

Organogénesis *in vitro* en *Sophora toromiro* a partir de segmentos nodales

Santiago C. Vásquez^{1, 2*} <https://orcid.org/0000-0002-3713-020X>

Marlene Lorena Molina-Müller^{1, 2} <https://orcid.org/0000-0003-2153-9294>

Peter Seemann Fahrenkrog³ <https://orcid.org/0000-0002-3315-8248>

Camilo Alexander Mestanza Uquillas^{2, 4} <https://orcid.org/0000-0001-9299-170X>

Edwin I srael Villavicencio Sánchez¹ <https://orcid.org/0000-0002-6476-489X>

¹Universidad Nacional de Loja, Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Carrera de Agronomía. Loja. Loja. Ecuador.

²Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Graduados, Campus Isla Teja. Valdivia. Valdivia. Chile.

³Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. Valdivia. Valdivia. Chile.

⁴Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Facultad de Ciencias Pecuarias. Quevedo. Los Ríos. Ecuador.

*Autor para correspondencia: e-mail: santiago.vasquez@unl.edu.ec

RESUMEN

Sophora toromiro es un arbusto endémico de Chile y extinto en su estado natural, esta especie tiene problemas para su conservación debido a su difícil propagación. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta organogénica de explantes nodales de *Sophora toromiro* bajo condiciones *in vitro* usando diferentes medios de cultivo y reguladores de crecimiento vegetal. Se utilizaron segmentos nodales como explantes, los cuales, respondieron satisfactoriamente a la inducción de brotes cuando se cultivaron en medio MS o WPM solo o con la adición 6-N-Bencilaminopurina (BAP), ácido α -naftalenacético (ANA), ácido indol-3-butírico (AIB) o ácido indol-3-acético (AIA). El mayor número de brotes (3.5 brotes/explante) se logró cuando los explantes crecieron en medio WPM + 0.1 mg l⁻¹ de AIB. Para la inducción de raíces, los explantes fueron transferidos a un nuevo medio de cultivo, donde el mayor porcentaje de enraizamiento (42.1%) fue conseguido al cultivar los explantes en medio MS con 0.5 mg l⁻¹ de ANA. Este estudio proporciona nuevos antecedentes para la propagación y conservación de *S. toromiro*.

Palabras clave: enraizamiento, formación de brotes, regeneración *in vitro*

In vitro organogenesis in *Sophora toromiro* from nodal segments

ABSTRACT

Sophora toromiro is an arboreal endemic to Chile and extinct in its natural state, this specie has problem for its conservation due to its difficult propagation. The present study aimed to determine the organogenic response of *Sophora toromiro* nodal explants under *in vitro* conditions using different culture media and plant growth regulators. Nodal segments were used as explants, and responded satisfactorily to shoots induction when they were grown in MS or WPM medium with addition of 6-benzyl amino purine (BAP), α -naphthaleneacetic acid (NAA), indole 3-butyric acid (IBA) or indole-3-acetic acid (IAA). The highest shoots number (3.5 shoots / explant) was achieved when the explants grew in WPM medium + 0.1 mg l⁻¹ IBA. For roots induction, the explants were transferred to new culture medium, where the highest rooting percentage (42.1%) was achieved by explants cultivating in MS medium + 0.5 mg l⁻¹ NAA. This study provides new information for *S. toromiro* propagation and conservation.

Keywords: *in vitro* regeneration, rooting, shoot induction

INTRODUCCIÓN

Sophora toromiro (Phil.) Skottsb. (*Fabaceae*) es una especie arbórea endémica de la Isla de Pascua (Chile) y extinta en su habitat de origen (Maunder, 1997; Peña *et al.*, 2000). Ha sobrevivido en un pequeño número de individuos que permanecen en jardines botánicos y colecciones privadas (Maunder 1997; Espejo *et al.*, 2016). Por otro lado, *Sophora* representa uno de los géneros de plantas medicinales más importantes debido a sus componentes químicos y destacada actividad farmacológica (Aly *et al.*, 2019).

Estudios previos muestran inconvenientes en la propagación sexual y asexual de esta especie (Alden y Zizka, 1989; Iturriaga *et al.*, 1994; Espejo y Rodríguez, 2013), probablemente relacionado a una limitada diversidad genética (Maunder *et al.*, 1999), lo que sugiere que sea considerada recalcitrante para su propagación.

En este escenario, el cultivo *in vitro* de tejidos se ha propuesto como una alternativa viable para la propagación y establecimiento de bancos de germoplasma (Rayas *et al.*, 2019; Rosati y De la Cruz-Chacón 2019). Sin embargo, la propagación *in vitro* de *S. toromiro* ha sido poco explorada. Autores como Iturriaga *et al.* (1994) y Jordan *et al.* (2001) informaron del potencial morfogénico de diferentes explantes para propagar *in vitro* esta especie, pero con resultados discretos. Indicaron, además, dificultad para la formación de raíces y por lo tanto para una eficiente regeneración de nuevas plantas. Profundizar en los estudios para

propagar *in vitro* *S. toromiro* podría contribuir a su rescate y conservación. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta organogénica de explantes nodales de *S. toromiro* en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal utilizado como fuente inicial de explantes, correspondieron a segmentos nodales de aproximadamente 2.5 cm de longitud con dos yemas, provenientes de plantas obtenidas a partir de embriones cigóticos mantenidos *in vitro*. Las plantas madre provinieron del vivero comercial Brujas de Talagante, Chile.

Propagación *in vitro*

Para la formación de brotes, los explantes se colocaron en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) y WPM (Lloyd y McCown, 1980), con diferentes reguladores de crecimiento vegetal (RCV): 1.0 y 2.0 mg l⁻¹ de 6-N-Bencilaminopurina (BAP), 0.1 y 0.5 mg l⁻¹ de ácido indol-3-butírico (AIB), ácido α -naftalenacético (ANA) y ácido indol-3-acético (AIA), también se incluyeron controles sin la adición de RCV (Tabla 1).

Dos segmentos nodales fueron colocados de manera vertical en cada frasco de cultivo de 60 ml de capacidad que contenía 15 ml de medio de cultivo. A los 45 días de cultivo, se cuantificó el número de brotes por explante y se midió la altura del brote principal (cm).

Tabla 1. Medios de cultivo y reguladores de crecimiento utilizados para la regeneración *in vitro* de plantas *Sophora toromiro*.

MCB	RCV (mg l ⁻¹)			
	AIB	AIA	ANA	BA
MS	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.1	0.1	0.1	1.0
	0.5	0.5	0.5	2.0
WPM	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.1	0.1	0.1	1.0
	0.5	0.5	0.5	2.0

MCB: Medio de cultivo basal, RCV: Reguladores de crecimiento vegetal, ANA: ácido α -naftalenacético, BAP: 6-N-Bencilaminopurina, AIA: ácido indol-3-acético, AIB: ácido indol-3-butírico

Los brotes formados fueron escindidos y transferidos individualmente a frascos con los medios de cultivo MS y WPM a los cuales se adicionaron 0.1 y 0.5 mg l⁻¹ de ANA, AIA y AIB para lograr el enraizamiento. Se incluyeron controles sin la adición de RCV (Tabla 1). A los 60 días de cultivo se cuantificó el número de explantes que formaron raíces y se calculó el porcentaje de enraizamiento por tratamiento. Además, se midió la longitud de la raíz principal (cm).

Todos los medios de cultivo fueron ajustados a pH 5.8 con HCl 1N o NaOH 1N, y se adicionaron 2 g l⁻¹ de Gelrite y 20 g l⁻¹ de sacarosa. Los explantes se mantuvieron en cámara de crecimiento incubados en fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad con luz fría de intensidad luminica 3000 lux, y 22 ± 2 °C.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental aplicado fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo bifactorial, donde se evaluó el medio de cultivo y el tipo de regulador de crecimiento sobre la formación de brotes y raíces, resultando en 24 tratamientos con tres repeticiones. Cada unidad experimental correspondió a un frasco que contenía dos explantes, con un total de seis explantes por tratamiento.

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde, Y_{ij} es la variable evaluada (número de brotes, altura de brote, porcentaje de enraizamiento y longitud de raíz), μ es la media de las observaciones, T_i es el efecto del medio de cultivo, β_j es el efecto del regulador de crecimiento, $(\tau\beta)_{ij}$ es el efecto producido por la interacción entre $\tau \times \beta$, y el residual ε_{ij} representa la variación aleatoria.

El efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta, número de brotes, altura de brote (cm), porcentaje de enraizamiento y longitud de raíz (cm), se analizó mediante análisis de varianza, y las medias fueron comparadas con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) utilizando el software Statistica V.7.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Los valores de porcentaje de enraizamiento se normalizaron mediante la transformación angular de Bliss. Previo al análisis de varianza, la normalidad de los datos fue analizada mediante la prueba de Shapiro-Wilks y la homocedasticidad mediante la prueba de Levene. Los valores que no tuvieron distribución normal fueron transformados como $\sqrt{+0.1}$

RESULTADOS

Las características fenotípicas de los brotes mostraron variaciones en los diferentes medios de cultivo con los RCV, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para la variable altura del brote principal ($p > 0.05$; Tabla 2). La menor altura de brote numéricamente se observó cuando estos crecieron con la concentración más alta ensayada de BAP (2 mg l⁻¹), tanto en el medio de cultivo MS como en WPM, que alcanzó 1.40 cm y 1.76 cm, respectivamente.

Los explantes generaron múltiples yemas adventicias en todos los medios de cultivo evaluados, incluso en aquellos que carecían de reguladores de crecimiento vegetal (Tabla 2). No se encontraron diferencias significativas para la variable número de brotes ($p > 0.05$). Estos resultados sugieren que la formación de brotes a partir de segmentos nodales de plantas obtenidas *in vitro* a partir de embriones cigóticos, se puede lograr mediante cualquiera de los dos medios de cultivo usados en este experimento, inclusive prescindiendo de la adición reguladores de crecimiento vegetal (Figura 1).

Aunque la biomasa de las plántulas no se evaluó en la presente investigación, los brotes que crecieron en el medio de cultivo MS visualmente exhibieron un mejor aspecto. Se observaron folíolos verdes y de mayor tamaño en comparación con los brotes que crecieron en medio de cultivo WPM, que fueron menos frondosos y de color verde poco intenso, con independencia del tipo de RCV (Figura 1 A, B).

El efecto del medio de cultivo y los reguladores de crecimiento vegetal, así como, la interacción entre estos dos factores, mostró diferencias altamente significativas para la formación y crecimiento de raíces ($p < 0.001$; Tabla 3). Los explantes que formaron la mayor cantidad de raíces (42.1%) fueron aquellos que crecieron en el medio de cultivo MS con 0.5 mg l⁻¹ de ANA. Respecto al crecimiento de las raíces, se encontró que en el medio de cultivo MS + 0.1 mg l⁻¹ de AIB se produjo el mayor crecimiento de raíces con 7 cm a los 60 días (Tabla 3; Figura 1). La formación y crecimiento de raíces en los medios de cultivo y RCV mostraron respuestas heterogéneas, se observó en varios tratamientos que existió escasa o nula diferenciación de raíces (Tabla 3).

Tabla 2. Efecto de dos medios de cultivo y concentración de reguladores de crecimiento vegetal sobre la formación y crecimiento de brotes *in vitro* en *Sophora toromiro* a partir de segmentos nodales.

MCB	RCV	(mg l ⁻¹)	No. Brotes/Explante	Altura brote (cm)	
MS	AIB	0.0	1.75	2.92	
		0.1	3.25	3.38	
		0.5	2.33	3.76	
	AIA	0.0	1.67	2.29	
		0.1	2.50	3.20	
		0.5	2.25	3.46	
	ANA	0.0	2.17	2.78	
		0.1	2.50	3.62	
		0.5	2.00	2.98	
	BAP	0.0	1.72	2.50	
		1.0	2.42	2.05	
		2.0	2.09	1.40	
	WPM	AIB	0.0	2.92	2.30
			0.1	3.50	2.95
			0.5	2.42	2.38
AIA		0.0	2.75	2.32	
		0.1	3.17	3.57	
		0.5	3.08	3.32	
ANA		0.0	1.83	2.43	
		0.1	2.67	2.81	
		0.5	2.33	2.67	
BAP		0.0	1.80	2.33	
		1.0	2.92	2.55	
		2.0	1.96	1.76	
e.e.m			0.07	0.08	
MCB			ns	ns	
RCV			ns	ns	
MCV x RCV		ns	ns		

Los datos están expresados como medias de tres repeticiones. ns: no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey, $p < 0.05$). e.e.m: error estándar de la media. MCB: Medio de cultivo basal, RCV: Reguladores de crecimiento vegetal, ANA: ácido α -naftalenacético, BAP: 6-N-Bencilaminopurina, AIA: ácido indol-3-acético, AIB: ácido indol-3-butírico

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio mostraron evidencias de que es factible la formación y el crecimiento de brotes a partir de segmentos nodales obtenidos de embriones cigóticos en *S. toromiro*. Estudios previos en esta especie (Jordan *et al.*, 2001) y en *Sophora alopecuroides* (Tsolmon *et al.*, 2019) indicaron que la presencia de citoquininas, BA (Benciladenina), en medio de cultivo MS generaba alto número de brotes. En el presente trabajo, la adición de BAP tanto en

medio de cultivo MS como en WPM, no exhibió diferencias respecto al uso de auxinas o incluso cuando no se utilizaron RCV, lo que sugiere que la formación y crecimiento de brotes se pueden lograr en esta especie a partir del tipo de explante inicial usado. Estos resultados están en concordancia con estudios previos en otras especies del género *Sophora*, donde en el medio de cultivo MS con la adición de BAP o 2iP se formaron yemas adventicias en explantes de *Sophora tonkinensis* (Jana *et al.*, 2013; Wei *et al.*, 2018).

Tabla 3. Efecto de dos medios de cultivo y concentración de reguladores de crecimiento sobre el enraizamiento y longitud de raíz principal *in vitro* en *Sophora toromiro*.

MCB	RCV	(mg l ⁻¹)	Enraizamiento (%)	Longitud raíz (cm)
MS	AIB	0.0	12.0 c	1.0 dc
		0.1	30.0 b	7.0 a
		0.5	0.0 d	0.0 d
	AIA	0.0	0.0 d	0.0 d
		0.1	0.0 d	0.0 d
		0.5	0.0 d	0.0 d
	ANA	0.0	11.0 c	5.0 b
		0.1	10.0 c	1.3 dc
		0.5	42.1 a	2.0 c
WPM	AIB	0.0	0.0 d	0.0 d
		0.1	0.0 d	0.0 d
		0.5	30.1 b	2.5 c
	AIA	0.0	0.0 d	0.0 d
		0.1	0.0 d	0.0 d
		0.5	10.0 c	1.5 dc
	ANA	0.0	0.0 d	0.0 d
		0.1	0.0 d	0.0 d
		0.5	0.0d	0.0 d
e.e.m		1.76	0.27	
MCB		***	***	
RCV		***	***	
MCV x RCV		***	***	

Los datos están expresados como medias de tres repeticiones. ns: no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey, $p < 0.05$). e.e.m: error estándar de la media. MCB: Medio de cultivo basal, RCV: Reguladores de crecimiento vegetal, ANA: ácido α -naftalenacético, BAP: 6-N-Bencilaminopurina, AIA: ácido indol-3-acético, AIB: ácido indol-3-butírico

La formación de brotes en segmentos nodales en *S. toromiro* mejoró sustancialmente comparado con los informes previos donde se usaron embriones cigóticos como fuente inicial de explantes (Jordan *et al.*, 2001), incluso fue superior con respecto a explantes de segmentos nodales cultivados en medio de cultivo NN + ANA o BA (Iturriaga *et al.*, 1994). Profundizar en estos aspectos en estudios posteriores permitirá optimizar la propagación *in vitro* de esta importante especie vegetal.

ANA y AIB son auxinas que se han utilizado ampliamente para la inducción de raíces en muchas especies de plantas (Bermúdez-Carballoso *et al.*, 2019; Mançano *et al.*, 2019), incluyendo fabáceas leñosas como *Acacia auriculiformi* (Yadav *et al.*, 2016) y *Senegalia nigrescens* (Bodede *et al.*, 2018). De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, también son aptas para generar raíces en explantes de *S. toromiro*. Los resultados mostraron avances en la formación de brotes y raíces en *S. toromiro*,

particularmente con incremento en el porcentaje de enraizamiento, respecto de estudios previos, en los cuales se logró entre un 10 y 20% (Iturriaga *et al.*, 1994; Jordan *et al.*, 2001).

En *S. toromiro*, Iturriaga *et al.* (1994) informaron que la formación de raíces se logró (10%) al cultivar segmentos nodales en medio de cultivo NN + ANA y BAP; por otro lado, Jordan *et al.* (2001), refirieron que el enraizamiento se logró en unos pocos explantes crecidos en agua destilada + ANA y BAP, e indicaron dificultades para la formación de raíces. Los resultados de la presente investigación, mostraron evidencias de que es factible usar el medio de cultivo MS para la formación de brotes, y con la adición de ANA, mejora el enraizamiento, en contraste con los estudios anteriores. Sin embargo, se evidencia que la formación de raíces es una etapa crítica para la regeneración *in vitro* de esta especie, y sugiere que es necesario mayor investigación para mejorar la fase de formación y crecimiento de raíces.

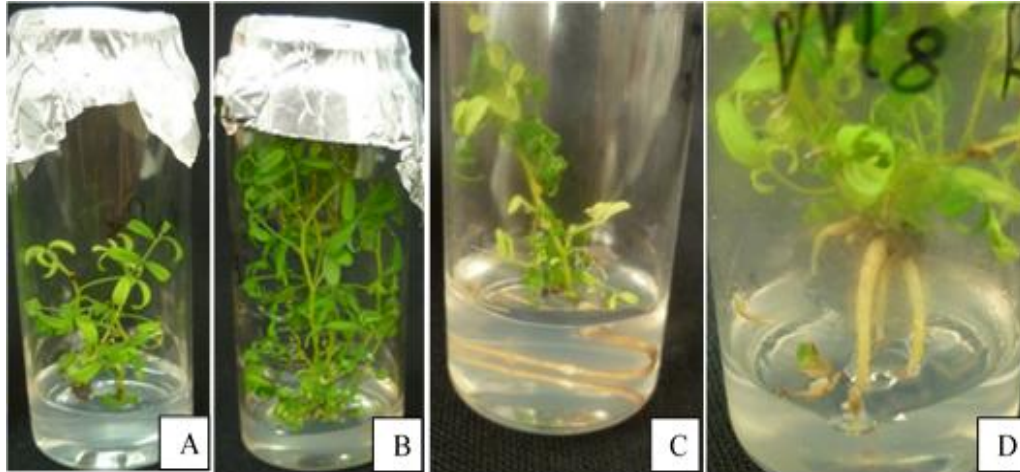


Figura 1. Explantes obtenidos *in vitro* a partir de segmentos nodales de *Sophora toromiro*. Brotes desarrollados *in vitro* después de 60 días en medio de cultivo (A) WPM + 0.1 mg l⁻¹ de AIB y (B) MS + 0.5 mg l⁻¹ de AIB. Planta enraizada obtenida de brotes de tallo cultivados *in vitro* después de 60 días de cultivo en medio (C) MS + 0.1 mg l⁻¹ de AIB, y (D) MS + 0.5 mg l⁻¹ de ANA.

CONCLUSIONES

Explantes de segmentos nodales de *Sophora toromiro* tienen un potencial para la formación de brotes *in vitro* cuando son cultivados en medio de cultivo MS o WPM incluso sin la adición de reguladores de crecimiento. La inducción de raíces se puede conseguir en medio de cultivo MS con la adición de ANA, sin embargo, esta fase debe ser mejorada para asegurar una eficiente regeneración de plantas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen por la asistencia técnica a Judith Carrasco y Susana Terán del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. Esta investigación fue financiada por el Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Universidad Austral de Chile. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos, la decisión de publicar o la preparación del manuscrito.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflicto de intereses

Contribución de los autores

Conceptualización SCV y PSF, Adquisición de fondos PSF, Investigación SCV, MLMM y CAMU, Supervisión PSF, Escritura-Primera redacción

SCV, MLMM, CAMU y EIVS, Escritura-Revisión y Edición SCV, MLMM, y EIVS

REFERENCIAS

Alden B, Zizka G (1989) Der Toromiro (*Sophora toromiro*) eine ausgestorbene Pflanze wird wiederentdeckt. Natur und Museum 119(5): 145-152

Aly SH, Elissawy AM, Eldahshan OA, Elshanawany MA, Efferth T, Singab ANB (2019) The pharmacology of the genus *Sophora* (*Fabaceae*): An updated review. Phytomedicine 64: 153070; doi: 10.1016/j.phymed.2019.153070

Bermúdez-Caraballosa I, Rodríguez M, Reyes M, Jiménez A (2019) Efecto del uso combinado de dos citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas adventicias de banano cv. 'Gros Michel' (*Musa AAA*). Biotecnología Vegetal 19(2): 139-146

Bodede O, Shaik S, Moodley R (2018) Establishment of seed germination and micropropagation protocols for *Senegalia nigrescens*, a potential anti-virulent species. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science 68(7): 649-655; doi: 10.1080/09064710.2018.1455892

Espejo J, Rodríguez R (2013) Antecedentes históricos en la descripción y del uso de

- Sophora toromiro* (Phil.) Skotts. (*Fabaceae*) en su hábitat natural: 1770-1948. *Gayana Botánica* 70(2): 384-390; doi: 10.4067/S0717-66432013000200015
- Espejo J, Baeza C, Loureiro J, Santos C, Boshier D, Ruiz E (2016) Exploratory karyological and genome size studies in Chilean *Sophora* species. *New Zealand Journal of Botany* 54(3): 311-322; doi: 10.1080/0028825X.2016.1144622
- Iturriaga L, Jordan M, Roveraro C, Goreux A (1994) *In vitro* culture of *Sophora toromiro* (Papilionaceae), an endangered species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 37(2): 201-204; doi: 10.1007/BF00043617
- Jana S, Sivanesan I, Jeong BR (2013) Effect of cytokinins on *in vitro* multiplication of *Sophora tonkinensis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(7): 549-553; doi: 10.1016/S2221-1691(13)60111-2
- Jordan M, Larrain M, Tapia A, Roveraro C (2001) *In vitro* regeneration of *Sophora toromiro* from seedling explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 66(2): 89-95; doi: 10.1023/A:1010653418936
- Lloyd G, McCown B (1980) Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip cultures. *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society* 30: 421-427
- Mançano AP, de Oliveira-Soares B, de Oliveira-Garcia R, Atalla E, Gagliardi RF (2019) Estabilidad genética entre clones de berenjena *in vitro* inducidos por diferentes reguladores de crecimiento de plantas. *Biotecnología Vegetal* 19(2): 75-83
- Maunder M (1997) Conservation of the extinct Toromiro tree, *Sophora toromiro*. *Curtis's Botanical Magazine* 14(4): 226-231; doi: 10.1111/1467-8748.00113
- Maunder M, Culham A, Bordeu A, Allainguillaume J, Wilkinson M (1999) Genetic diversity and pedigree for *Sophora toromiro* (Leguminosae): a tree extinct in the wild. *Molecular Ecology* 8(5): 725-738; doi: 10.1046/j.1365-294X.1999.00609.x
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 53-58; doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Peña R, Iturriaga L, Montenegro G, Cassels B (2000) Phylogenetic and biogeographic aspects of *Sophora* Sect. *Edwardsia* (*Papilionaceae*). *Pacific Science* 54(2): 159-167
- Rayas A, López J, Medero VR, Basail M, Santos A, Gutiérrez Y (2019) Conservación *in vitro* de cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam por crecimiento mínimo con el uso de manitol. *Biotecnología Vegetal* 19(1): 43-51
- Rosati AOG, De la Cruz-Chacón Y (2019) Multiplicación *in vitro* de *Macleania rupestris* (Kunth) AC Sm. (*Ericaceae*). *Biotecnología Vegetal* 19(4): 265-275
- Tsolmon M, Bayarmaa B, Yu O (2019) Study of anatomical feature of *in vitro* and *ex vitro* regeneration plant of *Sophora alopecuroides* L. *Proceedings of the Mongolian Academy of Sciences* 59(2): 32-40; doi: 10.5564/pmas.v59i2.1217
- Wei KH, Xu JP, Li LX, Cai JY, Miao JH, Li MH (2018) *In vitro* induction and generation of tetraploid plants of *Sophora tonkinensis* Gapnep. *Pharmacognosy magazine* 14(54): 149; doi: 10.4103/pm.pm_170_17
- Yadav R, Yadav N, Kumar S (2016) An Improved Micropropagation and Assessment of Genetic Fidelity in Multipurpose Medicinal Tree, *Acacia auriculiformis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Science* 86(4): 921-929; doi: 10.1007/s40011-015-0550-9

Recibido: 25-04-2020

Aceptado: 22-05-2020

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.