



ARTÍCULO ORIGINAL

INDUCCIÓN *IN VITRO* DE CALLOS A PARTIR DE EXPLANTES DE
Capsicum annuum L.

IN VITRO INDUCTION OF CALLUS FROM EXPLANTS OF
Capsicum annuum L.

José Castillo Zavala¹  José Mostacero-León¹  Anthony De La Cruz-Castillo¹ 

¹Universidad Nacional de Trujillo,
Trujillo, Perú.

Correspondencia

José Mostacero-León
jmostacero@unitru.edu.pe

Para citar este artículo. Castillo, J.,
Mostacero-León, J., & De La Cruz-
Castillo, A. (2022). Inducción *in*
vitro de callos a partir de explantes
de *Capsicum annuum* L. *Advances*
in Science and Innovation, 1 (1),

RESUMEN

El *Capsicum annuum* L. es de importancia en la culinaria mundial y su cultivo es susceptible a diferentes plagas y enfermedades, por lo que su reproducción en los tejidos vegetales, resulta ser la mejor alternativa para su producción a gran escala de sus derivados de buena calidad, y por consiguiente aptos, para el mercado internacional. En ese sentido, se propuso inducir *in vitro* callos a partir de explantes de *C. annuum*. Para ello, se realizó la esterilización y germinación de las semillas de esta especie en medio MS (Murashigue-Skoog), luego la desdiferenciación de los explantes, empleando este medio, suplementado con 2,4 D y Kinetina. Se observó una desdiferenciación de los explantes de *C. annuum* a la segunda semana de su cultivo, seguido de la posterior formación de callos a la semana cuarta y quinta del experimento. Se concluye que estos procesos realizados, fueron principalmente producidos por las auxinas y citocininas agregadas al medio.

Palabras clave: callogénesis, auxinas, citocininas, *Capsicum annuum*

ABSTRACT

Capsicum annuum L. is of importance in world cuisine and its cultivation is susceptible to different pests and diseases, so its reproduction in plant tissues turns out to be the best alternative for its large-scale production of its good quality derivatives, and therefore suitable, for the international market. In this sense, calluses can be induce *in vitro* from explants of *C. annuum*. For this, the sterilization and germination of the seeds of this species was carried out in MS medium (Murashigue-Skoog),



then the dedifferentiation of the explants, using this medium, supplemented with 2.4 D and Kinetin. Dedifferentiation of *C. annuum* explants was found at the second week of culture, followed by subsequent callus formation at the fourth and fifth week of the experiment. It is concluded that these processes carried out were produced mainly by auxins and cytokinins added to the medium.

Keywords: callogenesis, auxins, cytokinins, *Capsicum annuum*

INTRODUCCIÓN

El principal problema en el cultivo de *Capsicum annuum* L., es la susceptibilidad a diferentes enfermedades, las cuales son ocasionadas por la Podredumbre gris (*Botrytis cinerea*), Podredumbre blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*), seca, o tristeza (*Phytophthora capsici*), entre otros (Quispe et al., 2022; López et al., 2019; Silva et al., 2017) y virosis, producida principalmente por el virus del mosaico del tabaco (TMV), el virus del mosaico del pepino (CMV), el virus "Y" de la papa (PVY), el virus del grabado del tabaco (TEV) y el virus del moteado de las venas del pimiento (PVMV) (Rodríguez et al., 2007), esto genera una baja en la productividad de las cosechas, produciendo de esta manera pérdidas económicas a las grandes empresas agrícolas. Debido a esto, los diferentes organismos dedicados a la agricultura moderna, utilizan diferentes técnicas biotecnológicas que ayudan a mejorar la productividad de las plantas, con lo que resulta un método eficiente, económico y rentable (González & Castañeda, 2019; Villanueva, 2018).

En ese sentido, desde hace algunos años se vienen usando técnicas biotecnológicas para la rápida propagación de plantas y como herramienta, las auxinas en el desarrollo de cultivos de importancia económica (Borjas et al., 2020; Chávez et al., 2018).

Una de estas técnicas es el cultivo a partir de

callos; células vegetales generalmente obtenidos a partir del aislamiento de órganos o tejidos diferenciados, los cuales posteriormente son llevados a una dediferenciación celular, a través de hormonas vegetales, capaces de generar una proliferación continua, acelerada y de apariencia desorganizada de estas células, que dan origen a una masa amorfa de tejido; siguiendo como base fisiológica la totipotencialidad de sus células, ya que, con un manejo adecuado de las condiciones nutricionales, hormonales y ambientales tienen la capacidad de desarrollar brotes, raíces, embriones, etc., incluso llegar a formar plántulas completas (Aguilera et al., 2019; Hernández et al., 2021; Jiménez et al., 2020).

Ahora bien, muchos son los esfuerzos realizados en los últimos años para establecer métodos de regeneración de cultivos de tejidos de pimientos (*Capsicum annuum*), donde usualmente se suele utilizar diferentes tipos de explantes para este propósito, tales como plantas de semillero (cotiledón, puntas apicales, hipocotiledones y raíces), anteras, embriones y los protoplastos (Fari & Czako, 1981; Hernández et al., 2021). En ese sentido, el método de regeneración más exitoso es el realizado a través de la organogénesis de los cotiledones e hipocótilos de plántulas (Ebida & Hu, 1993; Izquierdo et al., 2017). Sin embargo, la optimización del procedimiento es difícil, debido a que la respuesta está influenciada a las etapas

de desarrollo y el tipo de tejido utilizado de la planta (Kintzios et al., 1996). De igual manera, se han reportado estudios al respecto, donde se obtuvieron cultivos de callos utilizando brotes de hojas jóvenes y anteras como explantes (Hernández et al., 2022; Kintzios et al., 1996).

Por otra parte, el cultivo de callos se suele utilizar en procesos de criopreservación, de allí que en la actualidad se ha presentado especial atención a la crioprotección de callos de algunas especies como *Oryza sativa* “arroz”, *Phoenix dactylifera* “palma datilera”, *Medicago sativa* “alfalfa”, *Saccharum officinarum* “caña de azúcar”, entre otras (Serrano & Piñol, 1998); asimismo, las diferentes aplicaciones que presenta el cultivo de callos en la generación de plantas transgénicas, haploides, micropropagación *in vitro*, etc., hacen que estos tipos de cultivos sean de suma importancia en el área de la Biotecnología Vegetal (Harine & Lakshmi, 1993; Hernández et al., 2021; Ruíz et al., 2022; Valera & Ochoa, 1995).

Debido a ello, el presente trabajo pretende inducir *in vitro* callos a partir de explantes de *Capsicum annuum* empleando explantes de *Capsicum annuum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de semillas

En esta etapa se emplearon 80 semillas de *Capsicum annuum* obtenidas de la empresa agrícola Mascarell. Las mismas que fueron sometidas a un proceso de esterilización, consistente en colocarlas durante dos minutos en una disolución de etanol al 70 %, para luego ser transferidas inmediatamente a una disolución de hipoclorito sódico al 4 %, donde se mantuvieron por 20 minutos.

Seguido a ello, las semillas fueron trasladadas a la cámara de flujo laminar, donde fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril y secadas

hasta eliminar cualquier resto de líquido que pudo haber quedado en la superficie de las mismas.

Posteriormente se depositaron en la superficie del medio sólido de cultivo contenido en tubos de ensayo.

Cabe destacar que para este experimento se utilizó como medio base el descrito por Murashige & Skoog (1962) con ciertas modificaciones, dadas por la adición de aquellos productos plasmados en la Tabla 1; así mismo, al medio se añadió agar en una concentración final de 8 g/L. Se emplearon 40 tubos de germinación conteniendo dos semillas cada uno respectivamente. A continuación, se colocaron en una cámara de germinación durante 15 días, a una temperatura controlada de 25 °C y un fotoperiodo con 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Inducción, optimización y mantenimiento de “callos”

Los callos se indujeron a partir de explantes obtenidos de plántulas *in vitro* de 20 días. Para ello, las plantas se retiraron de los tubos de ensayo en los que habían germinado, a partir de las cuales se obtuvieron secciones de 1 cm de longitud aproximadamente de hipocótilo, cotiledón, tallo, peciolo y hoja, como explantes.

Cabe destacar que del cotiledón se descartaron las zonas proximal y apical y se cortaron secciones de la misma longitud, cuidando que cada una de ellas presentaran tejido vascular central. De igual forma, se procedieron con las hojas, de las que, cuando fuese posible, se obtuvieron explantes de 1 cm² de superficie que fueron depositadas con el envés sobre el medio de cultivo.

TABLA 1Requerimientos nutricionales para el cultivo de *Capsicum annuum*

Constituyentes	Composición (mg/L)
Macronutrientes	
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440
Micronutrientes	
H ₂ BO ₃	6.2
MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025
KI	0.83
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8
EDTA disódico	37.3
Vitaminas de Morel: (*)	
Tiamina	0.001
Piridoxina	0.001
Biotina	0.00001
Pantotenato de calcio	0.001
Ácido nicotínico	0.001
mio-Inositol	0.1
Caseina (*)	250
Sacarosa	3.104

Todos los explantes se situaron sobre medio de cultivo sólido en placas Petri de 9 cm de diámetro. La composición del medio de cultivo empleado fue idéntica a la del citado para la obtención de plantas, aunado al hecho que se le añadieron las hormonas 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y kinetina en las concentraciones de 3 mg/L y 0,05 mg/L respectivamente.

Finalmente, las placas con los explantes fueron depositadas en cámara de cultivo a una temperatura de 25 °C y un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas oscuridad. La intensidad lumínica fue de 49.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^1$.

El monitoreo se llevó a cabo cada cinco días para

evidenciar la formación de tejido caloso y separar aquellas que presentaron contaminación. Además, con la ayuda de una cámara digital se registraron fotos a lo largo de cada etapa dentro del proceso fisiológico.

RESULTADOS

Transcurridos 12 días, se observó que de los 40 frascos de germinación con el medio MS y las semillas de *C. annuum*, solo se evidenció germinación en 34 de ellos; por lo tanto, el 85 % de las semillas fueron viables (Fig. 1). A partir de los 20 días se pudo observar las primeras hojas de las plantas (Fig. 2), de las cuales se obtuvieron los explantes para la formación de callos.

FIGURA 1

Plántulas de *Capsicum annuum* L. germinadas en medio MS transcurridos 12 días

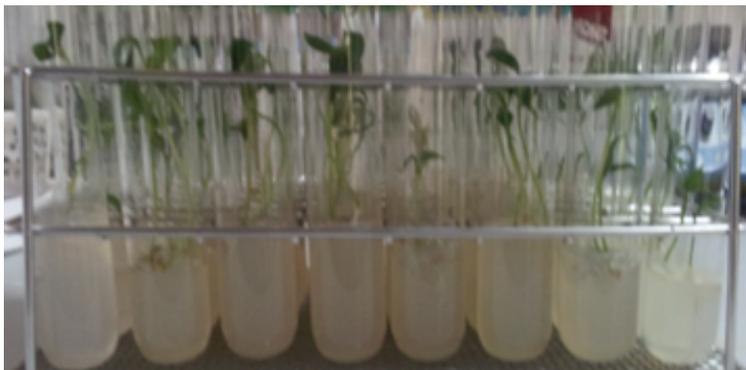


FIGURA 2

Planta de *Capsicum annuum* L. en medio MS transcurridos 20 días

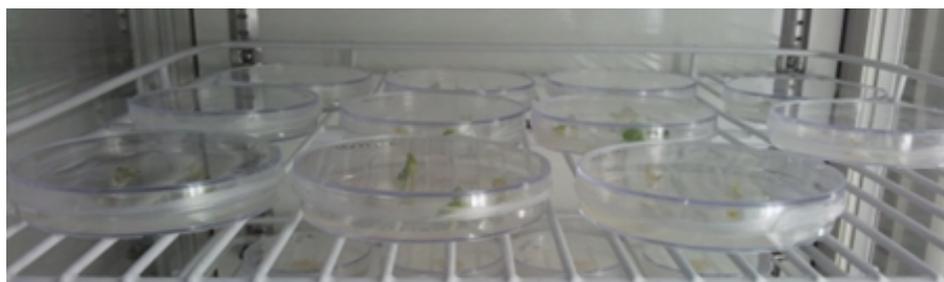


FIGURA 3

Callos de *Capsicum annuum* L. con presencia de contaminación

**FIGURA 4**

Explantos de *Capsicum annuum* L. con evidencia de dediferenciación y formación de callo



Durante el transcurso de las cinco semanas, cinco placas evidenciaron contaminación (Fig. 3). El 75 % de las placas evidenciaron dediferenciación y su posterior formación de callo (Fig. 4).

Los explantes sembrados presentaron un color blanquecino en los bordes a la segunda semana, con lo que se evidencia la calogénesis (Fig. 5).

FIGURA 5

Dediferenciación del explante de *Capsicum annuum* L. en medio de cultivo MS a las dos semanas de siembra



Así mismo, después de la tercera semana, se pudo observar un crecimiento lento del tejillo calloso sobre la superficie del medio; y en lo que respecta al color del explante, este fue cambiando de un color verde a un claro blanquecino, con una consistencia granulosa, apariencia desorganizada, dando origen

a una masa amorfa de tejido (Fig. 6).

A la cuarta y quinta semana se puede seguir evidenciando la dediferenciación celular y la totipotencialidad, en medio de cultivo MS enriquecido con 2,4-D y Kinetina (Figs. 7 y 8).

FIGURA 6

Formación del callo del explante de *Capsicum annuum* L. en medio de cultivo MS a las tres semanas de realizada la siembra



FIGURA 7

Crecimiento acelerado y progresivo en la formación de callos de *Capsicum annuum* L. a la cuarta semana de realizada la siembra



FIGURA 8

Múltiples granulaciones en la formación de callos de *Capsicum annuum* L. a la quinta semana de realizada la siembra



DISCUSIÓN

El porcentaje de germinación de las semillas de *Capsicum annuum* fue afectado ligeramente por el protocolo de desinfección de las semillas. Sin embargo, se pudo observar que redujo la contaminación; cabe resaltar que investigaciones al respecto indican que el uso de hipoclorito de sodio a unas concentraciones por debajo del 4 %, puede afectar el porcentaje de germinación de las semillas, pero evita la contaminación de las mismas en cultivos *in vitro* (Prehn et al., 2003). Además, en diferentes investigaciones se indica que el porcentaje de germinación, crecimiento y desarrollo del vegetal está relacionado con el medio ambiente y la variabilidad de las semillas; así como, con el genotipo de los progenitores (Salisbury & Ross, 1991); pudiéndose afirmar además, que esta tecnología se constituye hoy por hoy en un método de conservación *ex situ* (Rojas et al., 2020).

Se puede observar, además, un crecimiento progresivo en la formación de callo en los explantes de *Capsicum annuum*. De allí que la primera desdiferenciación celular ocurrió al transcurrir dos semanas de la siembra, dándose una máxima desdiferenciación a la cuarta y quinta semana, esto debido al uso de las fitohormonas 2,4-D y Kinetina. Toda vez que se conoce que el 2,4-D es un potente regulador del crecimiento vegetal (Alcántara et al., 2019; Taiz & Zeiger, 2006); asimismo, investigadores indican que un posible mecanismo de acción de las auxinas, es la generación de un ablandamiento o aflojamiento de la pared celular; descubriéndose además que el uso de auxinas tiene la capacidad de reducir el pH en la pared celular, lo que podría contribuir al crecimiento celular (Alcántara et al., 2019; Salisbury & Ross, 1991).

Por otra parte, se conoce que las citocininas, son aquellas que estimulan la citocinesis celular, así, se descubrió que en presencia de este compuesto en células de *Capsicum annuum* L, estas se dividieron con mayor rapidez con respecto al control (Harine

& Lakshmi, 1993). Concordando con lo propuesto por Salisbury & Ross (1991), quienes también ratifican la función principal de esta citocinina. De acuerdo con otras investigaciones, encontraron que si el parénquima del tallo de tabaco, soya u otras dicotiledóneas se cortan y cultivan asépticamente en un medio de agar con auxinas y citocininas en concentraciones adecuadas, estas traerían como consecuencia la formación de células no especializadas; así como, se promovería en gran medida la citocinesis (Salisbury & Ross, 1991).

Finalmente, el crecimiento progresivo de la formación del callo depende en gran medida del uso de auxinas y citocininas y de la teoría del balance hormonal presente entre ellas (Alcántara et al., 2019; López et al., 2021; Urrea et al., 2001). Se ha demostrado que, en cultivos de callos de *Capsicum annuum* L., los cuales fueron obtenidos a través de explantes y cultivados en medio MS y suplementados con diferentes tipos de citocininas, con la adición de auxina, se observó una desdiferenciación de los explantes; con lo cual, es probable que la proliferación del tejillo calloso esté relacionado directamente con el uso de estas hormonas (Kintzios et al., 1996); de allí que, estudios en otras especies, como es el caso de *Cinchona officinalis*; demuestran el efecto sinérgico del 2,4-D y la Kinetina en la proliferación de callos (Eras et al., 2020). Asimismo, es importante señalar que por separado, estas hormonas vegetales también presentan efecto callogénico, tal es así que Hernández et al. (2021), logró obtener callos tipo 3 en *Capsicum pubescens*, únicamente empleando el 2,4-D.

CONCLUSIONES

- La inducción *in vitro* de callos a partir de explantes de *Capsicum annuum* L., se logró empleando las hormonas 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y kinetina en las concentraciones de 3 mg/L y 0,05 mg/L respectivamente.

- El porcentaje de germinación de las semillas de *Capsicum annuum* L., fue afectada ligeramente por el proceso de desinfección, pero redujo la contaminación de los explantes. responses and plant regeneration from pepper (*Capsicum annuum* L.cv. Early California Wonder) accediling explante. *Plant Cell*, 13 (2), 7 - 110. <https://doi.org/10.1007/BF00235301>
- La desdiferenciación celular de los explantes de *Capsicum annuum* L. ocurrió después de dos semanas. Sin embargo, la máxima desdiferenciación se produjo a la semana cuatro y cinco del experimento. Eras, V., Moreno J., Yaguana, M., Poma, R., & Guartanza, J. (2020). Inducción *in vitro* de estructuras callogénicas en *Cinchona officinalis* L. *Bosques Latitud Cero*, 10 (1), 14 – 28. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/view/714>

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, G., Gómez, E., & González, A. (2019). Callogénesis en cultivares híbridos de *Cocos nucifera* L. mediante cultivo *in vitro* de inflorescencias inmaduras. *Biología Vegetal*, 19 (4), 277 - 284. https://www.researchgate.net/publication/340351147_Callogenesis_en_cultivares_hibridos_de_Cocos_nucifera_L_mediante_cultivo_in_vitro_de_inflorescencias_inmaduras
- Alcántara, J., Acero, J., Alcántara, J., & Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17 (32), 109 - 129. <https://doi.org/10.25058/24629448.3639>
- 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. DOI: 10.36610/j.jsab.2020.080200150
- Chávez, J., Andrade, M., Juárez, P., Villegas, O., Sotelo, H., & Perdomo, F. (2018). Evaluación de tres sistemas de cultivo *in vitro* para la multiplicación de microcormos de gladiolo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41 (4a), 551 - 554. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/41-4A/8r.pdf>
- Ebida, A., & Hu, C. (1993). *In vitro* morphogenetic responses and plant regeneration from pepper (*Capsicum annuum* L.cv. Early California Wonder) accediling explante. *Plant Cell*, 13 (2), 7 - 110. <https://doi.org/10.1007/BF00235301>
- Fari, M., & Czako, M. (1981). Relationship between position and morphogenetic response of pepper hypocotyl explants cultured *in vitro*. *Scientia Horti*, 15 (3), 207 - 213. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90028-5](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90028-5)
- González, A., & Castañeda, Y. (2019). Bioseguridad en biotecnología agrícola en México. La política del Estado y el papel de las organizaciones sociales. *Sociológica (México)*, 34 (97), 183 - 213. <http://www.sociologiamexico.azc.uam.mx/index.php/Sociologica/article/view/1512>
- Harine, I., & Lakshmi, S. (1993). Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of chilli (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science*, 89 (1), 107 - 112. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(93\)90176-Z](https://doi.org/10.1016/0168-9452(93)90176-Z)
- Hernández, A., Argüelles, A., Cortez, A., & Díaz, H. (2021). Inducción *in vitro* de callos a partir de explantes foliares en rocoto (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *La Granja - Revista de Ciencias de la Vida*, 34 (2), 131 - 140. <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/34.2021.09>
- Hernández, A., Pineda, A., & Díaz, H. (2022). *In vitro* anther culture of rocoto (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *Idesia (Arica)*, 40 (1), 115 - 121. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718->

34292022000100115

- Izquierdo, H., Alcaraz, L., & Rodríguez, 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. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1452>
- Jiménez, P., Barrera, P., Huachi, L., Vera, A., & Caicedo, C. (2020). Propagación *in vitro* de Quishuar (buddleja incana ruíz&pav). *La Granja - Revista de Ciencias de la Vida*, 31 (1), 61 - 71. <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/31.2020.05>
- Kintzios, S., Drossopoulos, J., Manousaridou, M., & Holevas, C. (1996). Competence for callus induction on mature pepper leaves depends upon specific developmental stages of the donor plant. *Scientia Horticulturae*, 65 (4), 341 - 347. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(96\)00885-0](https://doi.org/10.1016/0304-4238(96)00885-0)
- López, J., Cedeño, Galo., & Cedeño, George. (2021). Efectos de bencilaminopurina y tipo de brotes en la producción y calidad de plántulas de plátano vía macropropagación. *ALFA - Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*, 5 (15), 386 - 399. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i15.124>
- López, J., Navarro, D., Qui, J., León, J., Saavedra, D., & García, S. (2019). Efecto del selenito e inulina en la interacción *Capsicum annuum* L. - *Phytophthora capsici* en invernadero. *Bioteología Vegetal*, 19 (1), 25 - 34. https://www.researchgate.net/publication/333614115_Efecto_del_selenito_e_inulina_en_la_interaccion_Capsicum_annuum_L_-Phytophthora_capsici_en_invernadero
- Prehn, D., Serrano, C., Berrios, C., & Arce, J. (2003). Micropropagación de Quillaja saponaria Mol, a partir de semillas. *Bosque (Valdivia)*, 24 (2), 3 - 12. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002003000200001>
- Quispe, E., Moreira, A., & Garcés, F. (2022). Una revisión sobre biocontroladores de *Phytophthora capsici* y su impacto en plantas de Capsicum: Una perspectiva desde el exterior al interior de la planta. *Scientia Agropecuaria*, 13 (3), 275 - 289. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.025>
- Rodríguez, Y., Despestes, T., & Gomez, O. (2007). Obtención de líneas de pimiento (*Capsicum annuum*) progenitoras de híbridos F1, resistentes a enfermedades virales, a partir del estudio (MarcadorDePosición1) de cuatro sub-poblaciones. *Ciências e Investigacion Agraria*, 34 (3), 237 - 242. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-16202007000300008
- Rojas, J., Lugo, B., Pineda, A., Aguilar, G., Argüelles, A., Díaz, H. (2020). Establecimiento de un método eficiente de germinación *in vitro* de arnaucho supano (*Capsicum chinense* Jacq.). *Big Bang Faustiano*, 9(4), 4 - 7. DOI: <https://doi.org/10.51431/bbf.v9i4.647>
- Ruiz, M., Téllez, C., Martínez, M., Vera, P., Martínez, E., & Rosas, F. (2022). Influencia de la luz en la generación de callos y el cultivo *in vitro* de plantas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13 (spe27), 11 - 21. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i27.3156>
- Salisbury, F., & Ross, C. (1991). *Fisiología Vegetal*. Mexico: Iberoamérica.
- Serrano, M., & Piñol, M. (1998). *Bioteología Vegetal*. Madrid: Síntesis.

- Silva, A., Anderson, F., Nowaki, R., Cecílio, A., & Mendoza, J. (2017). Síntomas de deficiencia de macronutrientes en pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Agrociencia* (Uruguay), 21 (2), 31 - 43. http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482017000200031
- Taiz, I., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Mexico: Trird.
- Urrea, A., Veitía, N., & Bermúdez, I. (2001). Selección *in vitro* de callos de papa (*Solanum tuberosum*) empleando el filtrado crudo de *Phytophthora infestans* (mont) de bary. *Actualidades Biológicas* 23 (74), 5 - 13. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/329612>
- Valera, M., & Ochoa, A. (1995). A novel approach for chili pepper (*Capsicum annuum* L.) plant regeneration: shoot induction in rooted hypocotyls. *Plant Science*, 84 (2), 215 - 219. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90137-B](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90137-B)
- Villanueva, D. (2018). Modern Biotechnology for Agricultural Development in Colombia. *Ingeniería y Ciencia*, 14 (28), 169 - 194. <https://doi.org/10.17230/ingciencia.14.28.7>