de cultivo MS (*Murashige y Skoog*) suplementado con distintas concentraciones de 2,4-D y TDZ. Los resultados demostraron que la concentración óptima para la inducción de callos fue 1 ppm de 2,4-D, mientras que para el subcultivo se obtuvo mejor respuesta con 0,75 ppm de 2,4-D. Estos hallazgos evidencian que el cultivo de tejidos es una alternativa viable para obtener compuestos activos sin dañar las poblaciones naturales, contribuyendo tanto a la conservación de *L. oblongifolia* como al desarrollo de aplicaciones biotecnológicas en especies medicinales amenazadas. Este trabajo resalta la importancia de integrar métodos sostenibles en la investigación farmacéutica y ecológica, abriendo nuevas líneas de estudio para la optimización de metabolitos secundarios.

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

ABSTRACT

The genera *Ladenbergia*, *Cinchona* and *Remijia*, known as "quina trees" (family Rubiaceae), are recognized for their medicinal properties in the treatment of malaria and viral diseases. However, the traditional extraction of their metabolites by maceration of the bark in alcohol has generated deforestation and risk of extinction of species such as *Ladenbergia oblongifolia*. Faced with this problem, this research proposed a biotechnological approach to produce metabolites in a sustainable way, evaluating the effect of the growth regulators 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and Thidiazuron (TDZ) on the induction and proliferation of calluses *in vitro*. MS culture medium (Murashige and Skoog) supplemented with different concentrations of 2,4-D and TDZ was used. The results demonstrated that the optimal concentration for callus induction was 1 ppm of 2,4-D, while for subculture the best response was obtained with 0,75 ppm of 2,4-D. These findings show that tissue culture is a viable alternative to obtain active compounds without harming natural populations, contributing to both the conservation of *L. oblongifolia* and the development of biotechnological applications in threatened medicinal species. This work highlights the importance of integrating sustainable methods in pharmaceutical and ecological research, opening new lines of study for the optimization of secondary metabolites.

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

Recibido: 11-04-2025.

Aceptado: 10-08-2025.



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

INTRODUCCIÓN

Dentro de la familia Rubiaceae, destaca *L. oblongifolia* “árbol de la Quina” o también conocido como “Cascarilla”. Esta especie se caracteriza por ser un potencial en producción de bioactivos de uso farmacológico (Ochoa et al., 2025; Parveen et al., 2024), entre ellos los alcaloides, flavonoides, terpenoides, antraquinonas y derivados fenólicos que sirven para el tratamiento del paludismo y enfermedades virales como la influenza y Covid-19 (Al-Garbi et al., 2022; Arumugam et al., 2024; Delprete & Jomar, 2012; Martins & Nunez, 2015; Vargas-Arana et al., 2011).

L. oblongifolia se distingue por evidenciar un hábito arbóreo pudiendo alcanzar hasta los 6 metros de altura, hojas elípticas con base y ápice agudo de consistencia coriácea, inflorescencias terminales, flores heterófilas, cápsulas septicidas y numerosas semillas con márgenes alados. El parecido morfológico y las similares propiedades medicinales, genera confusión entre especies dentro del género *Ladenbergia*, *Cinchona* y *Remigia*. Sin embargo, la diferencia que destaca en el género *Ladenbergia* es la arquitectura floral, donde se evidencia corolas blancas, mientras que *Cinchona* su corola es de color rosa pálido (Andersson, 1995; Arbizu et al., 2021; Gómez et al., 2016; Zarate et al., 2022). El árbol de la quina se encuentra distribuido desde Costa Rica hasta el centro de Bolivia localizándose en laderas montañosas entre los 2400 y 2800 msnm; sin embargo, actualmente se encuentra en peligro debido al crecimiento urbano, deforestación e incendios forestales. Actualmente, debido a la resistencia a fármacos, la comunidad científica tiene interés en descubrir otros alcaloides presentes en la planta que puedan servir en la síntesis de nuevas medicinas (Albán et al., 2020; De Almeida et al., 2021; Barrutia et al., 2020; Huamán et al., 2019; Marques et al., 2019; Peña et al., 2021).

La acción medicinal del árbol de la quina se debe a la existencia de alcaloides entre ellos: La cinchonidina, quinidina, cinchonidina y quinina. Cuya presencia se encuentran tanto en la corteza como en las hojas, por tanto, el uso intensivo de las hojas en biotecnología vegetal, constituye ser prometedor (Avalos et al., 2023; Foronda et al., 2020; López et al., 2020; Rodrigues et al., 2019; Sarandy et al., 2022; Somavilla et al., 2017). Investigaciones de Córdor et al. (2009) y Boratyński et al. (2019), mediante estudios cromatográficos han identificado la presencia de taninos, antraquinonas, grupos fenólicos libres, triterpenos, esteroides, catequinas, flavonoides, saponinas, aminogrupos primarios y secundarios. Estos compuestos son de uso potencial para el tratamiento de eritroleucemia, cáncer de mama,

agentes antiparasíticos de *Trypanosoma cruzi* entre otro. Por tanto, tienen poseen capacidades antioxidantes, antibacteriales, antifúngicas, antileishmaniales y antiureasa (Al-Harbi et al., 2022; Iftikhar et al., 2019; Musikant et al., 2019; Vaca et al., 2024; Zielińska & Najdek, 2021). Ante el surgimiento de la pandemia del COVID-19, investigaciones encontraron en árbol de la quina homólogos a la cloroquinina e hidroxicloroquinina, por tanto, su uso es potencial en el tratamiento de enfermedades ocasionados por virus (Abolghasemi, et al., 2012; Qamar et al., 2020; Lei et al., 2020; Majumdar et al., 2022; Remuzgo et al., 2020).

Ante ello, la biotecnología vegetal mediante las técnicas de propagación *in vitro*, cultivo de callos, protoplastos, saneamiento clonal, embriogénesis y cultivo de anteras, contribuye con la conservación del germoplasma y producción de bioactivos. Siendo el cultivo *in vitro* de callos una técnica que permite obtener masas celulares de crecimiento indiferenciado bajo condiciones asépticas, por tanto, su cultivo en suspensiones celulares, controlados en un biorreactor, permiten la producción extensiva de metabolitos secundarios (Efferth, 2018; Yildirim & Turker, 2014). Para ello es necesario establecer protocolos que permitan optimizar su inducción, producción y subcultivo en grandes cantidades (Bhatia & Bera, 2015; Rodríguez et al., 2020; Yadav et al., 2023).

De manera natural por factores bióticos o abióticos las plantas forman callos, sin embargo, esas condiciones pueden replicarse en laboratorio mediante el uso adecuado del balance hormonal entre auxinas y citoquininas (Azofeifa et al., 2018). Investigaciones de Alcántara et al. (2019), sostienen que entre las hormonas que inducen a la formación de callos destacan el: Ácido Naftaleno Acético (ANA), Ácido 3-indol acético, (AIA), Thidiazuron (TDZ) y 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Alcántara et al., 2019). Se conoce que el 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) a altas concentraciones se comporta como un potente herbicida, sin embargo a muy bajas concentraciones menores a 1 ppm se comporta como un inductor a callogénesis, mientras que del Thidiazuron (TDZ) se tiene conocimiento que regula la síntesis de proteínas implicadas en promover la formación del huso mitótico, por tanto tiene un uso potencial en estimular la formación de brotes y callos (Fernández et al., 2022; Fernández et al., 2024; Guo et al., 2011; Huettelman & Preece, 1993; Teruya, 2016; Kumar, 2019). Ante ello, se propuso como objetivo de investigación determinar el efecto del 2,4-Diclorofenoxiacético y Thidiazurón en la obtención de callos de *Ladenbergia oblongifolia* “árbol de la quina”.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

El material biológico, estuvo constituido por plántulas *in vitro* de *L. oblongifolia*, provenientes del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de

Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. Donde se seleccionó aquellas plántulas con mayor desarrollo en cuanto a tamaño y número de hojas.

Preparación de medio de cultivo, siembra e inducción a callos de *L. oblongifolia*

Se preparó medio de cultivo MS (1962), al cual se suplementó con phytigel al 0,8%, sacarosa 3% y diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (Tabla 1). Una vez preparado el medio, se ajustó el pH a 6 empleando NaOH 1N y HCl 1N, para su posterior dispensación en su respectivo frasco. Finalmente, tanto el medio de cultivo, como los materiales para la siembra fueron autoclavados a 120 °C para su esterilización con una presión de 15 atm por 20 minutos (Quiñones et al., 2023).

Una vez autoclavado el medio de cultivo, se procedió a la siembra de *L. oblongifolia*. Para ello se acondicionó cámara de flujo laminar, previa esterilización del área de trabajo. Se tomaron segmentos de hoja de plantas madre procedencia *in vitro*, las cuales fueron cortadas, con una medida de 1cm por lado. Para luego ser sembrados en su respectivo medio de cultivo, según tratamiento designado. Concluida esta actividad, se procedió a transportar el material vegetal al área de incubación por 45 días, donde se manejó condiciones controladas de fotoperiodo de 16 h luz y 8 oscuridad, además de una humedad relativa de 80% y una temperatura de 22 ± 2 °C (López et al, 2019). Posteriormente se realizó un análisis respectivo de los callos en base a la escala Santana (1982).

Tabla 1

Diferentes tratamientos para la inducción de callos de *L. oblongifolia* mediante la aplicación de diferentes concentraciones de 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D) y Thidiazurón (TDZ)

Tratamiento	[] de 2,4-D ppm	[] de TDZ ppm
1	0,0	0,0
2	0,5	0,0
3	1,0	0,0
4	0,0	0,3
5	0,5	0,3
6	1,0	0,3
7	0,0	0,5
8	0,5	0,5
9	1,0	0,5

Subcultivo de callos de *L. oblongifolia*

Se seleccionaron los callos del mejor tratamiento procedentes de la etapa de inducción de *L. oblongifolia*. Estos fueron subcultivados en un medio de cultivo, conformado por MS (1962), al cual se suplementó con phytigel al 0,8%, sacarosa 3% y diferentes concentraciones de 2,4-diclo-

rofenoxiacético (2,4-D) (Tabla 2). Una vez preparado, fue autoclavado para su posterior cultivo. Luego se transportó al área de incubación por 30 días, manteniéndose un fotoperiodo de 16 h luz y 8 oscuridad, humedad relativa de 85% y una temperatura de 22 ± 2 °C. Posteriormente se realizó un análisis respectivo de los callos en base a la escala Santana (1982) (Tabla 3).

Tabla 2

Diferentes tratamientos para el subcultivo de callos de *L. oblongifolia* mediante la aplicación de diferentes concentraciones de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)

Tratamiento	[] de 2,4-D ppm
1	0,00
2	0,50
3	0,75
4	1,00

Tabla 3

Escala de Santana (1982) para evaluar la formación de callos *in vitro* según su grado de desarrollo

Grado	Descripción
0	No hay formación del callo.
1	Ligera formación del callo (se observa una débil proliferación en zonas del brote del explante).
2	Formación del callo (hay proliferación de células por todos los bordes del explante, sin llegar a formar una masa).
3	Abundante formación del callo (formación de una masa voluminosa de callos).

Análisis estadístico

Para la inducción de callos de *L. oblongifolia*, se realizó bajo un diseño experimental de bloques completamente al azar, con 9 tratamientos, 3 repeticiones y 8 unidades experimentales por tratamiento. La evaluación se realizó a los 45 días de evaluación, empleando el software estadístico RStudio. Mientras que para el subcultivo de callos de *L. oblongifolia*, se realizó bajo un diseño experimental de bloques completamente al azar, con 4 tratamientos, 3 repeticiones y 8 unidades experimentales por tratamiento. La evaluación se realizó a los 30 días de evaluación, empleando el software estadístico RStudio. Tanto para la inducción, como para el subcultivo se empleó la prueba estadística de Kruskal Wallis y de comparaciones múltiple de Wilcoxon, para identificar la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando la Figura 1 y 2, el p-valor de significancia de la prueba de Kruskal Wallis resultó ser menor que 0,05 ($p=9,571e-12 < 0,05$), por lo que podemos afirmar, que los grados de formación según escala de Santana por efecto de los dos tratamientos 2,4-Diclorofenoxiacético y Thidiazurón en la inducción a callos de *L. oblongifolia*, presentan diferencia significativa entre al menos dos tratamientos en estudio, a su vez, la prueba de comparaciones múltiple de

Wilcoxon, permitió identificar que los tratamientos T2, T3 y T9, no presentan diferencia significativa. Por otro lado, la figura 2, permite observar que el porcentaje de callos formado de grado 2 y grado 3, alcanzó un 54,2% en el tratamiento 2, del 58,4% en el tratamiento 3 y del 20,8% en el tratamiento 9, destacando por tanto el tratamiento 3, el cual está conformado por 1 ppm de 2,4 Diclorofenoxiacético (Figura 1). En referencia a la figura 2, el p-valor de significancia de la prueba de Kruskal Wallis, resultó

ser menor que 0,05 ($p=0,03669 < 0,05$), es decir se rechaza la hipótesis nula, dando a conocer que los grados de formación obtenidos según la escala de Santana por efecto del 2,4-Diclorofenoxiacético a partir de subcultivo de callos en hojas de *Ladenbergia oblongifolia*, presentan diferencia significativa entre al menos dos de los tratamientos analizados, se puede observar además que la

prueba de comparación múltiples de Wilcoxon, identificaron que los tratamientos T3 y T4 no presentaron diferencias significativas, siendo el tratamiento T3, donde se evidenció el mayor porcentaje acumulado de callos de grado 2 y grado 3, alcanzando el 51,8% (33,3% de grado 2 y 18,5% de grado 3), como se visualiza en la Figura 2 (Barrutia et al., 2020; Hinkle et al., 2003).

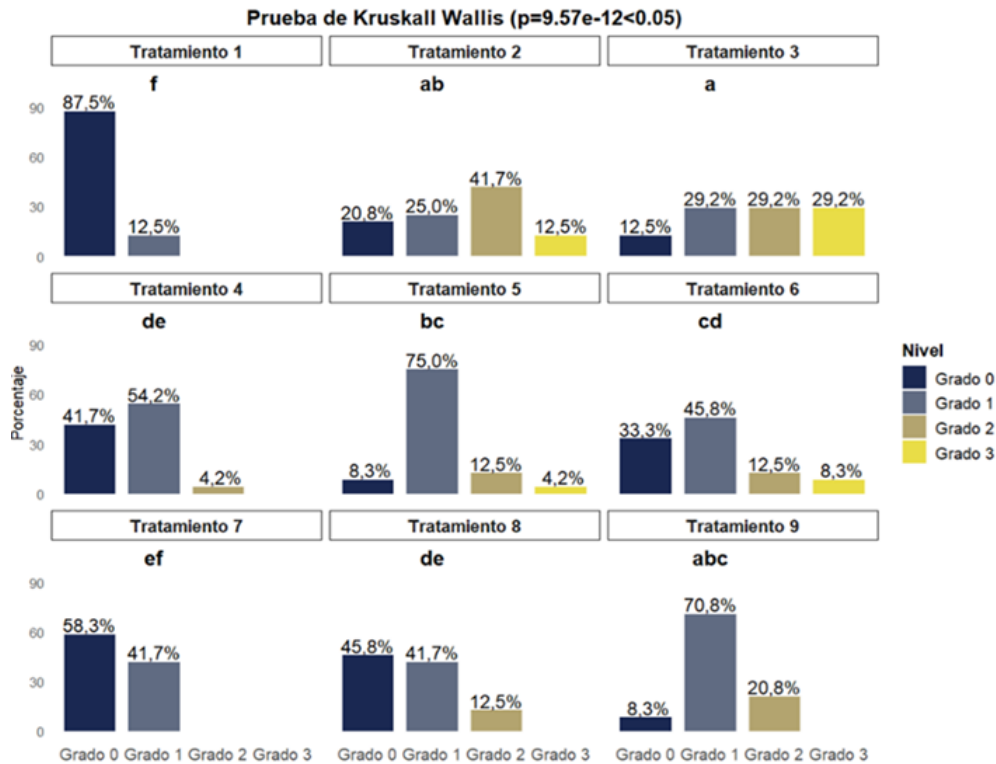


Figura 1. Barras de los porcentajes de callos obtenidos según la escala de Santana (grado de formación), para el estudio sobre el efecto del 2,4-Diclorofenoxiacético y Thidiazurón en la inducción a callos de *Ladenbergia oblongifolia* "árbol de la quina". Nota: Los tratamientos con letras diferentes son significativamente diferentes según la prueba de comparaciones múltiples de Dunn ($p < 0,05$).

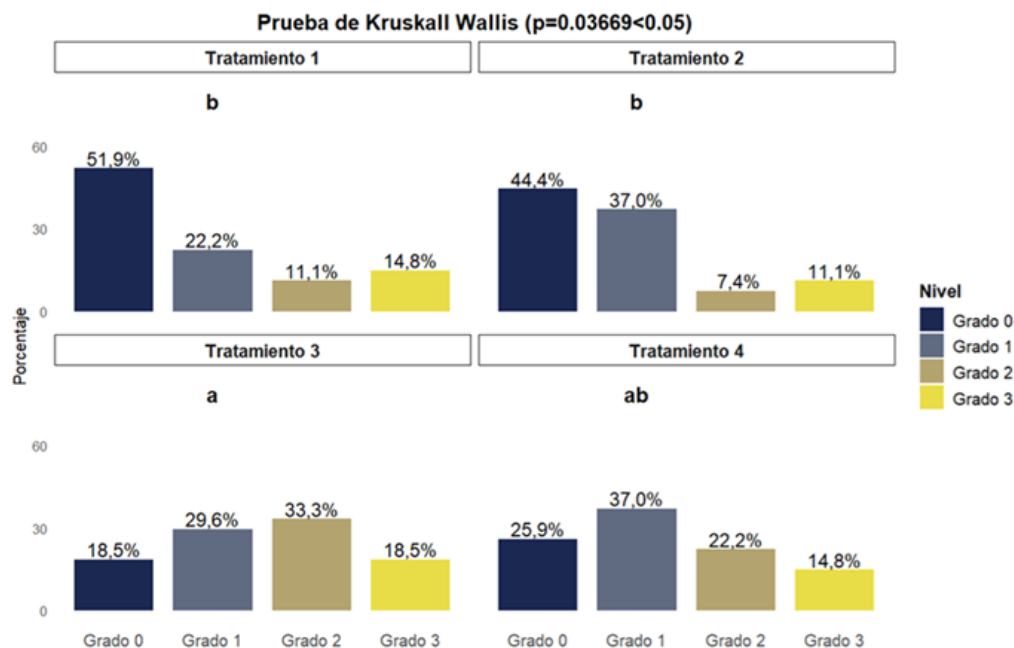


Figura 2. Barras apiladas de los porcentajes de callos obtenidos según la escala de Santana (grado de formación) por el estudio sobre el efecto del 2,4-Diclorofenoxiacético a partir de subcultivo de callos de *Ladenbergia oblongifolia* "árbol de la quina". Nota: Los tratamientos con letras diferentes son significativamente diferentes según la prueba de comparaciones múltiples de Dunn ($p < 0,05$).

Cabe mencionar que investigaciones de González et al (2018), sostienen que la concentración de 2,4 D a 1 ppm tiene un efecto favorable en la inducción a la formación de callos en *Cinchona officinalis*, especie parental de la misma familia Rubiaceae. Mientras que concentraciones superiores al 2 y 3 ppm de 2,4-D, resultaron altamente tóxicas. Mientras que al emplear Bencilaminopurina (BAP) a una concentración de 0,5 ppm, indujo a la formación de un 65% de callos (Canales et al., 2020; Darwin et al., 2020; López et al., 2023; Uriarte & Diaz, 2024). Por otro lado, Eras et al (2020), empleando la concentración de 3 ppm 2,4-D y 0.5

ppm KIN, indujo en un 73% la generación de callos en *Cinchona officinalis*. Por tanto, se infiere que el fitorregulador Thidiazurón, no ejerce un efecto significativo en la formación de callos de las Rubiaceae. Sin embargo, el empleo del ácido naftalenacético (ANA), en combinación con 6-Bencilaminopurina (1,0 mg L⁻¹ ANA + 0,5 mg L⁻¹ BAP y 2,0 mg L⁻¹ ANA + 0,5 mg L⁻¹ BAP), en un adecuado balance hormonal, resulta favorecedor en la inducción a callos embriogénicos (Albán et al., 2020; Eras et al., 2019; Guamán et al., 2021; Hariyanti et al., 2022; Huaccha et al., 2023; Yao et al., 2020).

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que el uso de 1 ppm de 2,4-D en la fase de inducción y 0,75 ppm de 2,4-D en el subcultivo optimiza la producción de callos en *L. oblongifolia*. Estableciéndose un protocolo base reproducible para futuros estudios en biotecnología de especies amenazadas de la familia Rubiaceae, favoreciendo la producción de meta-

bolitos secundarios (alcaloides antipalúdicos) sin depender de la extracción destructiva de cortezas, contribuyendo con la producción de medicamentos derivados de especies forestales y a la preservación de la biodiversidad, mediante el aprovechamiento racional de recursos.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio Biotecnología de la Universidad Nacional de Trujillo; por el apoyo logístico y de ambientes brindados, posibilitando de esta manera la realización de la presente investigación. A la VI Convocatoria CANON, por el financiamiento de esta investigación. En sus modalidades: PIC-Modalidad 1: "Valoración de la biodiversidad en el norte del Perú: Rol de las exploraciones biológicas y los herbarios" y PIC 02

Modalidad 2: "Proyecto de Investigación de Tesis, categoría consolidada Laboratorio de Biotecnología", ganadores de la "VI Convocatoria de Proyectos de Ciencia y Tecnología en la Universidad Nacional de Trujillo con Fondos Públicos provenientes del Canon", según Resolución Rectoral N° 0356-2023/UNT, Resolución de Consejo Universitario N° 001-2023/UNT y Resolución Vicerrectoral de Investigación N°137-2023-VIN-UNT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abolghasemi, E., Moosa-Kazemi, S. H., Davoudi, M., Reisi, A., & Satvat, M. T. (2012). Comparative study of chloroquine and quinine on malarial rodents and their effects on the mouse testis. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 311-314.
- Al-Garbi, L. N., Al-Shammari, G. M., Subash-Babu, P., Mohammed, M. A., Alkredees, R. A., & Yagoub, A. E. A. (2022). *Cinchona officinalis* Phytochemicals-Loaded Iron Oxide Nanoparticles Induce Cytotoxicity and Stimulate Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Nanomaterials*, 12(19), 3393.
- Albán, J., Chilquillo, E., Melchor-Castro, B., Arakaki, M., León, B., & Suni, M. (2020). *Cinchona* L. "Árbol de la Quina": repoblamiento y reforestación en el Perú. *Revista peruana de biología*, 27(3), 423 - 426.
- Alcantara, J., Acero G.J., Alcántara C. J., & Sánchez M. R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109-129.
- Al-Harbi, L. N., Al-Shammari, G. M., Subash-Babu, P., Mohammed, M. A., Alkredees, R. A., & Yagoub, A. E. A. (2022). *Cinchona officinalis* phytochemicals-loaded iron oxide nanoparticles induce cytotoxicity and stimulate apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *Nanomaterials*, 12(19), 3393. <https://doi.org/10.3390/nano12193393>
- Andersson, L. (1995). Tribes and genera of the Cinchoneae complex (Rubiaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82, 409-427.
- Arbizu, C. I., Ferro-Mauricio, R. D., Chávez-Galarza, J. C., Guerrero-Abad, J. C., Vásquez, H. V., & Maicelo, J. L. (2021). The complete chloroplast genome of the national tree of Peru, quina (*Cinchona officinalis* L., Rubiaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 6(9), 2781-2783. <https://doi.org/10.1080/23802359.2021.1969697>
- Arumugam, S., Vadivel, K., Dhaked, D. K., Prasanna, V. S., Yellurkar, M. L., Das, P., ... & Velayutham, R. (2024). Antiviral Activity of *Cinchona officinalis*, a Homeopathic Medicine, against COVID-19. *Homeopathy*, 113(01), 016-024. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1770339>
- Avalos, A., Avilés, J., Zegarra, M., & Reátegui, K. (2023). Comportamiento y adecuación de la Introducción a un nuevo ecosistema de *Ladenbergia oblongifolia* (Mutis) L. (árbol de la Quina), Ucayali-Perú. *Igobernanza*, 6(24), 291-307. <https://doi.org/10.47865/igob.vol6.n24.2023.317>
- Azofeifa, J., Rivera, G., Paniagua, A., & Cordero, R. (2018). Respuestas morfogénicas de plantas in vitro y esquejes de *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) durante el desarrollo inicial del cultivo en invernadero y en sistemas agroforestales. *Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 368-378.
- Barrutia, R. R., Barrutia Barreto, I., & Marín, T. D. (2020). Germinación de semillas de *Cinchona officinalis* L. en tres tipos de suelos de Cajamarca, Perú. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 8(1), 75-87.
- Bhatia, S., & Bera, T. (2015). Classical and Nonclassical Techniques for Secondary Metabolite Production in Plant Cell Culture. *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, 7, 231-291.
- Boratynski, P. J., Zielińska-Błajet, M., & Skarzewski, J. (2019). *Cinchona* Alkaloids-Derivatives and Applications. *Chemistry and biology*, 82, 29-145.
- Canales, N. A., Hansen, T. N. G., Cornett, C., Walker, K., Driver, F., Antonelli, A., ... & Rønsted, N. (2020). Historical chemical annotations of *Cinchona* bark collections are comparable to results from current day high-pressure liquid chromatography technologies. *Journal of ethnopharmacology*, 249, 112375.
- Chilquillo T. E. A., Olmos S. A., & Albán, J. (2019). *Ladenbergia siranensis* (Rubiaceae: Cinchoneae), una nueva especie de las montañas de Sira, Andes orientales del centro de Perú, y la identidad de *Ladenbergia acutifolia*. *Brittonia*, 71(2), 166-171.
- Cóndor, E., de Oliveira, B. H., Loayza, K., & Reyna, V. (2009). Estudio químico de los tallos de *Cinchona pubescens* Vahl. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 75(1), 54-63.
- Darwin, P., Jennifer, R. O., Yessicar, R. J., Fernanda, M. M., Fanny, A. G., & Ana, C. T. (2020). El consumo de *Cinchona officinalis* L. durante la emergencia sanitaria COVID-19 en la provincia de Loja, Ecuador. *Bosques Latid Cero*, 10, 161-74.
- De Almeida Macedo, W., dos Santos, B. N. V., dos Santo de Mello, V., & Karsburg, I. V. (2021). Avaliação citotóxica, genotóxica e

- antiproliferativa de *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae). *Brazilian Journal of Development*, 7(4), 40814-40824.
- Delprete, P., & Jardim, J. (2012). Sistemática, taxonomía y florística de las rubiáceas brasileñas: una visión general sobre el estado actual y los desafíos futuros. *Rodriguésia*, 63(1), 101-128.
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020.
- Efferth, T. (2018). Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. *Engineering*, 5(1), 50-59.
- Eras V., Moreno J., Yanagua M., Poma R., & Guartanza J. (2020). Inducción in vitro de estructuras callogénicas en *Cinchona officinalis* L. Bosques *Latitud Cero*, 10(1), 14-28.
- Eras, V., Moreno, J., Méndez, K., Yaguana, M., & Poma, R. A. (2019). Procesos biotecnológicos para la formación de callos y estructuras de novo de *Cinchona officinalis* L. provenientes de relictos boscosos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(2), 20-28.
- Fernández, F., Huaccha, A. E., Quiñones, L., Vaca, S., Sanchez, T., Morales, E., ... & Coronel, D. (2022). Effect of arbuscular mycorrhiza on germination and initial growth of *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae). *Forest Science and Technology*, 18(4), 182-189. <https://doi.org/10.1080/21580103.2022.2124318>
- Fernández, F. H., Huaccha, A. E., Quiñones, L., Vaca, S. P., Goñas, M., Milla, M. E., & Seminario, A. (2024). Effect of synthetic fertilization dose on the diameter increase, height and mortality of *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae). *Forest Science and Technology*, 20(2), 194-200.
- Gil A., López E. y 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.
- Gómez, A., Beraum, L., Gómez, O., & Llatas, E. (2016). Las quinas de los bosques de neblina del distrito de Kañaris- Lambayeque. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Estación Experimental Agraria Vista Florida – Lambayeque.
- González, K., Eras, V., Moreno, J., Minchala, J., Yaguana, M., & Valarezo C. (2018). Procesos Biotecnológicos para la Inducción de Callos a partir de Vitroplantas de *Cinchona officinalis* L., a nivel de Laboratorio en la Provincia de Loja, Ecuador. *Revista Tzhoecon*, 10(2), 299-312.
- Guamán, V. H. E., Serrano, J. A. M., Torres, G. D. C., & Arévalo, M. Y. (2021). Caracterización morfológica de los órganos vegetativos y reproductivos de *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae) en la provincia de Loja (Ecuador). *CEDAMAZ*, 11(1), 13-21.
- Guo, B., Abbasi, B., Zeb, A., Xu, L., & Wei, Y. (2011). Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984-9000.
- Huetteman, C. A., & Preece, J. E. (1993). Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33(2), 105-119.
- Huaccha, A. E., Fernandez, F. H., Pérez, L. J., Tantalean, K. S., Vaca, S. P., Sanchez, T., Morales, E., Seminario, A., & Quiñones, L. (2023). Non-destructive estimation of leaf area and leaf weight of *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae) based on linear models. *Forest Science and Technology*, 19(1), 59-67. <https://doi.org/10.1080/21580103.2023.2170473>
- Huamán, L., Albán, J., & Chilquillo, E. (2019). Aspectos taxonómicos y avances en el conocimiento del estado actual del árbol de la Quina (*Cinchona officinalis* L.) en el Norte de Perú. *Ecología Aplicada*, 18(2), 145-153.
- Iftikhar, F., Ali, H., & Musharraf, S. G. (2019). Cinchona alkaloids as natural fetal hemoglobin inducing agents in human erythroleukemia cells. *RSC advances*, 9(31), 17551-17559.
- Hariyanti, H., Mauludin, R., Sumirtapura, Y. C., & Kurniati, N. F. (2022). A review: Pharmacological activities of quinoline alkaloid of *Cinchona* sp. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(4), 1-13.
- Hinkle, D., Wiersma, W., & Jurs, S. (2003). *Applied statistics for the behavioral Sciences*. Edt. Houghton Mifflin.
- Kumar, P., Partap, M., Ashrita, Rana, D., Kumar, P., & Warghat, A. R. (2019). Metabolite and expression profiling of steroidal alkaloids in wild tissues compared to bulb derived in vitro cultures of *Fritillaria roylei* – High value critically endangered Himalayan medicinal herb. *Crops and Industrial Products*, 145, 1-11.
- López, E., Mostacero, J., Gil, A., López, A., De La Cruz, A., & Villena L. (2019). 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.
- López, E., Mostacero, L., Costilla, N., Gil, E., De La Cruz, A., Villena, L. (2020). Cuantificación de alcaloides de *Ladenbergia oblongifolia* (Humb. ex Mutis) L. Andersson "árbol de la quina". *REBIOL*, 40(2), 170-176.
- Lei, Z., Wu, Z., Dong, S., Yang, D., Zhang, L., Ke, Z., Zou, C., & Chen, Z. (2020). Chloroquine and Hydroxychloroquine in the Treatment of Malaria and Repurposing in Treating COVID-19. *Pharmacology & Therapeutics*, 216, 1-13.
- López, S., Mostacero, J., Gil, A., De La Cruz, A., López, A., & Villena, L. (2023). Fruto, semilla y germinación de *Ladenbergia oblongifolia* (Humb. ex Mutis) L. Andersson "árbol de la quina". *Caldasia*, 45(2), 200-207. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v45n2.96266>
- Majumdar, M., Singh, V., Misra, T. K., & Roy, D. N. (2022). In silico studies on structural inhibition of SARS-CoV-2 main protease Mpro by major secondary metabolites of *Andrographis paniculata* and *Cinchona officinalis*. *Biología*, 77(5), 1373-1389.
- Marques, A., Ferreira, T., Válka, R., & Gonçalves, N. (2019). Three new records of Remijia (Cinchoneae, Rubiaceae) for the Brazilian Amazon and a new altitudinal record for Venezuela. *Rodriguésia*, 70, e04262017.
- Martins D., & Nunez C. (2015). Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. *Molecules*, 20, 13422-13495.
- Musikant, D., Leverrier, A., Bernal, D., Ferri, G., Palermo, J.A., & Edreira, M. M. (2019). Hybrids of *Cinchona* Alkaloids and Bile Acids as Antiparasitic Agents Against *Trypanosoma cruzi*. *Molecules*, 24(17), 3168.
- Ochoa, G., Armijos, L., Figueroa, J. G., Jaramillo-Fierro, X., & Solano-Cueva, N. (2025). Optimization of Two Methods for the Rapid and Effective Extraction of Quinine from *Cinchona officinalis*. *Plants*, 14(3), 364. <https://doi.org/10.3390/plants14030364>
- Parveen, S., Maurya, N., Meena, A., & Luqman, S. (2024). Cinchonine: A versatile pharmacological agent derived from natural cinchona alkaloids. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 24(4), 343-363. <https://doi.org/10.2174/0115680266270796231109171808>
- Peña, K. A., Suarez-Peña, E. A., Torres, C. A., Bermejo, L. A., Llacsá, L. X., Zárate, I., Paredes-Vilca, O. J., & Dávila, J. Y. (2021). Diversidad genética y filogenia del género *Cinchona* en el Parque Nacional de Cutervo, Perú. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 517-524.
- Quiñones, L., Huaccha, A. E., Fernandez, F. H., Morales, E., Marrufo, J. D., & Mejía, L. (2023). Analysis of Germination Curves of *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae) Using Sigmoidal Mathematical Models. *International Journal of Agronomy*, 2023(1), 1360608. <https://doi.org/10.1155/2023/1360608>
- Remuzgo, J., Alvarez, J., Sales, F., & Valdivieso, G. (2020). Caracterización Taxonómica y Fitoquímica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia* en el Ámbito del Valle Alto Huallaga – Región Huánuco. *REBIOL*, 40(2), 242- 255.
- Rodrigues, D. A., Pereira, G. A. M., Silva, A. A., Santos, M. H., Demuner, A. J., & Oliveira, P. M. (2019). Phytochemical Profile of Pasture Weeds from the Brazilian Cerrado. *Planta Daninha*, 37, e019181108.
- Rodríguez, R., Barrutia, I., & Marín, T. (2020). Germination of *Cinchona officinalis* L. seeds in three soils types of Cajamarca, Peru. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 8(1), 75-87.
- Santillan, T. S., Meléndez, J., Rojas, E. M., Puscan, A. K. C., Oliva, M., & Vela, M. H. H. (2021). Multiplicación clonal del árbol de la quina (*Cinchona officinalis* L.): una alternativa para conservar el árbol nacional de Perú. *Bioagro*, 33(3), 215-222.
- Sarandy, M. M., Gusmão, L. J., Purgato, G. A., Piccolo, M. S., Pinto da Matta, S. L., Pizziolo, V. R., Diaz-Munoz, G., & Nogueira, M. A. (2022). Hydroalcoholic extract of *Remijia ferruginea* accelerates the closure of skin wounds by modulating tissue morphology and antioxidant profile: An in vitro and in vivo study. *Journal of Ethnopharmacology*, 296, 115464.
- Somavilla, N. S., Consenza, G. P., Fagg, C. W., & Brandão, M. G. L. (2017). Morpho-anatomy and chemical profile of native species used as substitute of quina (*Cinchona* spp.) in Brazilian traditional medicine. Part II: *Remijia ferruginea*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(2), 153-157.
- Teruya, M. (2016). Evaluación de fitorreguladores del crecimiento en la inducción de callo embriogénico en *Gossypium barbadense* L. 1753 "algodón nativo" color pardo. Tesis para Biólogo, Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.
- Ul Qamar, M. T., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., & Chen, L. (2020). Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2020), 313-319.
- Uriarte, K., & Diaz, E. (2024). Stock de carbono almacenado en un sistema forestal de *Schizolobium amazónicos* y *Ladenbergia oblongifolia* en Huánuco. *Journal Scientific International*

- Environmental Green Horizon*, 3(2), 2-7. <https://doi.org/10.47422/GreenHorizon.v3i2.32>
- Vaca, S. P., Arteaga, M. N., Tafur, S. M., Huaccha, A. E., & Fernandez F. H. (2024). Impact of light conditions on the early development of *Cinchona officinalis*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 77(1), 10659-10666. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v77n1.107836>
- Vargas-Arana, G., Ruiz-Mesía, L., Ruiz-Mesía, W., & Reina, M. (2011). Estudio química de la corteza de Remijia peruviana "Cascarilla". *Ciencia Amazónica*, 1(1), 41-50.
- Yadav, R., Sahu, M., Yadav, P. K., Thakur, S. S., & Rathi, J. (2023). Phytochemical Estimation and Antioxidant Potential of *Cinchona officinalis* L. Stem Bark Extracts. *International Journal of Medical Sciences and Pharma Research*, 9(2), 32-35. <https://doi.org/10.22270/ijmspr.v9i2.65>
- Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P. (2020). In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 732-739. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa23>
- Yildirim, A. B., & Turker, A. U. (2014). Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and in vitro-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). *Scientia Horticulturae*, 169, 169-178.
- Zarate, F. H. F., Castillo, A. E. H., Vega, L. M. B., Huatangari, L. Q., & Santillán, T. S. (2022). Efecto del sustrato en la propagación sexual de *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae). *Ecosistemas*, 31(1), 2314-2314. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2314>
- Zielińska-Błajet, M., & Najdek, J. (2021). Novel Selenoureas Based on *Cinchona* Alkaloid Skeleton: Synthesis and Catalytic Investigations. *Materials*, 14(3), 600.