

Artículo Original / Original Article

**Propagación *in vitro* de *Anredera vesicaria***[*In vitro* propagation of *Anredera vesicaria*]Angel Luis Espinosa Reyes<sup>1</sup>, Eugenio Torres Rodríguez<sup>2</sup> y Juan José Silva Pupo<sup>3</sup><sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Cuba<sup>2</sup>Centro de Estudios de Química Aplicada, Facultad de Ciencias Técnicas, Universidad de Granma, Cuba<sup>3</sup>Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Cuba**Reviewed by:**Patricia Peralta  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria  
ArgentinaJosé L. Martínez  
Universidad de Santiago de Chile  
Chile**Correspondence:**Angel Luis ESPINOSA REYES  
[espinosareyesangelluis@gmail.com](mailto:espinosareyesangelluis@gmail.com)**Section Biotechnology**Received: 7 December 2023  
Accepted: 2 January 2024  
Accepted corrected: 25 February 2024  
Published: 30 September 2024**Citation:**Espinosa Reyes AL, Torres Rodríguez E,  
Silva Pupo JJ  
Propagación *in vitro* de *Anredera vesicaria*  
**Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat**  
23 (5): 732 - 739 (2024)  
<https://doi.org/10.37360/blacpma.24.23.5.45>

**Abstract:** *Anredera vesicaria* is a plant with high anti-inflammatory activity. The work objective was to establish *in vitro* propagation of *A. vesicaria*. Nodal segments were used as explants and two disinfection times in 1% sodium hypochlorite (15 and 20 minutes) were evaluated during *in vitro* establishment. Combinations of AG3 (2,5 and 5,0 mg/L) and IAA (0,05 and 0,1 mg/L) were evaluated in the multiplication phase and the effect of IBA (0,5 and 1,0 mg/L) and Pectimorf (1,0 and 5,0 mg/L) for *in vitro* rooting. Acclimatization was carried out in a mixture of soil-cow manure-zeolite. Disinfection was achieved with 1% sodium hypochlorite for 15 minutes and *in vitro* establishment in the MS (1962) culture medium. High values of multiplication and rooting *in vitro* were obtained, as well as acclimatization of plants *in vitro*.

**Keywords:** Anti-inflammatory property; Micropropagation; Medicinal plants; *In vitro* propagation; Texas madeira vine.

**Resumen:** *Anredera vesicaria* es una planta con elevada actividad antiinflamatoria. El objetivo del trabajo fue establecer la propagación *in vitro* de *A. vesicaria*. Como explantes se utilizaron segmentos nodales y se evaluaron dos tiempos de desinfección en hipoclorito de sodio al 1% (15 y 20 minutos) durante el establecimiento *in vitro*. Se evaluaron combinaciones de AG3 (2,5 y 5,0 mg/L) y AIA (0,05 y 0,1 mg/L) en la fase de multiplicación y el efecto del AIB (0,5 y 1,0 mg/L) y el Pectimorf (1,0 y 5,0 mg/L) en el enraizamiento *in vitro*. La aclimatización se realizó en una mezcla de suelo - estiércol vacuno - zeolita. Se logró la desinfección con hipoclorito de sodio al 1% durante 15 minutos y el establecimiento *in vitro* en el medio de cultivo MS (1962). Se obtuvieron altos valores de multiplicación y enraizamiento *in vitro*, así como de aclimatización de plantas *in vitro*.

**Palabras clave:** Propiedad antiinflamatoria; Micropropagación; Plantas medicinales; Propagación *in vitro*; Yuca hiedra

## INTRODUCTION

Los beneficios a la salud y el valor económico de las plantas medicinales han provocado un creciente interés por las mismas en las últimas décadas (Puig *et al.*, 2019). La flora cubana es rica en plantas medicinales con una gran diversidad y abundancia de metabolitos secundarios, atribuido a las características del clima. La Yuca hiedra (*Anredera vesicaria* L.) es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia Basellaceae, sus rizomas son empleados en el Oriente de Cuba como antiinflamatorio y analgésico para el tratamiento de golpes, fracturas y contusiones (Roig, 1988).

Estudios químico-biológicos desarrollados por el Centro de Estudios de Química Aplicada de la Universidad de Granma (De la Cruz *et al.*, 2016; Torres *et al.*, 2018), han permitido determinar la presencia de fenoles, flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, mucílagos y saponinas en hojas, tallos y rizomas, así mismos ha sido reportada una alta concentración de ácido oleanólico en los rizomas, lo cual pudiera contribuir en gran medida a la elevada actividad antiinflamatoria de la planta. También, ha sido demostrada una fuerte actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de rizomas frente bacterias gram-positivas y gram-negativa (González *et al.*, 2018).

Las promisorias bondades farmacológicas de esta planta vaticinan su uso a escala industrial en futuros proyectos, lo cual demandaría grandes cantidades de material vegetal, sin embargo, su disponibilidad es escasa. Esta planta crece de forma silvestre y generalmente se encuentra en patios y jardines de personas que conocen sus propiedades medicinales, pero hasta el momento no se ha reportado su cultivo, ni técnicas para su propagación.

La Yuca hiedra se reproduce a partir de rizomas, parte de la planta de mayor utilidad medicinal, esto implica utilizar una gran cantidad de rizomas para la siembra, lo que disminuye su disponibilidad para fines medicinales. Esta forma de reproducción de la planta y la escasa disponibilidad de material vegetal, hace necesario la búsqueda de nuevas alternativas para su cultivo.

La propagación mediante métodos biotecnológicos podría constituir una alternativa factible ante la demanda de material vegetal de esta planta. Entre estas técnicas la más usada es la micropropagación que permite producir en corto

tiempo gran número de plantas uniformes y libres de patógenos (Kumar y Reddy, 2011)

En la revisión bibliográfica no se encontraron antecedentes del cultivo *in vitro* de *A. vesicaria*, sólo algunas referencias bibliográficas relacionadas con la propagación *in vitro* de *Anredera cordifolia* (Sugiyarto y Kuswandi, 2015; Suparjo *et al.*, 2016) planta que pertenece a la misma familia. El objetivo del presente trabajo fue establecer la propagación *in vitro* de *Anredera vesicaria*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Granma en el periodo octubre 2019 – mayo 2020.

### *Material vegetal*

El material vegetal de partida consistió en rizomas de *Anredera vesicaria* (Lam.) C.F. Gaertn. Basellaceae procedentes de plantas identificadas por especialistas del Jardín Botánico Cupainicú, Granma, Cuba. Se seleccionaron rizomas sanos y libres de daños, que fueron sometidos a una minuciosa limpieza, eliminando los restos de follaje, suelo y raíces. Se lavaron con una disolución de hipoclorito de sodio al 0,5% de cloro activo durante cinco minutos. Se colocaron en una bandeja de aluminio a temperatura ambiente hasta la emisión de brotes. Se tomaron brotes de 8,0 a 12 cm de longitud, con 5 a 6 entrenudos para su establecimiento *in vitro*.

### *Medios y condiciones de cultivo*

En los diferentes experimentos se utilizó como medio de cultivo basal (MCB) el constituido por las sales y vitaminas MS (Murashige y Skoog, 1962), sacarosa 30,0 g/L, el pH se ajustó a 5,7 y se solidificó con agar (Plant agar Duchefa) 6,0 g/L. La incubación del material vegetal se realizó en cámaras de luz solar, a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , humedad relativa de 80 a 85% e intensidad luminosa de  $45\text{-}54 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

En todos los experimentos se utilizaron 30 explantes por tratamiento. En el establecimiento y multiplicación *in vitro* se utilizaron tubos de ensayos de 15,0 cm de longitud y 2,0 cm de diámetro y se colocó un segmento nodal por tubo. En el enraizamiento de utilizaron pomos de boca ancha de 250 mL de volumen, y se plantaron 5 segmentos nodales por recipiente. En todos los experimentos las

variables fueron evaluadas a los 30 días posteriores a la siembra.

### **Establecimiento *in vitro***

Los brotes provenientes de los rizomas (Figura N° 1A) fueron seccionados en segmentos nodales de 2 a 3 cm, se mantuvieron en agua con detergente durante 30 minutos en agitación continua y se enjuagaron con agua destilada. En condiciones asépticas se les añadió disolución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante diferentes tiempos de desinfección:

T1: 15 minutos

T2: 20 minutos

Posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se recortaron los extremos dañados por la desinfección hasta una longitud de 1,0-1,5 cm. Se utilizó el medio de cultivo basal sin reguladores del crecimiento.

Se evaluaron las variables: desinfección (%), determinada a partir del número de explantes libres de contaminación microbiana visible con respecto al número total de explantes sembrados; yemas establecidas (%), determinado a partir del número de explantes que emitieron brotes y raíces con respecto al número total de explantes; longitud del brote (cm) medido con una regla y el número de hojas por brote determinado por conteo.

### **Multiplicación *in vitro***

Se tomaron segmentos nodales de 0,5 - 1,0 cm de longitud, procedentes de plantas *in vitro* con 30 días de establecidas. Se utilizó el medio de cultivo basal con diferentes combinaciones de ácido giberélico (AG3) y ácido indolacético (AIA) según los tratamientos que se describen a continuación:

T1: Sin reguladores del crecimiento

T2: AG3 2,5 mg/L y AIA 0,05 mg/L

T3: AG3 2,5 mg/L y AIA 0,10 mg/L

T4: AG3 5,0 mg/L y AIA 0,05 mg/L

T5: AG3 5,0 mg/L y AIA 0,10 mg/L

Se evaluaron: longitud del brote (cm), número de segmentos nodales por explante y el número de hojas y raíces por explante.

### **Enraizamiento *in vitro***

Se emplearon plantas *in vitro* procedentes de la fase de multiplicación que fueron cortadas en segmentos nodales de 0,5 -1,0 cm de longitud. Se empleó el medio de cultivo basal y se evaluaron diferentes

concentraciones de ácido indolbutírico (AIB) y Pectimorf para los tratamientos siguientes:

T1: MCB sin reguladores del crecimiento

T2: MCB + AIB 0,5 mg/L

T3: MCB + AIB 1,0 mg/L

T4: MCB + Pectimorf 1,0 mg/L

T5: MCB + Pectimorf 5,0 mg/L

Variables evaluadas: explantes enraizados (%), longitud de los brotes y número de hojas y raíces por explante.

### **Aclimatización**

Plantas enraizadas *in vitro* fueron extraídas de los frascos de cultivo, se lavaron las raíces para eliminar los restos del medio de cultivo y se colocaron en un recipiente con las raíces sumergidas en agua durante 13 a 14 horas antes de ser trasplantadas a las condiciones *ex vitro*.

La aclimatización se llevó a cabo en casa de adaptación, bajo una malla sarán de color negro. El sustrato fue una mezcla de suelo (45%), estiércol vacuno (45%) y zeolita (10%). Se cubrió totalmente el sistema radicular de las plantas y se presionó ligeramente para garantizar que estas se fijaran al sustrato. Se utilizaron bandejas de polietileno de 70 alveolos. Se colocó una planta por alveolo y se cubrieron con pomos de cristal transparente durante cinco días. El riego se realizó tres veces a la semana de forma manual.

Variables evaluadas: supervivencia (%), altura de la planta (cm) y número de hojas.

### **Análisis estadísticos**

Las variables expresadas en porcentaje se procesaron mediante un análisis de diferencias de proporciones. La normalidad se comprobó por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de las varianzas, por el test de Levene. Cuando se cumplió con normalidad y homogeneidad de varianza, se realizó un análisis de varianza simple. En los casos donde hubo diferencias significativas entre las medias, se aplicó la prueba de comparación múltiple de rango de Tukey para  $p=0,05$ . Se utilizó el paquete estadístico Infostat 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017)

## **RESULTADOS**

Los tratamientos de desinfección evaluados posibilitaron alcanzar altos valores de explantes libres de contaminantes visibles, sin diferencias significativas entre ellos (Tabla N° 1).

Tabla N° 1

Efecto del tiempo de desinfección en hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro* de *A. vesicaria*

Tiempo de desinfección	Desinfección (%)	Establecimiento (%)	Longitud del brote (cm)	Número de hojas
15 minutos	100	100	6,4	13
20 minutos	93,3	93,3	6,5	14
EE (X)	ns	ns	0,17ns	0,47ns

EE (X). Error estándar de la media. ns. sin diferencias significativas

El número de yemas establecidas fue elevado en ambos tratamientos, sin diferencias significativas entre ellos, lo cual sugiere que el contenido endógeno de auxinas y citoquininas que poseen los segmentos nodales de Yuca hiedra les permiten activar el crecimiento, independientemente que se adicione o no reguladores del crecimiento al medio de cultivo.

El número de hojas por brote y la longitud de los brotes no mostraron diferencias entre los tratamientos. Los brotes y hojas mostraron la conformación anatómica y coloración característica de la especie, sin síntomas de hiperhidricidad u otro tipo de malformación (Figura N° 1B). No se observó la formación de brotes múltiples, ni ramificación en los brotes. En algunos explantes se formó una masa callosa en la base de los mismos, lo cual es característico de un crecimiento indiferenciado de células, sin embargo, no se observó la formación de brotes a partir de ellos, ni afectaciones en el desarrollo de los brotes, lo que permite asegurar que

la vía de propagación *in vitro* es por segmentos nodales.

La formación de las raíces inició a partir de los 15 días, con un rápido desarrollo de las mismas. A los 30 días se observó un sistema radicular bien conformado, con múltiples raíces secundarias y abundantes pelos absorbentes.

#### *Multiplicación in vitro*

El análisis de varianza mostró la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos en todas las variables morfológicas estudiadas. La supervivencia de los explantes fue superior al 90% en todos los tratamientos, sin diferencias significativas entre los mismos (datos no mostrados). En la Tabla N° 2, se pudo observar que las variables morfológicas evaluadas fueron significativamente superiores en los medios de cultivo donde se utilizó la mayor concentración de ácido giberélico (5,0 mg/L).

Tabla N° 2

Efecto del ácido giberélico y el ácido indolacético en la multiplicación *in vitro* de *A. vesicaria*

Tratamientos	Número de segmentos nodales por brote	Longitud del brote (cm)	Número de hojas por brote
T1	5,00 bc	2,5 e	5,00 c
T2	5,50 b	7,50 c	5,20 c
T3	4,70 c	5,50 d	3,70 d
T4	9,00 a	13,60 b	8,80 a
T5	8,90 a	15,10 a	8,10 a
EE (X)	0,15	0,16	0,15

EE: Error estándar de la media. Medias con letras diferentes para una misma columna difieren significativamente según Tukey ( $p \leq 0,05$ ) T1: Sin reguladores del crecimiento, T2: 2,5 mg/L de AG<sub>3</sub> y 0,05 mg/L de AIA, T3: 2,5 mg/L de AG<sub>3</sub> y 0,1 mg/L de AIA, T4: 5,0 mg/L de AG<sub>3</sub> y 0,05 mg/L de AIA, T5: 5,0 mg/L de AG<sub>3</sub> y 0,1 mg/L de AIA

En los medios de cultivo con AG3 las plantas *in vitro* mostraron tallos alargados y delgados, de entrenudos largos y hojas pequeñas, lo cual fue más pronunciado al utilizar 5,0 mg/L (Figura N° 1C). Algunos explantes manifestaron síntomas de marchitez, coloración amarillenta, caídas de las hojas, pérdida de la yema apical y el desarrollo de callos en la base.

En el medio de cultivo sin reguladores del crecimiento se observó un menor desarrollo de las plantas *in vitro*, sin embargo, mostraban un mejor estado físico, hojas con la coloración característica de la especie, tallos gruesos de entrenudos cortos y la

formación de raíces.

#### **Enraizamiento in vitro**

La formación de raíces *in vitro* ocurrió en todos los tratamientos, incluido el medio de cultivo sin reguladores del crecimiento (Tabla N° 3), lo que sugiere que el contenido endógeno de auxinas que poseen los explantes es suficiente para inducir su enraizamiento. La adición de Pectimorf y ácido indolbutírico incrementaron significativamente el porcentaje de explantes enraizados y el número de raíces por explante en comparación con el tratamiento control.

**Tabla N° 3**  
**Efecto del Pectimorf y el ácido indolbutírico en el enraizamiento *in vitro* de yuca hiedra**

Tratamientos	Enraizamiento (%)	Longitud del brote (cm)	Número de hojas	Número de raíces
Sin reguladores del crecimiento	66,6 b	1,96 d	3,67 d	2,92 d
AIB 0,5 mg/L	86,6 a	3,94 ab	4,92 bc	9,00 b
AIB 1,0 mg/L	83,3ab	4,24 a	6,17 a	13,50 a
Pectimorf 1,0 mg/L	76,6 ab	3,33 c	4,67 c	6,33 c
Pectimorf 5,0 mg/L	80,0 ab	3,37 bc	5,58 ab	6,67 c
EE (X)		0,15	0,21	0,34

**EE: Error estándar de la media. Medias con letras diferentes para una misma columna difieren significativamente según Tukey ( $p \leq 0,05$ )**

El mayor número de raíces se logró al utilizar 1,0 mg/L de IBA. El número de hojas y la longitud del brote se incrementaron con la adición de AIB y Pectimorf, con valores significativamente mayores al emplear AIB 1,0 mg/L.

Las plantas *in vitro* en todos los tratamientos mostraban tallos gruesos, hojas de color verde oscuro, totalmente extendidas y un sistema radicular con abundantes raíces secundarias y pelos absorbentes, en algunos casos se observó la formación de microtubérculos (Figura N° 1E)

#### **Aclimatización**

La supervivencia fue superior al 95% durante la aclimatización. Las plantas después de 30 días en condiciones *ex vitro*, mostraban una altura promedio de 9,60 cm y 7,10 hojas por planta, un crecimiento vigoroso, con hojas de color verde oscuro, totalmente extendidas, tallo grueso y en un sistema radicular bien desarrollado (Figura N° 1F).

#### **DISCUSIÓN**

Los altos valores de desinfección obtenidos, ratifican

la eficacia del hipoclorito de sodio en la desinfección superficial del material vegetal utilizado en el cultivo de tejidos. En el caso de *A. vesicaria*, la concentración de NaClO y tiempo de desinfección coinciden con los empleados normalmente para desinfectar la mayoría de los cultivos para el establecimiento *in vitro*. Los resultados obtenidos pudieran estar dados por los tratamientos previos de desinfección, limpieza y condiciones semicontroladas de laboratorio a que fueron sometidos los rizomas. Por otra parte, los metabolitos secundarios que se encuentran en el rizoma, algunos de ellos con propiedades antimicrobianas, pudieran haber contribuido a disminuir la cantidad de contaminantes presentes en los brotes usados como explantes.

En la multiplicación, los resultados obtenidos pudieran estar relacionados con la capacidad del ácido giberélico de promover la división celular y la elongación de los entrenudos (Rodríguez *et al.*, 2016). Al respecto Ortega *et al.* (2013), plantean que una de las funciones más importantes de las giberelinas es la promoción del crecimiento del tallo, hojas y raíces y esto se debe a la inducción de la

división celular, pues acortan la interface del ciclo celular al inducir a las células a sintetizar ácido desoxirribonucleico. También se ha demostrado que el suministro de ácido giberélico en los medios de cultivo de diferentes especies aumenta el tamaño de

los cultivos y contribuye a un mayor rendimiento de las plántulas, cuando se transfieren a condiciones *ex vitro* y posteriormente al campo (Dos Santos *et al.*, 2017; Hesami *et al.*, 2018).

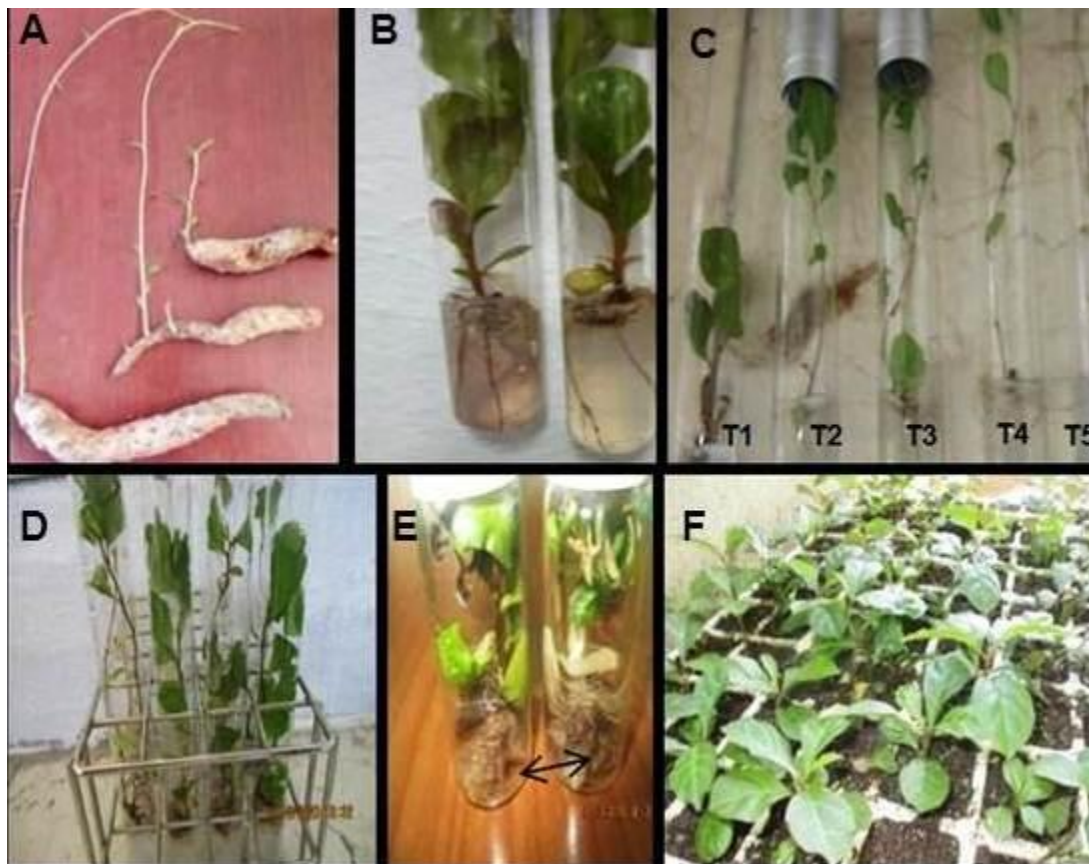


Figura N° 1

Propagación *in vitro* y aclimatización de *A. vesicaria*. A. Rizomas con brotes, B. Plantas establecidas *in vitro*, C. Efecto del ácido giberélico en la multiplicación *in vitro*, D. Plantas multiplicadas *in vitro* E. Formación de rizomas *in vitro*. F. Plantas aclimatizadas

Resultados similares fueron obtenidos por Suárez *et al.* (2020), en el cultivo *in vitro* de *Alpinia purpurata* al obtener brotes de mayor longitud y con mayor número de hojas cuando se adicionó ácido giberélico a concentraciones de 0,75 y 1,0 mg/L al medio de cultivo.

Sin embargo, no coinciden con los obtenidos por López *et al.* (2017), quienes determinaron que el ácido giberélico a concentraciones de 0,5; 1,0 y 1,5 mg/L, no ejerció un efecto significativo para la altura de planta, número de brotes y número de raíces en la

propagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana*.

Los resultados obtenidos en el enraizamiento *in vitro* coinciden con los obtenidos por García *et al.* (2015), quienes observaron la formación de raíces en el 90% de los brotes de *Sechium medule* al no utilizar reguladores de crecimiento, mientras que al adicionar AIB al medio de cultivo la formación de raíces se observó en el 100% de los brotes. También coinciden los trabajos desarrollados por Rodríguez *et al.* (2003), para la propagación *in vitro* de *Artemisia absinthium*, quienes obtuvieron los mejores resultados en el

enraizamiento de esta planta medicinal, con el uso del ácido indolbutírico.

La aplicación de Pectimorf estimuló la formación de raíces y el desarrollo de las plantas *in vitro*, este producto natural es considerado un potente estimulante del crecimiento y de la diferenciación celular en diferentes especies vegetales, cuyo efecto es considerado similar al de las auxinas o citoquininas (Hernández *et al.*, 2010).

Al respecto, Borges *et al.* (2015), durante el enraizamiento *in vitro* de plantas de 'FHIA-18' (Musa AAAB), determinaron que la adición de Pectimorf 2,0 mg/L al medio de cultivo fue una alternativa factible en el enraizamiento *in vitro*, al influir positivamente sobre la altura de las plantas, número de hojas y grosor del pseudotallo, con un efecto residual favorable en la aclimatización de las plántulas. Resultados alcanzados por Posada *et al.* (2016), con el empleo de Pectimorf durante el enraizamiento *in vitro* y la aclimatización de brotes de *Carica papaya*, reafirman las potencialidades de esta sustancia en el cultivo *in vitro*, al obtener plantas con mayor área foliar, masa fresca, número de raíces, tasa fotosintética y conductancia estomática; lo cual unido a un alto porcentaje de enraizamiento y un menor porcentaje de estomas abiertos permitió alcanzar una alta supervivencia en condiciones *ex vitro*.

Los altos valores de supervivencia de las

plantas durante la aclimatización pudieran atribuirse entre otros factores, al adecuado manejo de las plantas, a las condiciones ambientales en las cuales se desarrolló el experimento ya las características de la especie, que la hacen resistente a las condiciones *ex vitro*. En relación con esto Pérez *et al.* (2016) y Espinosa *et al.* (2019), consideran que las condiciones de cultivo en las cuales se desarrolla el proceso de aclimatización son determinantes para obtener altos valores de supervivencia.

Trabajos realizados por Laguna *et al.* (2019), en el cultivo *in vitro* de la planta medicinal *Senecio calvus*, muestran una supervivencia superior al 88%, al utilizar como sustrato una mezcla de tierra- musgo (1:1), resultados que coinciden con los alcanzados en la presente investigación.

## CONCLUSIONES

Se logró el establecimiento *in vitro* de *A. vesicaria* a partir de segmentos nodales desinfectados con hipoclorito de sodio al 1% de cloro activo durante 15 minutos en el medio de cultivo MS (1962) sin reguladores del crecimiento. La inclusión en el medio de cultivo de ácido giberélico 5,0 mg/L en combinación con AIA 0,05 y 1,0 mg/L incrementó el índice de multiplicación, así mismo, el uso de Pectimorf y ácido indolacético favorecieron el enraizamiento, la altura y vigorosidad de los explantes de *A. vesicaria*.

## REFERENCIAS

- Borges M, Reyes DM, Zayas JM, Destrade R. 2015. Efecto de Pectimorf® en el enraizamiento *in vitro* de plantas de 'FHIA-18' (Musa AAAB). **Biotecnología Vegetal** 15: 227 - 232.
- De la Cruz M, Torres E, Morales JA, Hermosilla R, Hernández R. 2016. Identificación de metabolitos secundarios de *Anredera vesicaria* (Yuca hiedra). **Rev Cub Plant Med** 21: 215 - 222.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González LA, Tablada M, Robledo C. 2017. InfoStat 2017. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.  
<https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00320>
- Dos Santos D, Cardoso P, Nievola C. 2017. Stem elongation of ornamental bromeliad in tissue culture depends on the temperature even in the presence of gibberellic acid. **Acta Physiol Plant** 39: 230.  
<https://doi.org/10.1007/s11738-017-2536-0>
- Espinosa A, Silva JJ, Bahi M, Romero D. 2019. Influencia del tamaño de las plantas *in vitro* y tipo de sustrato en la aclimatización de *Morus alba* L. **Pastos y Forrajes** 42: 23 - 29. <https://doi.org/0000-0002-9918-641x>
- García J, Salas E, Bolaños J. 2015. Efecto del AIA y el AIB sobre el enraizamiento *in vitro* de brotes de *Sechium medule* (Jacq.) Sw. **Biotecnología Vegetal** 15: 3 - 7.
- González A, Morales JA, Peña D, Guardia Y, Torres E. 2018. *In vitro* anti-arthritic activity of extracts in water, ethanol and diethyl ether of the rhizomes from *Anredera vesicaria*. **J Pharm Sci** 4: 7 - 12.  
<https://doi.org/10.20431/2455-1538.0404002>
- Hernández RM, Diosdado E, Coll F, Cabrera JC. 2010. Efecto de los biorreguladores del crecimiento en la embriogénesis somática de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.). **Cultivos Tropicales** 31: 32

- 38.

- Hesami M, Daneshvar M, Yoosefzadeh M. 2018. An efficient *in vitro* shoot regeneration through direct organogenesis from seedling-derived petiole and leaf segments and acclimatization of *Ficus religiosa*. **J Forest Res** 30: 807 - 815. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0647-0>
- Kumar N, Reddy MP. 2011. *In vitro* plant propagation: a review. **J Forest Res** 27: 61 - 72.
- Laguna J, Cueva J, Tamariz C, Olivera P. 2019. Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Senecio calvus* (asteraceae), planta medicinal altoandina, endémica del Perú. **Rev Invest Altoandinas** 21: 111 - 121. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.455>
- López E, López A, De la Cruz A. 2017. Efecto del ácido giberélico en la propagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, "estevia". **Arnaldoa** 24: 599 - 608. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24211>
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant** 15: 473 - 497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Ortega L, Ocampo J, Martínez C, Pérez A, Sánchez J. 2013. Efecto de las giberelinas sobre el crecimiento y calidad de plántulas de tomate. **Biotecnia** 15: 56 - 60. <https://doi.org/10.18633/bt.v15i3.159>
- Pérez N, Capote A, Pérez A, Gómez L, Chong B. 2016. Efecto del sustrato en la aclimatización de plantas *in vitro* de *Aloe vera* L. **Bioteología Vegetal** 16: 161 - 169.
- Posada L, Padrón Y, González J, Rodríguez R, Barbón R, Escriba R. 2016. Efecto del Pectimorf® en el enraizamiento y la aclimatización *in vitro* de brotes de papaya (*Carica papaya* L) cultivar maradol roja. **Cultivos Tropicales** 37: 50 - 59. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1642.2642>
- Puig P, García AJ, Alonso L, Perdomo J, Segredo A. 2019. Integración de la medicina natural y tradicional cubana en el sistema de salud. **Rev Cub Salud Pub** 45: 1 - 24. <https://doi.org/0000-0002-2420-2956>
- Rodríguez H, Hechevarría I, Rodríguez CA, Rivera M. 2003. Propagación *in vitro* de *Artemisia absinthium* L. en Cuba. **Rev Cub Plant Med** 2003.
- Rodríguez M, Hormazábal N, Araneda X, Tampe J, Lobos V, Castillo C. 2016. Efectos del ácido giberélico, bencilaminopurina y fluridona en la germinación *in vitro* de *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae). **Botánica** 73: 77 - 84. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000100010>
- Roig JT. 1988. **Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos**. Ed. III Científico-Técnica, La Habana, Cuba.
- Suarez IE, Pérez PM, López CM. 2020. Evaluación de sacarosa y GA en un cultivo *in vitro* de brotes de *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae). **Cienc Tecnol Agrop** 21: 1 - 12. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num2\\_art:1193](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num2_art:1193)
- Sugiyarto L, Kuswandi P. 2015. Callus induction of binahong leaves (*Anredera cordifolia* L.) for the development of traditional medicinal plant. **Jurnal Sains Dasar** 3. <https://doi.org/10.21831/jsd.v3i1.2787>
- Suparjo, JI, Syofi R, Teuku T, Ahmad R. 2016. Effect of Auxin and Cytokinin on Micropropagation of binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). **J Bioteknol Biosains Indones** 3: 57 - 65. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v3i2.72>
- Torres E, de la Cruz M, Bullain M, Morales JA. 2018. *In vitro* antibacterial activity of dried extract from *Anredera vesicaria* rhizomes. **Adv Plants Agric Res** 8: 237 - 239. <https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00320>