



UNIVERSIDAD NACIONAL

PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BOTÁNICA

TESIS



Propagación clonal *in vitro* de *Peperomia fraseri* C.DC. Lambayeque

Presentada para optar el Título Profesional de Licenciado en Ciencias
Biológicas - Botánica

Autor:

Bravo Cueva Adriel Otoniel

Asesora:

Rojas Idrogo Consuelo

Lambayeque, Perú

19 de enero de 2026



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ
GALLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
BOTÁNICA**

TESIS

Propagación clonal *in vitro* de *Peperomia fraseri* C.DC. Lambayeque

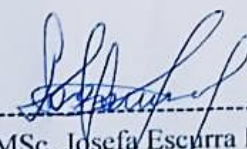
Aprobado por:



Dr. Cesar Alfredo Vargas Rosado
Presidente



Dr. Cesar Estela Campos
Secretario



MSc. Josefa Escarra Puicón
Vocal



Dra. Consuelo Rojas Idrogo
Asesor

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Dra. Consuelo Rojas Idrogo; usuario revisor del informe de tesis titulado: **Propagación clonal *in vitro* de *Peperomia fraseri* C.DC. Lambayeque**, cuyo autor es el Bach. **Adriel Otoniel Bravo Cueva** con **DNI: 47204112**; declaro que la evaluación realizada por el Programa informático, ha arrojado un porcentaje de similitud de **9%**, verificable en el Resumen de Reporte automatizado de similitudes que se acompaña.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas dentro del porcentaje de similitud permitido no constituyen plagio y que el documento cumple con la integridad científica y con las normas para el uso de citas y referencias establecida en los protocolos respectivos.

Se cumple con adjuntar el Recibo Digital a efectos de la trazabilidad respectiva del proceso.

Lambayeque, 2 de diciembre del 2025



FIRMA
CONSUELO ROJAS IDROGO
DNI:16583112
ASESORA

Propagación clonal in vitro de Peperomia fraseri C.DC. Lambayeque

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%	8%	3%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Trabajo del estudiante	1%
2	www.dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
4	eprints.uanl.mx Fuente de Internet	1%
5	Vicente Sanjose, Eduardo Vidal-Abarca, Olga M. Padilla. "A Connectionist Extension to Kintsch's Construction-Integration Model", Discourse Processes, 2006 Publicación	<1%
6	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	<1%
7	Submitted to Jawaharlal Nehru Technological University Trabajo del estudiante	<1%
8	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
9	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1%
10	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	



FIRMA
CONSUELO ROJAS IDROGO
DNI:16583112
ASESORA

		<1 %
11	Fabiola Ocampo, Víctor Manuel Núñez. "Propagación in vitro de Psidium guajaba mediante organogénesis directa a partir de segmentos nodales", Ciencia & Tecnología Agropecuaria, 2007 Publicación	<1 %
12	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	repositorio.upn.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	1propagacioncolonialin-vitro.blogspot.com Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	IX Congreso Colombiano De Botanica. "Memorias IX Congreso Colombiano de Botánica", Ciencia en Desarrollo, 2017 Publicación	<1 %
17	doi.org Fuente de Internet	<1 %
18	red.uao.edu.co Fuente de Internet	<1 %
19	Submitted to Kodaikanal International School Trabajo del estudiante	<1 %
20	doku.pub Fuente de Internet	<1 %
21	dspace.unica.cu Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	

FIRMA
CONSUELO ROJAS IDROGO
DNI:16583112
ASESORA

<1 %

23

www.slideshare.net
Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo



FIRMA
CONSUELO ROJAS IDROGO
DNI:16583112
ASESORA

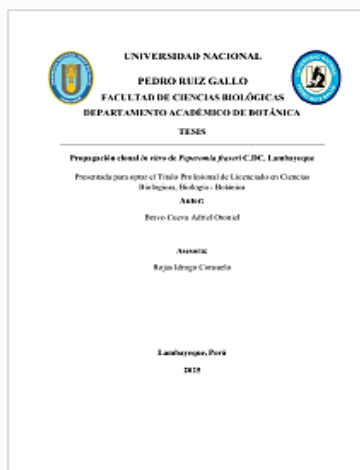


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Adriel Bravo
Título del ejercicio: Quick Submit
Título de la entrega: Propagación clonal in vitro de Peperomia fraseri C.DC. Lambay...
Nombre del archivo: ORME_FINAL_DE_TESIS_-_Propagacion-clonal-Peperomia_fraseri...
Tamaño del archivo: 8.05M
Total páginas: 46
Total de palabras: 9,179
Total de caracteres: 52,022
Fecha de entrega: 02-dic-2025 07:59p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2833756538



Derechos de autor 2025 Turnitin. Todos los derechos reservados.

FIRMA
CONSUELO ROJAS IDROGO
DNI:16583112
ASESORA



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 12-2026 / FCCBB-UI

Siendo las 12:00 horas del día 19 de enero de 2026, en la Sala de Sesiones - Sustentaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas se reunieron los miembros del Jurado designado mediante **Resolución N° 126-2025-FCCBB/D de fecha 03 de abril de 2025 y Resolución de aprobación de proyecto N° 138-2025-FCCBB/D, de fecha 07 de abril de 2025**, conformado por:

Dr. César Alfredo Vargas Rosado-Presidente

Dr. César Estela Campos-Secretario

Mg. Josefa Ecurra Puicón-Vocal

Dra. Consuelo Rojas Idrogo-Asesora

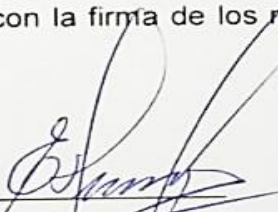
con la finalidad de evaluar la sustentación de tesis titulada: **Propagación clonal *in vitro* de *Peperomia fraseri* C.DC. Lambayeque, a cargo del Bachiller ADRIEL OTONIEL BRAVO CUEVA.**

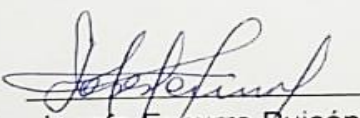
Sustentación autorizada mediante **RESOLUCIÓN N° 020-2026-FCCBB-D, de fecha 14 de enero de 2026** la misma que tuvo una duración de 30 minutos y luego de absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, obteniendo 18 puntos que equivale al calificativo de Muy Bueno.

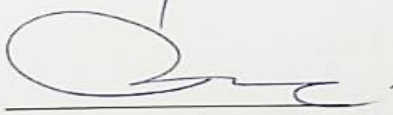
Por lo que el sustentante queda **APTO** para obtener el **título profesional de Licenciado en Ciencias Biológicas-Botánica** de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 13:12. horas se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.


Dr. César Alfredo Vargas Rosado
Presidente


Dr. César Estela Campos
Secretario


Mg. Josefa Ecurra Puicón
Vocal


Dra. Consuelo Rojas Idrogo
Asesora

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Lauriano Bravo Santisteban y Elita Cueva Marquina por el apoyo emocional y por la confianza que depositaron en mí. A mis profesores por brindarme su conocimiento y resolver todas mis dudas. A mi asesor Dra. Consuelo Rojas Idrogo por el tiempo que dedico en guiarme y asesorarme durante la ejecución de toda la tesis. Y también a Dios por darme salud en toda esta carrera,

AGRADECIMIENTO

A Dios porque me dio las fuerzas para seguir adelante, por darme buena salud y por cada día de vida que me da.

A mis padres: Elita Rosario Cueva Marquina y Lauriano Bravo Santisteban, por sus consejos y porque siempre confiaron en mí, por las palabras de motivación que siempre me dan y a toda mi familia que también me apoyo en esta parte de mi vida.

A mis profesores por el conocimiento transmitido, por su dedicación y paciencia. También agradezco a la Dra. Consuelo Rojas Idrogo por el apoyo que me dio durante todo el proceso de la tesis y por despejar todas mis dudas.

También quiero agradecer a la UNPRG, en especial al laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la facultad de biología, por brindarme sus instalaciones y permitirme usar sus equipos y materiales para la realización de mi Tesis.

ÍNDICE GENERAL

HOJA DE FIRMAS	ii
CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD	iii
REPORTE AUTOMATIZADO DE SIMILITUDES (INFORME DE ORIGINALIDAD) ..	iv
RECIBO DIGITAL	vii
ACTA DE SUSTENTACIÓN	viii
DEDICATORIA	ix
AGRADECIMIENTO	x
ÍNDICE GENERAL	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRAC	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. DISEÑO TEÓRICO	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Bases teóricas	7
1.3. Bases conceptuales	10
CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO	12
2.1. Diseño de contrastación de hipótesis/procedimiento a seguir en la investigación	12
2.2. Población y muestra	12
2.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos	12
CAPITULO III. RESULTADOS	19
CAPITULO IV. DISCUSIONES	26
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Constituyentes del medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962)	15
Tabla 2:	Tratamientos utilizados en el cultivo in vitro de <i>Peperomia fraseri</i> , que incluyen cuatro tipos de reguladores de crecimiento	16
Tabla 3:	Medio de cultivo para conservación in vitro de <i>P. fraseri</i>	18
Tabla 4:	Contaminación y oxidación de tejidos in vitro de <i>P. fraseri</i>	20
Tabla 5:	Reguladores de crecimiento y respuestas de hoja y peciolo de <i>P. fraseri</i>	22
Tabla 6:	Respuesta de las plántulas de <i>P. fraseri</i> a la conservación in vitro, luego de 60 días	24
Tabla 7:	Respuesta de las plántulas de <i>P. fraseri</i> a la conservación in vitro, luego de 120 días en cultivo	24
Tabla 8:	Respuesta de las plántulas de <i>P. fraseri</i> a la conservación in vitro, luego de 180 días en cultivo	24

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1:	<i>Peperomia fraseri</i>	14
FIGURA 2:	Cultivo in vitro de explantes de <i>Peperomia fraseri</i>	17
FIGURA 3:	Tejidos de <i>Peperomia fraserii in vitro</i>	20
FIGURA 4:	Diferenciación de órganos in vitro de <i>Peperomia fraseri</i>	21
FIGURA 5:	Propagación de brotes	23
FIGURA 6:	Plántulas de <i>P. fraseri</i> en medio de cultivo con sorbitol 1%	25
FIGURA 7:	Planta de <i>P. fraseri</i> regenerada in vitro y transferida a sustrato	26

RESUMEN

Las especies del género *Peperomia* perteneciente a la familia Piperácea, habitan ambientes de bosque seco como de bosques montanos y tropicales, actualmente sus hábitats son impactados por los efectos del calentamiento global y por la actividad antrópica; muchas de las especies son de importancia medicinal, ya que producen metabolitos con potencial farmacológico, además de ser usadas en medicina folclórica tradicional y desde luego como ornamentales en su mayoría. El objetivo de esta investigación fue propagar *in vitro* a *Peperomia fraseri*, para lo cual se han utilizado fragmentos de tejidos de hoja y peciolo, cultivados en medio de MS suplementado con diferentes formulaciones de AIA, ANA (ambos a 0.02, 0.2 y 0.5mg/L), BAP (0.02, 0.2, 0.5 y 1.0mg/L) y AG₃ (0.02mg/L), obteniéndose como resultado, la diferenciación de brotes luego de 45 días en cultivo, la diferenciación de raíces presentó mayor frecuencia que los brotes, presentando como problemas del establecimiento del cultivo *in vitro*, la contaminación bacteriana (28%), oxidación parcial y total de los tejidos (24% y 46%) y la vitrificación, concluyendo que la formulación MS suplementado con ANA +AG₃ (0.02 mg/L) permitió el desarrollo armónico y la inducción de múltiples brotes en plantas transferidas a medio fresco; adicionalmente, la presencia de sorbitol (1,2 y 3%), permitió mantener en conservación *in vitro* con reducción de crecimiento a tasas mínimas por seis meses a más, las plántulas transferidas a sustrato presentaron 100% de sobrevivencia.

Palabras clave: *Peperomia fraseri*, propagación clonal

ABSTRACT

Species of the genus *Peperomia* belonging to the Piperaceae family inhabit dry forest environments as well as montane and tropical forests; currently their habitats are impacted by the effects of global warming and by anthropogenic activity; many of the species are of medicinal importance, since they produce metabolites with pharmacological potential, in addition to being used in traditional folk medicine and of course as ornamentals for the most part. The objective of this research was to propagate *Peperomia fraseri* in vitro, for which leaf and petiole tissue fragments were used, cultivated in MS medium supplemented with different formulations of IAA, NAA (both at 0.02, 0.2 and 0.5mg/L), BAP (0.02, 0.2, 0.5 and 1.0mg/L) and GA3 (0.02mg/L), obtaining as a result, the differentiation of shoots after 45 days in culture, root differentiation was more frequent than shoots, presenting as problems in the establishment of the in vitro culture, bacterial contamination (28%), partial and total oxidation of the tissues (24% and 46%) and vitrification, concluding that the MS formulation supplemented with NAA + GA3 (0.02 mg/L) allowed the harmonious development and induction of multiple shoots in plants transferred to fresh medium; Additionally, the presence of sorbitol (1, 2 and 3%) allowed for in vitro conservation with reduced growth rates to minimum rates for six months or more; the seedlings transferred to substrate showed 100% survival.

Keywords: *Peperomia fraseri*, clonal propagation

INTRODUCCIÓN

La familia Piperáceas se caracteriza por ser un grupo vegetal de mucha importancia medicinal, especialmente los componentes de dos géneros *Piper* y *Peperomia*, algunos de los cuales son conocidos como “maticos” y “congonas”. Entre las *Peperomias*, se destaca *Peperomia inaequalifolia* y *Peperomia renzopalmae* “yerba de la plata”, muy utilizadas en medicina tradicional y folclórica. Desde el punto de vista químico, las especies de *Peperomias* son productoras de metabolitos con actividad farmacológica comprobada ya que contienen sustancias, “citotóxicas, antitumorales y antiinflamatorias”, entre otras que aún no han sido exploradas en su verdadera dimensión (Pino et al., 2021; Ho et al., 2022; Kanedi, 2022; Silalahi, 2022).

Entre las especies más estudiadas a nivel fitoquímico se encuentra *P. tetraphylla* la cual es productora de amidas y lignanos bioactivos (Li et al., 2007; Li et al., 2010), *P. obtusifolia* con presencia de flavonoides (Mota et al., 2011) y otras que datan de años anteriores; estos compuestos químicos, presentan aplicación farmacológica como el acetato de etilo de *P. tetraphylla* con actividad comprobada en inducción de apoptosis celular en linfoma (Yu et al., 2016) y aceites esenciales de *P. pereskifolia*, *P. glabelata* y *P. tetraphylla* inhibidores de la actividad monoamino oxidasa (Klein et al., 2016). Además, recientemente se comprobó la actividad antihelmíntica, antifúngica, antibacteriana y antiproliferativa (Ware et al., 2022).

Las especies del género *Peperomia*, en el Perú y la región se encuentran distribuidas en ambientes vulnerables que van desde los bosques estacionalmente secos hasta los bosques montanos. Como consecuencia del cambio climático y la actividad antrópica, estos ambientes están siendo seriamente impactados, trayendo como consecuencia la pérdida del acervo genético de *Peperomia*. Son muy escasos los trabajos realizados sobre propagación *in vitro* de las especies de este género, más aun utilizando técnicas desarrolladas por la biotecnología vegetal (Pino et al., 2021; Rojas et al., 2020)

Las especies de la familia Piperácea generalmente se propagan mediante semillas, las mismas que se caracterizan por presentar un pequeño embrión y un reducido perispermo,

necesitando condiciones adecuadas para germinar, es por ese motivo que se las encuentra distribuidas de manera espaciada con escasos individuos y en algunos casos restringidos a determinadas condiciones de humedad; estas condiciones, sumadas al efecto del calentamiento global y la actividad antrópica a las que se encuentra expuestas, hace que se las considere especies vulnerables a la pérdida de su diversidad (Sen & Ganesan, 2021).

En el caso específico de *Peperomia*, se observan varias adaptaciones a la dispersión de sus semillas, así se tiene que los frutos pueden presentar una epidermis glandulosa que segrega sustancias pegajosas, que les sirve como adherentes a la superficie de sus dispersores (epizoocoria), siendo más frecuente para el caso de las especies epífitas, hecho que ha permitido que sean estas especies las que tengan mayor rango de distribución, alcanzando a poblar la copa de los árboles (Frenzke et al., 2016).

Entre los pocos trabajos realizados de propagación *in vitro* se encuentra varias especies, donde sobresalieron *P. albovitata* y *P. emarginulata*, observándose que las respuestas obedecen fundamentalmente al hábito y hábitat donde se desarrollan naturalmente estas especies, de modo que algunas pueden responder únicamente en un medio de cultivo sólo con sales minerales, en tanto otras necesitan de un gradiente de concentraciones y tipo diferente de reguladores de crecimiento, además de la liberación de fenoles al medio de cultivo, que en algunos casos resulta tóxico para el propio tejido cultivado (Rojas 2021).

En el caso de *P. fraseri*, especie que generalmente se confunde con *P. residiflora*, ya que comparten la distribución altitudinal, sin embargo; los ambientes donde se desarrollan son opuestos, mientras *P. residiflora* se puede desarrollar en ambientes estacionalmente secos, *P. fraseri* necesita de permanente humedad. Esta condición ambiental cada vez más impactada para su subsistencia ha motivado el desarrollo del presente trabajo de investigación. Esta especie presenta dificultades para su propagación mediante semillas y se observa que es factible su propagación vegetativa, ya que los tallos maduros pueden tenderse en la superficie terrestre y generar nuevos individuos.

Por otro lado la conservación de las especies *ex situ* ha resultado ser todo un reto para aquellas especies que están siendo permanentemente amenazados sus ecosistemas frágiles como es el caso de las peperomias; otra aplicación importante de las técnicas de cultivos *in vitro*, también ha permitido desarrollar protocolos de conservación, siendo la reducción de crecimiento a tasas mínimas el más utilizado por el costo, disponibilidad y accesibilidad, este sistema es muy utilizado por muchas instituciones dedicadas a la conservación de germoplasma de plantas alimenticias en el mundo (Oseni et al., 2018)

Esta alternativa de propagación *in vitro* para *P. fraseri*, posibilita el éxito a nivel de propagación clonal, hecho que permite no sólo obtener numerosos individuos, si no también mantener las características genéticas de la especie, como se ha demostrado en numerosas especies de importancia alimenticia, permitiendo además la conservación de su acervo genético *in vitro* (Delgado et al., 2012) y la posterior utilización para estudios fitoquímicos comparativos con las plantas de campo y su potencial bioactivo.

CAPITULO I. DISEÑO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Varias especies del género *Pepromia* son propagadas de manera vegetativa, principalmente con fines comerciales y debido a los cuidados que se deben tener en el proceso y a la lentitud de las respuestas del material utilizado, el valor es relativamente alto por planta en el mercado, como sucede con especies tropicales; sin embargo, utilizando las técnicas desarrolladas por la Biotecnología Vegetal como alternativa, los costos y el tiempo de producción de plantas pueden resultar muy beneficiosos, aun cuando son, muy escasos los trabajos (Ahmed et al., 2021).

Ahmed et al. (2021), en Malasia trabajaron con *P. pellucida* (L) en el establecimiento de un protocolo eficaz para la inducción de brotes, regeneración y transformación *in vitro*. Utilizando entrenudos cultivados en medio MS suplementado con Kinetina y Benciladenina (BA). Obteniendo sólo seis brotes por explante con Kin 0.5mg/L, diez brotes por explante con BA 1.5mg/L y Kin 1.5mg/L. La longitud de los brotes aumento en 0.8cm por explante en la combinación de BA (1.0mg/L) y Kin (3.0mg/L) y 0.7cm por explante con Kin (0.5mg/L). Para la inducción de raíces adventicias utilizaron medio MS con diferentes concentraciones de Acido Indol Butirico (IBA) y Acido Indol Acético (AIA), teniendo éxito en un 100% y supervivencia del 90% con el medio MS suplementado con IBA. Las plantas enraizadas se aclimataron exitosamente.

Rojas (2021), en Perú, Utilizando 18 especies de *Peperomia* procedentes tanto de ambientes húmedos como de ambientes estacionalmente secos), con el fin de determinar cómo influye el medio de cultivo en la propagación *in vitro* de algunas especies del género *Peperomia*, usando medio MS suplementado con los reguladores ANA, AIA, AG3, BAP y KIN en diferentes concentraciones, observó en primer lugar un alto grado de contaminación y oxidación de los tejidos, por otro lado las especies de los ambientes estacionalmente secos no presentaron

capacidad de respuesta para formar órganos, en cambio los de ambientes húmedos tuvieron mejores respuestas. Siendo el medio MS suplementado con AIA y AG3 (0.02mg/L) el mejor para la propagación *in vitro* de la mayoría de las especies de *Peperomias* y concluye que las condiciones ambientales en las que se desarrollan estas plantas determinan también su respuesta a las condiciones *in vitro*, tanto en los aspectos de contaminación, oxidación y regeneración de brotes.

Rojas et al. (2020) en su trabajo realizado en *Peperomia albobittata* y *P. galioides*, con el fin de propagarlas en condiciones *in vitro*, utilizaron fragmentos de peciolo y hoja en *P. albobittata* y hojas y nudos en *P. galioides*, como medio de cultivo las sales MS suplementado con AIA (0,02), ANA (0,02), BAP (0,05) y AG₃ (0,02), obteniendo como resultados la inducción de organogénesis somática directa y el mayor porcentaje de plantas por explante en presencia de ANA combinado con AG₃; los tejidos con mejor respuesta en peciolo y hoja se presentó en *P. albobittata* y en *P. galioides* sólo los nudos generaron nuevas plantas, mostrando recalcitrancia a la organogénesis sus tejidos foliares.

Al-Ahmad (2015), en su trabajo realizado en Malasia, usando tejidos de hojas de *Peperomia obtusifolia* y mediante organogénesis directa obtuvieron brotes *in vitro*. Cultivando explantes de hojas en medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con Bencilaminopurina (BAP) y Kinetina, observaron que el BAP fue más eficiente obteniéndose la diferenciación de 16 a 20 brotes por explante frente al promedio de 1.5 brotes por explante en presencia de Kinetina. En la respuesta a la diferenciación de raíces en presencia de AIA, AIB y ANA, observaron que ANA indujo mejor respuesta con 30 raíces en promedio, mientras que AIB sólo indujo de 22 a 23 raíces en promedio.

El-Nagar y Osman (2014) realizaron estudios en *Peperomia obtusifolia*, en la universidad de alejandria - Egipto, con el fin de establecer un protocolo para su propagación *in vitro*, para lo cual compararon dos explantes para la proliferación de brotes y organogénesis.

Usando segmentos de tallos con un solo nudo y segmentos de hojas, cultivados en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) suplementado con kinetina (0, 2.5, 5 y 10mg/L) y Acido Naftaleo Acético (0, 1, 2.5 y 5mg/L). los explantes de hojas no sobrevivieron, en cambio los explantes de nudos formaron brotes y el número se fue incrementando según aumentaba la concentración de Kinetina, hasta la concentración más alta (10mg/L), para luego disminuir; sin embargo, la concentración de ANA no tuvo efecto aparente en los explantes. El medio de cultivo que dio un porcentaje más alto de brotes, peso fresco, área foliar total, clorofila total y peso del callo fue el que contenía Kinetina 5mg/L y ANA a 1mg/L.

Delgado et al. (2012), trabajando con especies del género *Piper* con el objetivo de desarrollar un sistema de propagación y conservación *in vitro*, utilizando yemas, nudos, entrenudos, hojas y peciolo, a partir de plantas germinadas *in vitro* y utilizando medios de cultivo constituidos por sales MS y suplementado con diferentes concentraciones de auxinas, citocininas y giberelinas; Obtuvieron entre un 20 y 99% de éxito en la germinación *in vitro* de semillas, la micropropagación fue posible en el medio suplementado con AIA (0.02mg/L), AG3 (0.02mg/L) y Sacarosa (3%), los explantes con la mejor respuesta a la organogénesis directa a los 60 días fueron hojas seguidos de los peciolo, los entrenudos respondieron en menor medida.

Karamian, R. & Ghasemlou, F. (2014), experimentaron con *Verbascum sinuatum* L. una especie de la familia Scrophulariaceae y sus miembros se utilizan como hierbas medicinales en la medicina tradicional mundial, lograron la regeneración de plantas mediante organogénesis y embriogénesis somática, para lo cual utilizaron embriones maduros, indujeron callos embriogénicos en medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con diferentes concentraciones de bencil adenina (BA), ácido alfa-naftalen acético (ANA), Kinetina (KIN) y Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D); obteniendo callos embrionarios cremosos y también callos friables; la regeneración de plantas y multiplicación de brotes fue posible en medio MS suplementado con BA o KIN (1mg L⁻¹).

La mayoría de trabajos están enfocados en los aspectos fitoquímicos debido a la importancia que presentan estas especies como plantas medicinales utilizadas por comunidades de Filipinas, India, Nigeria, Brasil y otras; siendo una de las más importantes *Peperomia pellucida*, especie que sintetizaría sustancias químicas con propiedad analgésica, antipirética, antiinflamatoria, antidiabética, antigota y antihipertensiva (Ahmad et al, 2023) gracias a la síntesis de pellucidin y muchas otras sustancias químicas (De Moraes & Kato. 2021). De igual manera *Peperomia blanda* con una comprobada actividad antitripanosomida, (Gaspareto et al., 2008; Bialangi et al. 2016). El Perú y la región Lambayeque, posee muchas especies del género *Peperomia*, que aún esperan investigación para descubrir las bondades que presentan.

1.2 Bases teóricas

1.2.1. Cultivo *in vitro*:

La biotecnología vegetal ha desarrollado una serie de técnicas aplicables a la obtención masiva de plantas, conservación y transferencia de germoplasma y mejoramiento genético, constituyendo herramientas importantes para disminuir el tiempo considerablemente en la obtención de resultados; el cultivo *in vitro*, se fundamenta en la asepsia y la utilización de tejido como meristemas, yemas, nudos, entrenudos, fragmentos de hojas, raíces, protoplastos o microsporas contenidas en las anteras, basados en la totipotencia celular vegetal para generar individuos completos en un ambiente de vidrio, ya sea utilizando medios de cultivo semisólidos o líquidos (López, 2021; Chávez et al., 2018).

1.2.2. Propagación clonal *in vitro*:

La propagación clonal *in vitro* de especies vegetales, constituye una de las técnicas de la biotecnología de mayor éxito en la obtención de plantas de manera masiva y rápida, convirtiéndose en una herramienta importante en la agricultura, sus ventajas frente a los métodos convencionales son notables, incluyendo una alta tasa de reproducción al generar

material vegetal libre de patógenos, especialmente virus, durante todo el año y es crucial para la conservación del germoplasma en condiciones controladas. (Mendoza et al., 2018; Valderrama et al., 2018).

1.2.3. Tejidos vegetales usados en la propagación *in vitro*:

La selección de tejidos depende fundamentalmente del grado evolutivo de los vegetales y de la memoria genética que mantienen a través de los millones de años, para propagar material vegetal en condiciones *in vitro*, se debe emplear tejidos que se mantengan a lo largo del proceso genéticamente estables, los tejidos que cumplen con esta condición son principalmente los meristemas apicales en primer lugar, las yemas apicales, el tercio superior de las plantas y la parte de la nervadura central de las hojas tiernas, estructuras que además mantienen la memoria genética desde hace millones de años cuando el tejido parenquimático conquistó la tierra desarrollando órganos, mostrando su totipotencia celular (Malabadi et al, 2025).

1.2.4. Medio de cultivo:

El medio de cultivo viene a ser el sustrato donde los tejidos reposan para expresar su potencial celular, estos son formulados dependiendo el objetivo de los trabajos de investigación, constan de sales minerales en cantidades adecuadas y necesarias para el desarrollo de plántulas *in vitro*, suplementados con vitaminas, carbohidratos y los reguladores de crecimiento donde se encuentran contempladas las hormonas vegetales y otras sustancias orgánicas que cumplen similar función (Romero et al., 2018).

Sobre los medios de cultivo y los reguladores de crecimiento, uno de los medios básicos más utilizados, es el conocido medio de Murashige y Skoog (1962), formulación de sales minerales que se ha convertido en el medio universal para la propagación y conservación *in vitro* de plantas herbáceas y la mayoría de leñosas. Como complemento, el uso de reguladores

de crecimiento entre los que figuran auxinas y citocininas y eventualmente giberelinas, juegan un papel preponderante, cuyo balance adecuado modulan las respuestas en las células vegetales dependiendo de la totipotencia, competencia y determinación celular, refiriéndose estos términos a la capacidad de las células diferenciadas, para dediferenciarse y seguir rutas distintas de rediferenciación hasta originar un nuevo individuo vegetal, donde los reguladores moleculares juegan un rol importante en la modulación y control transcripcional del destino celular de las células somáticas totipotentes (Portillo & Santacruz, 2004; Su et al.,2021: Malabadi et al., 2025).

1.2.5. El pH del medio de cultivo:

El pH es un factor crítico en los cultivos *in vitro*, ya que regula varios procesos bioquímicos, la solubilidad y disponibilidad de muchos elementos clave como el hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn) y cobre (Cu), disminuye cuando el pH es superior a 6.5, ya que a este nivel se producen precipitaciones por la reacción y formación de otros compuestos como los hidróxidos de estas sales, que son imposibles de ser asimilados y en el peor de los casos, pueden llegar a ser tóxicos para los tejidos, por eso es recomendable que el rango de pH se encuentre en 5.7 ± 0.1 (De Klerk et al., 2008, Pasqua et al., 2002).

1.2.6. Propagación *in vitro* en el género *Peperomia Ruiz & Pav.*:

En lo referente a la propagación clonal en el género *Peperomia*, en los escasos estudios publicados demuestran que las especies responden positivamente a la propagación clonal, en algunos casos mediante el enraizamiento de yemas y en otros mediante organogénesis somática directa, a partir de fregamientos de hoja y peciolo preferentemente, utilizando como medio basal las sales MS suplementado con vitaminas y diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento vegetal (Rojas et al., 2020).

1.3. Bases conceptuales

1.3.1. *Peperomia* Ruiz & Pav. (PIPERACEAE):

El género *Peperomia* es un género monofilético y contiene especies distribuida en ambientes tropicales y subtropicales, está muy diversificado en América, habitando desde el sur de estados unidos hasta argentina. Siendo las regiones andinas y amazónicas donde podemos encontrar más endemismos. Tienen estructuras florales reducidas y escasas sinapomorfias morfológicas entre subgéneros, por los que requiere estudios morfológicos y moleculares combinados. De las 2753 especies registradas 1411 se han aceptado (Samain et al., 2009; Vergara et al., 2017; Chalernpol et al., 2024).

1.3.2. *Peperomia fraseri* C.DC.:

Taxonomía:

Peperomia Fraseri, taxonómicamente se encuentra ubicada dentro del clado de las angiospermas basales o tempranas, en el clado de las Magnólidas, en el Orden Piperales, familia Piperácea (APG IV, 2016), en el género *Peperomia* Ruiz & Pavon y subgénero *Panicularia* Miq. (Frenzke et al., 2015).

Descripción de *Peperomia fraseri* C.DC.:

Planta herbácea, suculenta, ligeramente pubescente, viven entre las rocas donde se acumula la materia orgánica, pueden estar bajo sombra o parcialmente al sol. *Peperomia fraseri*, tiene una roseta basal con hojas color verde claro u oliva, suculentas, puberulentas, alternas y en espiral que nacen del ápice del tubérculo, lamina elíptica o ligeramente obovada, ápice redondeado, base subcordada, palmatinervia (2-4 nervios principales), borde entero con suaves ondulaciones en la parte distal y peciolo rojizo (Pino et al., 2021).

En su periodo de reproducción le crece un tallo (20-40cm de altura), color verde claro y rojizo, en la base y entrenudos, con hojas verticiladas en cada nudo (2-5) que se

caen después de la floración. Inflorescencias con una o varias panículas que nacen del nudo apical, la panícula tiene entre 20-40 flores insertadas de manera horizontal y dispuestas en espiral, las cuales maduran desde la base hacia el ápice, las brácteas de la flor son pequeñas y elípticas, el ovario es globular, dos estambres con anteras ovoides y el fruto es una drupa (Pino et al., 2021).

Distribución:

En los valles estacionalmente secos de los andes occidentales de Ecuador es más frecuente encontrar a *Peperomia fraseri*, habitando en alturas de 120-2100 m.s.n.m. (Provincias: “Loja, El Oro, Guayas, Chimborazo y Manabí”), en la parte norte del Perú se distribuye desde el sur de Tumbes y Piura (Amotape y la depresión de Huancabamba), hasta Lambayeque y la parte baja de Cajamarca, al parecer se puede encontrar hasta Zaña (Pino et al., 2021).

CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Diseño de contrastación de hipótesis/ Procedimiento a seguir en la investigación

El presente trabajo de investigación tuvo un enfoque cuantitativo experimental. La hipótesis se contrastó con el diseño experimental de estímulo creciente, ya que se utilizaron reguladores de crecimiento en diferentes concentraciones, dependiendo de cada fase del desarrollo del trabajo de investigación. El nivel fue exploratorio y descriptivo, puesto que se abordó el problema de una especie poco estudiada.

2.2 Población y muestra

2.2.1. Población:

La población estuvo constituida por los especímenes de *Peperomia faseri* existentes en el distrito la Florida-Cajamarca (UTM:17 708165mE 9242134mN, 1187 msnm).

2.2.2. Muestra:

La muestra estuvo constituida por tres especímenes de *Peperomia faseri* elegidos según sus características por conveniencia a partir de la población existente en el distrito la Florida-Cajamarca, los mismos que fueron donadores de tejidos para el trabajo de investigación.

2.3 Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.3.1. Técnica:

En el presente trabajo de investigación se utilizó como técnica la observación y el análisis de las respuestas de los tejidos de *P. fraseri* frente a los diferentes tratamientos que incluían ciertos tipos y concentraciones de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo.

2.3.2. Instrumento de recolección de datos:

Como instrumento de recolección de datos se utilizó una ficha de registro de datos y hojas de cálculo Excel, cámaras fotográficas y laptop, que permitieron registrar las imágenes con las respuestas por parte de los tejidos vegetales.

2.3.3. Metodología:

Colecta de especímenes:

Fueron seleccionados tres especímenes (plantas) a partir de una población, extraídos con parte del sustrato y colocados en bolsas plásticas para el traslado al vivero de la facultad de Ciencias Biológicas para su acondicionamiento en macetas. Se tuvo en cuenta que las condiciones fisiológicas y fitosanitarias de cada espécimen fueran óptimas (Figura 1).

Medio de cultivo:

El medio base utilizado fue el de Murashige & Scook (1962) (Tabla 1). Se formularon 10 tratamientos (Tabla 2), donde se incluyó auxinas, citocininas y ácido Giberelico, en diferentes concentraciones, como se indica en la Tabla 1. Fue incorporada sacarosa 2% y como agente gelificante agaragar 0.8%. El pH se ajustó a 5.7 ± 0.1 , luego fue diluido el agar, el medio de cultivo fue distribuido en tubos de ensayo N° 12, tapados con papel aluminio, empaquetados en bolsas de papel reciclado y llevados a esterilización en autoclave a 120 °C de temperatura

x 15 lb.p² de presión y por espacio de 20 minutos; se conservó en refrigeración antes de utilizarse.

Establecimiento de material *in vitro*:

Luego de retirar las hojas con peciolo a partir de los especímenes acondicionados en vivero, se colocaron en frascos de vidrio para su desinfestación, utilizando etanol comercial al 70% y lejía comercial al 2%, la permanencia de cada desinfestante fue de uno y tres minutos respectivamente, para eliminar los residuos de los desinfestantes se dio tres enjuagues con agua destilada esterilizada a los tejidos. Posteriormente se utilizó pinzas y bisturí, dentro de una placa de Petri esterilizada se seccionó las hojas y peciolo, luego se depositó cada fragmento de los respectivos medios de cultivo, toda esta fase fue realizada en cabina de bioseguridad tipo II (Figura 2). Los tubos con los explantes cultivados fueron colocados a incubación bajo el fotoperíodo a 16/8 horas de luz/oscuridad con una intensidad lumínica de 40 a 50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{sec}^{-2}$.

Figura 1

Peperomia fraseri: **a.** Planta en campo y **b.** Planta donadora de tejidos acondicionada en vivero



Tabla 1*Constituyentes del medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962)*

N° Sol Madre	Sales minerales	Concentración (mg/L)	Volumen de la solución madre/litro de medio basal (mg/L)
1	NH₄NO₃	1 650	
	KNO₃	1 900	
	MgSO₄.7H₂O	370	20,0
	KH₂PO₄	170	
2	H₃BO₄	6,2	
	MnSO₄.H₂O	22,3	
	ZnSO₄.7H₂O	8,6	
	Na₂MoO₄.2H₂O	0,25	1,0
	CuSO₄.5H₂O	0,025	
	CoCl₂.6H₂O	0,025	
3	KI	0,83	1,0
4	CaCL₂.2H₂O	440,0	3,0
5	Na₂EDTA.2H₂O	37,3	5,0
	FeSO₄.7H₂O	27,8	
6	Tiamina.HCl	1,0	2,5
7	Mio-Inositol	100,0	12,5

Tabla 2

Tratamientos utilizados en el cultivo in vitro de Peperomia fraseri, que incluyen cuatro tipos de reguladores de crecimiento.

Tejido	Tratamiento	Reguladores de Crecimiento (mg/L)			
		ANA	AIA	AG ₃	BAP
Hoja y Pecíolo	T1	0.02		0.02	
	T2	0.2		0.02	
	T3	0.5		0.02	
	T4		0.02	0.02	
	T5		0.2	0.02	
	T6		0.5	0.02	
	T7				0.02
	T8				0.2
	T9				0.5
	T10				1.0

Nota: 10 repeticiones por tratamiento

Figura 2

Cultivo in vitro de explantes de Peperomia fraseri: a. En cámara de bioseguridad tipo II, b y c. incubación de tubos de ensayo con el material cultivado.



Inducción de brotamiento

Los brotes diferenciados en hojas y peciolo fueron transferidos a medio de cultivo cuya formulación indujo brotes bien constituidos, (MS + ANA + AG₃ 0,02 mg/L) contenidos en frascos de 4 x 10 cm para lograr un mejor desarrollo, de suerte que permitan ser transferidos a sustrato.

Conservación *in vitro*

Como una tentativa de conservación *in vitro* de plántulas de *P. fraseri*, fueron formulados seis tratamientos incluyendo al medio de cultivo manitol en tres niveles, 1, 2 y 3% y sorbitol en los mismos niveles, sobre la base del medio de cultivo que mejor respuesta dio a la propagación clonal. (Tabla 3)

Tabla 3

Medio de cultivo para conservación in vitro de P. fraseri.

Tratamiento	ANA mg/L	AG ₃ mg/L	Manitol % P/V	Sorbitol % P/V
T1	0,02	0,02	1	
T2	0,02	0,02	2	
T3	0,02	0,02	3	
T4	0,02	0,02		1
T5	0,02	0,02		2
T6	0,02	0,02		3

Nota: 10 repeticiones por tratamiento

Transferencia a sustrato

Las plántulas que alcanzaron 2 cm de altura fueron trasferidas a sustrato constituido por fibra de coco y musgo en proporción 1:1. Material que fue previamente esterilizado en las mismas condiciones que los medios de cultivo y humedecido con agua destilada inicialmente. De manera previa a la transferencia fueron colocadas las plántulas en agua destilada durante 48 horas con la finalidad de endurecer las raíces antes de la transferencia a sustrato.

CAPÍTULO III. RESULTADOS

3.1. Propagación de *P. fraseri*:

3.1.2. Establecimiento de cultivo *in vitro*:

Contaminación

Dependiendo de la procedencia de los tejidos a utilizar, la contaminación siempre se encuentra presente en mayor o menor grado. En este caso, la contaminación de los tejidos de *P. fraseri* cultivados *in vitro* alcanzó un 28% de tipo bacteriana, siendo los tejidos de peciolo menos contaminados con 8%, seguido de tejidos de hoja con 20% (Tabla 3). La bacteria contaminante fue la misma en todos los tejidos, de aspecto lechosa semejándose a una levadura, debido al tiempo de aparición, es decir luego de 25 días en cultivo, se le consideró ser de carácter endógeno (Figura 3).

Oxidación:

La oxidación estuvo presente en los tejidos cultivados *in vitro*, tanto en peciolo como en hoja ya sea parcialmente o de manera total en todo el tejido, así se tiene que de manera parcial alcanzó 23%, correspondiendo 16% a peciolo y 7% a hoja, en el caso de oxidación total del tejido alcanzo un 46%, donde peciolo llego a 21% y hoja a 25% de los explantes cultivados (Tabla 4 y Figura 3).

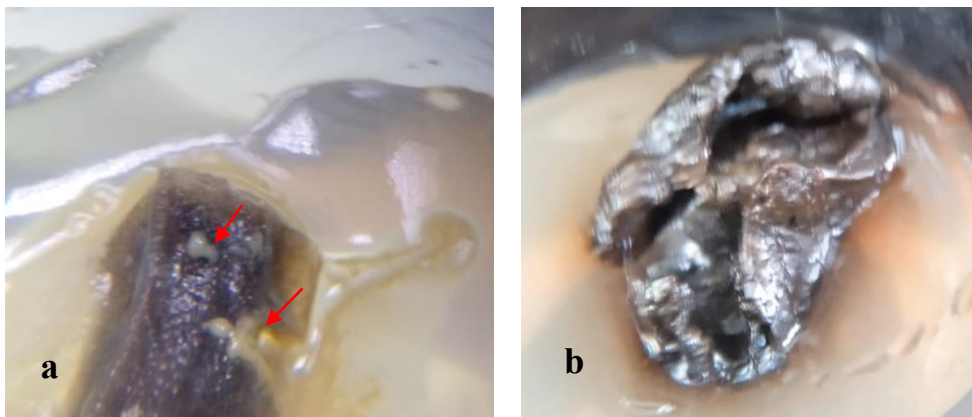
Tabla 4

Contaminación y oxidación de tejidos in vitro de Peperomia fraserii.

Tejido	Contaminación	Oxidación (%)	
	Bacteriana (%)	Parcial	Total
Peciolo	8	16	21
Hoja	20	7	25
Total	28	23	46

Figura 3

Tejidos de Peperomia fraserii in vitro: a. Contaminación bacteriana de peciolo y b. Oxidación total del explante de hoja.



3.2. Sistema de propagación:

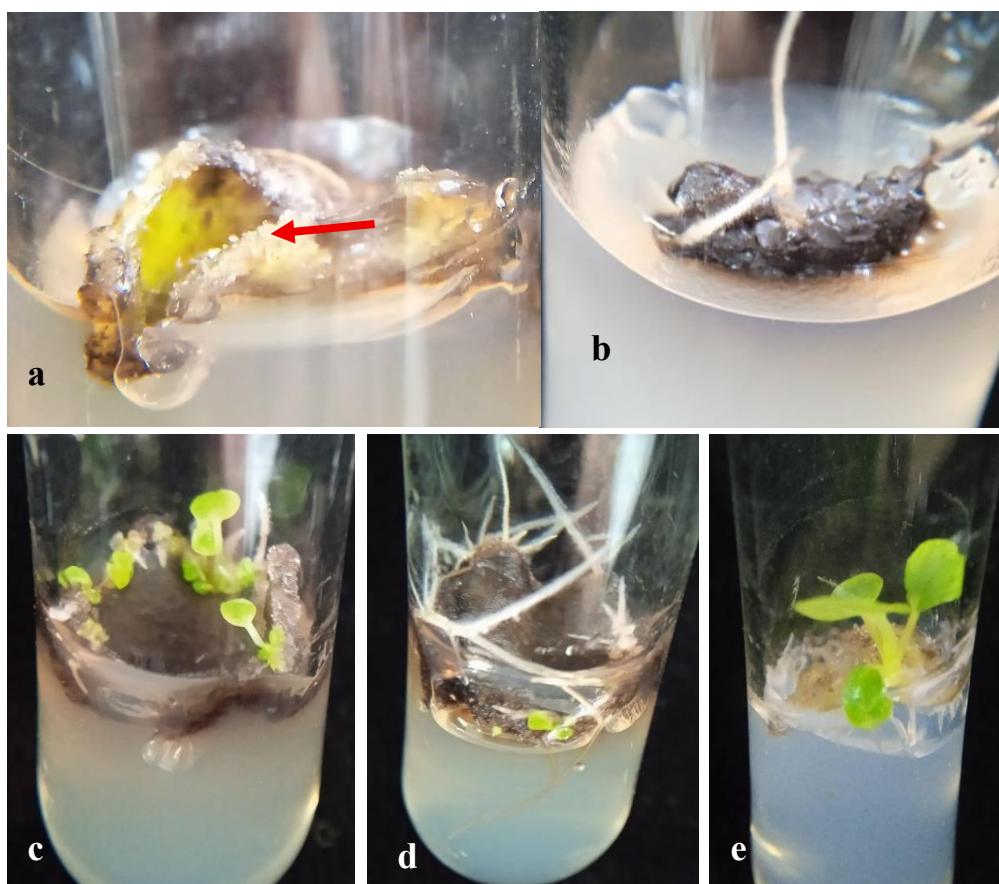
En el presente trabajo de investigación, luego de conocer la morfología y respuestas de la especie, así como la consistencia del tallo, además de los problemas de contaminación y oxidación en el establecimiento del cultivo *in vitro*, se optó por utilizar el sistema de propagación mediante organogénesis somática directa.

3.3. Respuesta morfogénica e identificación del tejido de mejor respuesta al cultivo *in vitro*.

Luego de ser establecidos los tejidos y de superados los problemas de contaminación y oxidación, se observó como respuesta, la proliferación celular en los bordes de los tejidos de hoja y peciolo luego de 45 días en cultivo. La diferenciación de raíces fue más frecuente que los brotes, diferenciándose en el 40% de los explantes en el T1; Tanto en el T2 como en el T3, se diferenciaron brotes en el 10% de los explantes de hoja. En peciolo la diferenciación de brotes y raíces sólo se observó en el 10% de los tejidos en el T6. También se observaron brotes con aspecto vitrificado hecho que no permitió su desarrollo posterior (Figura 4 y Tabla 4). Por lo que los fragmentos de hojas resultan ser óptimos para el cultivo *in vitro* ya que fue el de mejor respuesta, seguido de peciolo con menor respuesta.

Figura 4

Diferenciación de órganos in vitro de Peperomia fraseri: a. Proliferación celular (flecha) b. raíces, c. brotes, d. raíces y brotes y e. plántula para transferencia a medio de brotamiento.



Reguladores					Respuestas (%)					
Tejido	ANA	AIA	AG ₃	BAP	Hojas			Peciolos		
					R	B	RB	R	B	RB
Hoja y Pecíolo	T1	0.02	0.02		40	10	10	10	0	0
	T2	0.2	0.02		0	10	0	0	0	0
	T3	0.5	0.02		0	20	0	0	0	0
	T4		0.02		0	0	0	0	0	0
	T5		0.2		0	0	0	0	0	0
	T6		0.5		0	10	0	0	10	0
	T7			0.02	0	0	0	0	0	0
	T8			0.2	0	0	0	0	0	0
	T9			0.5	0	0	0	0	0	0
	T10			1.0	0	0	0	0	0	0

Tabla 5 Reguladores de crecimiento y respuestas de hoja y pecíolo de *P. fraseri* al establecimiento *in vitro*

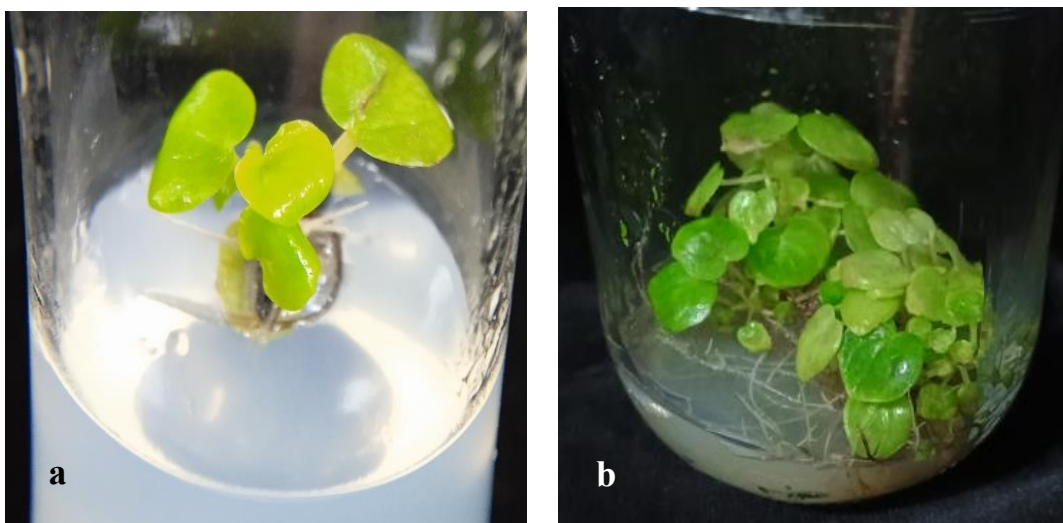
Nota: 10 Tubos por tratamiento.

Selección del medio de cultivo:

Los tratamientos suplementados con AIA +AG3 y ANA+AG3 fueron los que indujeron respuestas organogénicas, aun cuando la frecuencia fue baja, fue suficiente para el establecimiento de un sistema de propagación *in vitro*. La combinación ANA + AG3 se destacó por inducir la diferenciación de plántulas más robustas. Las plántulas que alcanzaron un adecuado desarrollo en los respectivos tratamientos, fueron transferidas a ANA +AG3 (0.02 mg/L) medio con el nivel más bajo de reguladores y con mayor desarrollo de raíces, este medio permitió el desarrollo armónico y brotamiento secundario de las plántulas cultivadas de manera individual, donde se observó la diferenciación de 7 brotes laterales en promedio por plántula (Figura 5).

Figura 5

Propagación de brotes: a. En MS + ANA+AG3(0.02 mg/L) y b. Inducción de múltiples brotes a partir de plantas individuales cultivadas en frascos.



Conservación *in vitro*

Los brotes secundarios transferidos a medio de cultivo de propagación suplementado con tres niveles de manitol y tres niveles de sorbitol, no tuvieron las mismas respuestas en presencia de ambos azúcares alcoholes.

Al cabo de 60 días en cultivo, se observó mejor respuesta en los tratamientos que incluyeron sorbitol, en el caso de manitol los brotes sufrieron de vitrificación en 90%, pero se mantuvieron vivos (Tabla 5). En una segunda evaluación realizada a los 120 días, se observó que en los tratamientos T1 al T3 con manitol las plántulas murieron, sobreviviendo únicamente el 10%; en cambio en presencia de sorbitol del T4 al T6 permanecieron vivas de 60 a 80% y el número de brotes laterales se mantuvo (Tabla 6). En una tercera evaluación realizada a los 180 días, el porcentaje de plantas vivas en el tratamiento T1 se mantiene y en el caso del T4 al T6 las plántulas vivas y normales llegó a un 40 y 60 %, conservándose además un ligero incremento en el número de brotes (Tabla 7 y Figura. 6), estos brotes transferidos a medio de propagación

(ANA + AG3 0,02 mg/L) llegaron a crecer de manera normal para ser transferidos luego a sustrato. Las plántulas que permanecieron *in vitro*, llegaron a sobrevivir hasta por 12 meses.

Tabla 6

Respuesta de las plántulas de P. fraseri a la conservación in vitro, luego de 60 días en cultivo

Tratamiento	Manitol (%)	Sorbitol (%)	Plántulas		Brotos N°
			Vitrificadas (%)	Normales (%)	
T1	1		90	10	0
T2	2		100	0	0
T3	3		100	0	0
T4		1		100	5.3
T5		2		100	3.5
T6		3		100	2.3

Nota: 10 repeticiones por tratamiento

Tabla 7

Respuesta de las plántulas de P. fraseri a la conservación in vitro, luego de 120 días en cultivo

Tratamiento	Manitol (%)	Sorbitol (%)	Plántulas		Brotos N°
			Muertas (%)	Vivas (%)	
T1	1		90	10	2
T2	2		100	0	0
T3	3		100	0	0
T4		1	20	80	5.3
T5		2	30	70	3.5
T6		3	40	60	2.3

Nota: 10 repeticiones por tratamiento

Tabla 8

Respuesta de las plántulas de P. fraseri a la conservación in vitro, luego de 180 días en cultivo

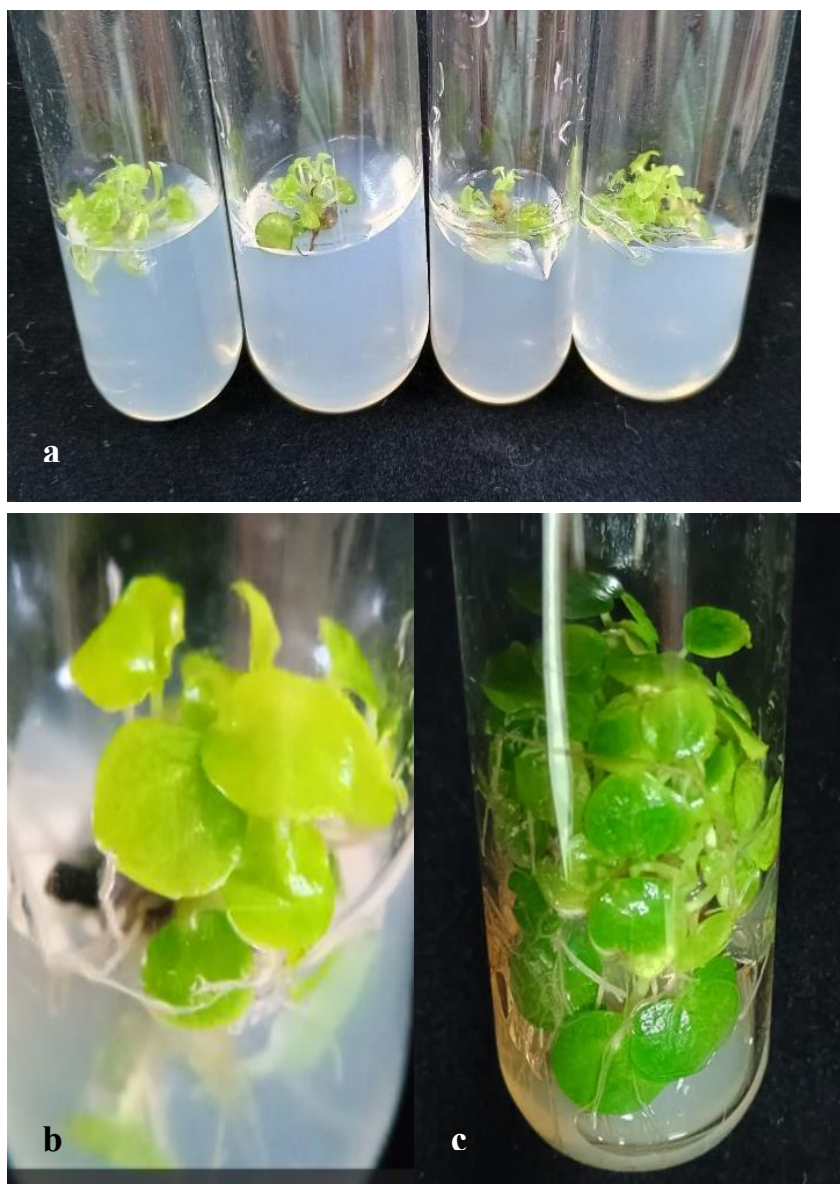
Tratamiento	Manitol (%)	Sorbitol (%)	Plántulas		Brotos N°
			Muertas (%)	Vivas (%)	
T1	1		90	10	3
T2	2		100	0	0
T3	3		100	0	0
T4		1	40	60	6

T5	2	50	50	4
T6	3	60	40	3

Nota: 10 repeticiones por tratamiento

Figura 6

Plántulas de P. fraseri en medio de cultivo con sorbitol 1%: a. Plántulas recién subcultivadas, b. 60 días en cultivo y c. 120 días en cultivo

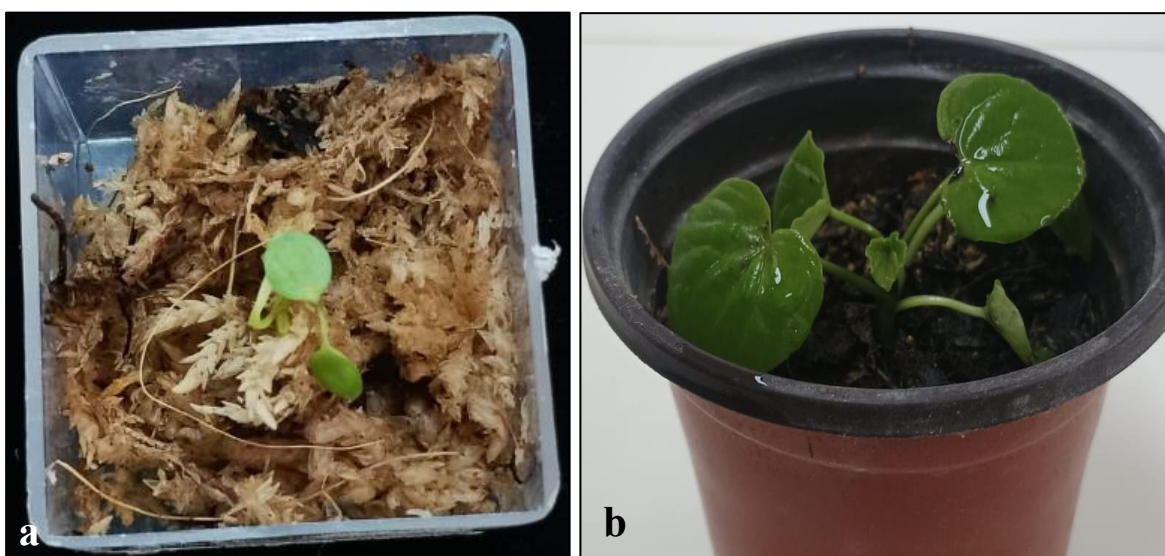


Transferencia a sustrato

La transferencia a sustrato mostro 100% de viabilidad, aun cuando el crecimiento fue lento, se logró la aclimatación en vivero (Figura 7), mostrando así su potencial para la propagación vegetativa.

Figura 7

Planta de P. fraseri regenerada in vitro y transferida a sustrato.



Nota: a) plántula recién transferida a sustrato. b) planta en invernadero luego de 45 días.

CAPÍTULO IV DISCUSIÓN

La propagación clonal o vegetativa en muchas especies herbáceas se inicia a partir de una de las estrategias celulares como es la vía de organogénesis somática directa, vía que garantiza la estabilidad genética de los tejidos, ya que para la obtención de plantas regeneradas a partir de yemas o nudos es muy difícil, debido a los problemas de contaminación y oxidación de los tejidos como se observó en *P. fraseri*.

En cuanto a la obtención de tejidos asépticos, el problema de contaminación presentado al igual que en la mayoría de las especies que son sometidas a cultivo *in vitro* es un problema serio. Muchos de esos contaminantes endógenos, están relacionados con el mecanismo de

defensa de las plantas, los mismos que ha establecido relaciones de interdependencia a través de los millones de años en evolución (Singh & Singla, 2020).

Por otro lado, la oxidación de los tejidos obedece a la presencia de metabolitos secundarios, resultado de la síntesis de compuestos fenólicos también relacionados con los mecanismos de defensa frente a la irradiación UV, estrés hídrico, presencia de hongos y bacterias patógenos, entre otros. El grado de exposición e inamovilidad de los vegetales ha conllevado al desarrollo de una serie de mecanismos de protección (Iqbal et al., 2021).

La familia Piperáceas que aloja a *Peperomia*, sintetiza compuestos fenólicos, los mismos que al ponerse en contacto con el oxígeno y la luz en el momento de disección de los tejidos, reaccionan oscureciendo al mismo debido a que este grupo vegetal se encuentra en la base de las plantas evolucionadas y como tales mantienen esos mecanismos que hace millones de años utilizaron para sobrevivir (Isnard et al., 2012).

En lo referente a tejidos de mejor respuesta, de los tejidos utilizados en el presente trabajos se ha podido observar cómo muestran los resultados, que fueron los fragmentos de hoja, seguido de fragmentos de peciolo, los fragmentos de tallo no fueron posible, debido a la contaminación por hongos y bacterias desde los ensayos preliminares. Si bien en hojas fue posible las respuestas, la zona más propicia para la formación de órganos *de novo*, fue la zona ubicada en la base de la hoja, la que en la mayoría de los casos dio respuesta como se ha observado en el trabajo de Rojas et al. (2021).

Al perecer tanto el órgano como el tejido utilizado para la diferenciación de nuevos individuos *in vitro* depende de la memoria genética y la totipotencia celular que guarden las células de cada genotipo (Guzmán et al. 2018), generalmente las especies vegetales con dificultades para su reproducción mediante semilla botánica, responden mejor a la propagación clonal vía organogénesis somática directa; por otro lado la mayoría de especies herbáceas presentan mayor plasticidad para las respuestas *in vitro*.

La selección del medio de cultivo óptimo para la propagación *in vitro*, el balance hormonal de auxinas y giberelinas utilizados en muchas especies herbáceas ornamentales ha resultado ser muy recomendable para la propagación clonal *in vitro*, así lo mencionan

numerosos trabajos desarrollados desde la década del 80, con el objetivo de reducir costos y obtener plantas de manera masiva, hecho que ha resultado un éxito; sin embargo, cuando se trata de especies silvestres, entre las que se encuentran las plantas medicinales encontrar el medio adecuado resulta ser un reto porque puede llevar varios meses en los intentos hasta conseguir el adecuado (Mohammadi et al. 2023).

En el caso de *P. fraseri*, el medio de cultivo suplementado con ANA+AG₃ (0.02 mg/L) resultó ser el óptimo para su propagación. Sin duda la sensibilidad de los tejidos y células frente a las señales de los reguladores de crecimiento determinan las respuestas morfogénicas; entrando a tallar también el grado evolutivo de los vegetales, es por eso por lo que el balance hormonal influirá mucho en el estímulo de las respuestas, ya que deben llegar a las señales enzimáticas detonantes de las respuestas celulares responsables de la formación de órganos *de novo* como en este caso (Jones & Saxena, 2013, Bidabadi & Jain, 2020).

La consistencia herbácea de la planta permite que se pueda conservar *in vitro*, la presencia de sorbitol permitió la sobrevivencia de las plántulas en mejores condiciones, al contrario del manitol que provocó vitrificación. Ambas sustancias químicas, evitan la toma de nutrientes con facilidad, al producir una alta concentración osmótica en el medio de cultivo, provoca un estrés osmótico y con ello limita el crecimiento (Montalvo et al., 2025); sin embargo, el manitol ha tenido mejores resultados en otras especies como la papa, en bajas concentraciones tanto manitol como sorbitol pueden inducir a una respuesta positiva, pero en altas concentraciones pueden llegar a ser tóxico.

En el presente trabajo *P. fraseri* tuvo mejor respuesta en presencia de sorbitol en baja concentración (1%), a medida que se incrementa la concentración, disminuye la sobrevivencia. El factor genotipo o especie, sin duda es determinante en las respuestas, así se tiene que en el caso de *Ipomoea batatas*, la presencia de Manitol en 1, 1,5 y 2,0 % permitió conservar las plántulas hasta por 8 meses con el 80 y 90% de sobrevivencia (Rayas et al., 2019), mientras que, para el caso de *P. fraseri* estos niveles no resultaron positivos. El mayor destaque que ha tenido la biotecnología vegetal con la técnica de cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, por su acceso y funcionalidad es la propagación clonal y la conservación de recursos fitogenéticos *in vitro* ya

sea con el uso de yemas, nudos o como en este caso generando yemas a partir del tejido somático y con posibilidades de ser conservado por reducción del crecimiento a tasa mínima (Tarraf et al., 2024).

CONCLUSIONES

1. La propagación clonal de *P. fraseri* fue posible mediante organogénesis somática directa.
2. El establecimiento de material vegetal aséptico se vio interferido por la presencia de contaminación bacteriana endófito y oxidación de los tejidos.
3. El tejido que mejor respondió a la formación de brotes fue el de hoja seguida de peciolo, ambas en baja frecuencia, pero suficiente para iniciar la propagación *in vitro*.
4. El medio de cultivo óptimo para la propagación clonal *in vitro* de *P. fraseri* estuvo constituido por las sales MS, suplementado con tiamina (0,4 mg/L), Inositol (100mg/L) y los reguladores ANA +AG3 (0.02 mg/L).
5. Existen posibilidades de conservar *in vitro* a *P. fraseri*.

RECOMENDACIONES

- Utilizar antibiótico y antifúngicos de amplio espectro desde el acondicionamiento de las plantas en vivero para evitar contaminación bacteriana en el momento del establecimiento *in vitro*.
- Explorar nuevas formulaciones que permitan incrementar la frecuencia de respuesta en la diferenciación de brotes, utilizando otras sustancias orgánicas naturales, como el agua de coco.
- Explorar la conservación *in vitro* de *P. fraseri* con otros niveles de sustancias osmoreguladoras.

REFERENCIAS

- Ahmad, R., Norhisham, N. S., Mulfazir, F. H. M., Zulpakar, M. Z. F. P., Paharudin, L. N. H., Shaffie, A. H., & Adnan, L. A. (2023). Functional Group and Phytochemical Properties Detection of Peperomia Pellucida Leaves Extract. *Asian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 4(4), 1-9. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/380905075_Functional_Group_and_Phytochemical_Properties_Detection_of_Peperomia_Pellucida_Leaves_Extract
- Ahmed, A. B. A., Lydia, T., Musthafa, M. M., Taha, R. M., & Marikar, F. M. M. T. (2021). An efficient plant regeneration, detection and identification of secondary metabolites from propagate plants of Peperomia pellucida (L.) for mass cultivation. State Natural History Museum Nas Ukraine. URL: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5078526>
- Al-Ahmad, H. (2015). Differential Response of Leaf and Stem Explants to Growth Regulators and Direct Organogenesis of Baby Rubber Plant (Peperomia obtusifolia). *Advances in life sciences*, 2, 68-78. Recuperado de: <https://www.semanticscholar.org/paper/Differential-Response-of-Leaf-and-Stem-Explants-to-Al%E2%80%90Ahmad/e1748b9b1914c40df3063336f6d6a85ae0aecaa5#extracted>
- APG IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181, 1–20. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Bialangi, N., Mustapa, M. A., Salimi, Y. K., Widianoro, A., & Situmeang, B. (2016). Antimalarial activity and phitochemical analysis from Suruhan (Peperomia pellucida) extract. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 8(3), 183-187. <https://doi.org/10.24114/jpkim.v8i3.5817>
- Bidabadi, S. S., & Jain, S. M. (2020). Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration. *Plants* (Basel, Switzerland), 9(6), 702. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>

- Chalermpol, S., Pornsawan, S., & Hodgkinson, R. T. (2024). Characterization of anatomical characters of *Peperomia* (Piperaceae) from Asia for taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 205(3), 268–291. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boad075>
- Chávez, G. J., Andrade, R. M., Juárez, L. P., Villegas, T. O., Sotelo, N. H., & Perdomo, R. F. (2018). Evaluación de tres sistemas de cultivo in vitro para la multiplicación de microcormos de gladiolo. *Revista fitotecnica mexicana*, 41(4a), 551-554. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802018000500551&script=sci_arttext
- De Klerk, G.-J.; Hanecakova, J.; Jásik, J. (2008). Effect of medium-pH and MES on adventitious root formation from stem disks of apple. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 95, 285–292. DOI: [10.1007/s11240-008-9442-5](https://doi.org/10.1007/s11240-008-9442-5)
- Delgado, P. G. E., Kato, M. J., Vásquez, D. N., Minchala, P. J., & Rojas, I. C. (2012). Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): Propagación, organogénesis y conservación de germoplasma in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 14 (2), 49-60. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752012000200006&script=sci_arttext
- De Moraes, M. M. & Kato, M. J. (2021). Biosynthesis of pellucidin a in *Peperomia pellucida* (L.) HBK. *Front. Plant Sci.* 12:641717. DOI: [10.3389/fpls.2021.641717](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.641717)
- El-Naggar, H. M., & Osman, A. R. (2014). Micro Propagation and Organogenesis of *Peperomia obtusifolia*. *Asian Journal of Crop Science*, 6(1): 58-66. DOI: [10.3923/ajcs.2014.58.66](https://doi.org/10.3923/ajcs.2014.58.66)
- Frenzke, L., Scheiris, E., Pino, G., Symmank, L., Goetghebeur, P., Neinhuis, C., Wanke, S., & Samain, M. S. (2015). A revised infrageneric classification of the genus *Peperomia* (Piperaceae). *Taxon*, 64(3), 424-444. <https://doi.org/10.12705/643.4>
- Frenzke, L., Goetghebeur, P., Neinhuis, C., Samain, M.S. & Wanke, S. (2016) Evolution of Epiphytism and Fruit Traits Act Unevenly on the Diversification of the Species-Rich Genus *Peperomia* (Piperaceae). *Front. Plant Sci.* 7:1145. DOI: [10.3389/fpls.2016.01145](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01145)

- Gaspareto, F. L., Baldoqui, D. C., Kato, M. J., da Silva B. V., Guimaraes, E. F., Cicarelli, R. M. B., & Furlan, M. (2008). Lignan tripanocidas de tetrahidrofurano de *Peperomia blanda*. *Fitoquímica*, 69 (2), 445-450. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.08.012>
- Guzman, C., Prat, L., Rivas, C., & Aros D. (2018). Induction of direct organogenesis from aerial explants of scented alstroemeria genotypes. *Cienc. Inv. Agr.* [online]. vol.45, n.2, pp.158-168. ISSN 0718-1620. <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v45i2.1918>.
- Ho, K. L., Yong, P. H., Wang, C. W., Kuppusamy, U. R., Ngo, C. T., Massawe, F., & Ng, Z. X. (2022). *Peperomia pellucida* (L.) Kunth and eye diseases: A review on phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of integrative medicine*, 20(4), 292–304. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2022.02.002>
- Iqbal Z, Iqbal M. S., Hashem A., Abd _Allah. E. F., & Ansari. M. I. (2021) Plant Defense Responses to Biotic Stress and Its Interplay with Fluctuating Dark/Light Conditions. *Front. Plant Sci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.631810>
- Isnard, S., Prosperi, J., Wanke, S., Wagner, S. T., Samain, M. S., Trueba, S., Frenze, L., Neinhuis, C., & Rowe, N. P. (2012). Growth Form Evolution in Piperales and Its Relevance for Understanding Angiosperm Diversification: An Integrative Approach Combining Plant Architecture, Anatomy, and Biomechanics. *International Journal of Plant Sciences*, 173(6), 610–639. <https://doi.org/10.1086/665821>
- Jones, A. M. P., & Saxena, P. K. (2013). Inhibition of phenylpropanoid biosynthesis in *Artemisia annua* L.: a novel approach to reduce oxidative browning in plant tissue culture. *PLoS one*, 8(10), e76802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076802>
- Karamian. R. & Ghasemlou. F. (2014). Plant regeneration via organogenesis and somatic embryogenesis in *verbascum sinuatum* L. *Acta biologica cracoviensia Series Botanica* 56(1): 97–103. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1181576>
- Kanedi, M. (2022). Pharmacological benefits of plant extract of *Peperomia pellucida* growing wild in Suburb of Bandar Lampung, Indonesia. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 13(02), 519–522. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.13.2.0177>

- Klein. J. L.C., Recalde. G.M. A., Passos. C. Dos S., De Bitencourt. F. G., Salton. J., Danielli. L. J., Bordignon. S. A. De L. & Henriques. A. T. (2016). Journal of esencial oil bearing plants. 19(7), 1762-1768. DOI: [10.1080/0972060X.2016.1181576](https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1181576)
- Li, Y.Z., Huang, J., Gong, Z., Tiang, X. Q. (2007). A novel norlingan and novel phenylpropanoid from *Peperomia tetraphylla*. Helvetica Chimica Acta 90, 2222-2226. Recuperado de: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-36549017247&doi=10.1002%2fhlca.200790230&partnerID=40&md5=f89b0f5207e91936cc718b330c418a10>
- Li, Y.Z., Tong, A. P., Huang, J. (2012). Two new norlingans and new lignamide from *Peperomia tetraphylla*. Chemistry & Biodiversity 9, 769-776. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22492494/>
- López, R. Y. (2021). Establecimiento de diferentes tipos de cultivo in vitro de *Yucca* spp. y análisis de la producción de compuestos fenólicos en los mismos. [tesis de doctorado]. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11317/2142>
- Malabadi, R. B., Chalannavar, R.K.& Polkar, K.P. (2025) Plant cell totipotency: Plant tissue culture applications an updated review. World Journal of Advanced Engineering Technology and Sciences, 16(02), 112-135. <https://doi.org/10.30574/wjaets.2025.16.2.1262>
- Mendoza, F. C., Delgado, W. A., Fonseca, H. L. R., Roa, A., Álvarez, J., Reina Sánchez, G. A., Beltrán, C. M., Suárez, C. C., Alayón, A., Romero, R., Ávila, M. C., Cuca, L. E., Moreno, L. P., Celis, F. Á., & Muñoz, B. A. (2018). Plantas de la familia Piperaceae del Sumapaz Medio y bajo Occidental. Universidad de Cundinamarca. <https://doi.org/10.36436/9789585203204>
- Mohammadi, M. A., Wai, M. H., Rizwan, H. M., Qarluq, A. Q., Xu, M., Wang, L., Cheng, Y., Aslam, M., Zheng, P., Wang, X., Zhang, W., & Qin, Y. (2023). Avances en micropropagación, embriogénesis somática, hibridaciones somáticas, transformación genética y criopreservación para el mejoramiento de la pasionaria. *Plant Methods* , 19 (1), 50. <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01030-0>

- Montalvo Otivo, J. M., Flores Miranda, C., Mancilla Condor, J. L., Carbajal Cuadros, L. N., & Leon Gomez, R. (2025). Efecto del manitol y sorbitol en la conservación in vitro de *Solanum tuberosum* L. *Revista Alfa*, 9(25), 90–104.
<https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v9i25.334>
- Mota, J, Da S., Leite, A. C., Kato, M. J., Young, M. C., Bolzani, V. Da S. (2011). Isoswertisin flavones and other constituents from *Peperomia obtusifolia*. *Natural Product Research*, 25(1), 1-7. DOI: [10.1080/14786410903244954](https://doi.org/10.1080/14786410903244954)
- Murashige, T., y Skoog, F. (1962). Un medio revisado para el crecimiento rápido y bioensayos con cultivos de tejido de tabaco. *Physiologia plantarum*, 15 (3). 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Oseni, O.M., Pande, V. & Nailwal, T.K. (2018) A Review on Plant Tissue Culture, A Technique for Propagation and Conservation of Endangered Plant Species *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* Vol. 7(7): 3778-3786. Recuperado de: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.438>
- Pasqua, G., Manes, F., Lorella, N. & Monacelli, B. (2002). Effects of the culture medium pH and ion uptake in in vitro vegetative organogenesis in thin cell layers of tobacco. *Plant Science*, 162(6), 947-955. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00048-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00048-1)
- Pino, G., Fernández, R., & Samain, M. S. (2021). Succulent Peruvian species of *Peperomia* subgenus *Panicularia*. *Haseltonia*, 27(1), 116-129. <https://doi.org/10.2985/026.027.0114>
- Portillo. L. & Santacruz. F. R. (2004). Totipotencia celular: Una revisión y aplicación del concepto. *Scientia-CUCBA*, 6(1-2): 13-18. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/341189242_Totipotencia_celular_Una_revision_y_aplicacion_del_concepto
- Rayas, A., López, J., Medero, V.R., 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* Vol. 19, No. 1: 43 – 51. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/335034212_In_vitro_conservation_of_Ipomoea_batatas_L_Lam_cultivars_by_minimum_growth_with_the_use_of_mannitol

- Rojas, I. C. (2021). Influencia del medio de cultivo en la Propagación In Vitro de Especies de *Peperomia* de las Regiones de Lambayeque y Cajamarca. Universidad Nacional de Trujillo. [tesis de doctorado]. Universidad Nacional de Trujillo.
- Rojas, I. C., Olivera, M. I., & Delgado, P. G. E. (2020). In vitro propagation of *Peperomia albobittata* and *Peperomia galioides* by organogenesis. *Biotechnología Vegetal*, 20(2), 92-103.
- Romero, A. S. V., Porras, V. H. A., Matamoros, J. R., Herrera, Y. F. F., Azarte, G. A., Jerillo, M. R. C., Coaquira, F. L. H., Chang, Y. J. V., & Cárdenas, J. A. L. (2018). Propagación clonal in vitro de especies y variedades de papa (*solanum* spp.) en función del tiempo. *Big Bang Faustiniiano*, 7(4). <https://doi.org/10.51431/bbf.v7i4.495>
- Samain, M. S., Vanderschaeve, L., Chaerle, P., Goetghebeur, P., Neinhuis, C., & Wanke, S. (2009). Is morphology telling the truth about the evolution of the species rich genus *Peperomia* (Piperaceae)?. *Plant Syst Evol*, 278, 1-21. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0113-0>
- Sen, S. & Ganesan, R. (2021) A Review on the Ecology, Evolution and Conservations of piprt (Piperaceae) in India: Future Directions and opportunities, *The Botanical Review*, 88 (4) DOI: [10.1007/s12229-021-09269-9](https://doi.org/10.1007/s12229-021-09269-9)
- Silalahi, M. (2022) *Peperomia pellucida* (L.) Kunth: Traditional medicinal and its bioactivity. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 9 (3). pp. 60-66. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2022.9.3.0057>
- Singh, A. K., & Singla, P. (2020). Root Phenolics Profile Modulates Microbial Ecology of Rhizosphere. *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture*, 555. DOI:[10.1007/978-981-15-4890-1_24](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_24)
- Su, Y.H., Tang, L.P., Zhao, X.Y., and Zhang, X.S. (2021). Plantcell totipotency: Insights into cellular reprogramming. *J. Integr.Plant Biol.* 63: 228–240. <https://doi.org/10.1111/jipb.12972>

- Tarraf, W. & De Carlo, A. (2024) In Vitro Biotechnology for Conservation and Sustainable Use of Plant Genetic Resources. *Plants* : 13, 1897. <https://doi.org/10.3390/plants13141897>
- Valderrama R, A. S., Abril Porras, V. H., Reyes Matamoros, J., Fernández Herrera, Y. F., Acuña Azarte, G., Condori Jerillo, M. R., Huamán Coaquira, F. L., Vélez Chang, Y. J., & Legua Cárdenas, J. A. (2018). Propagación clonal in vitro de especies y variedades de papa (*solanum spp.*) en función del tiempo. *Big Bang Faustiniiano*, 7(4). <https://doi.org/10.51431/bbf.v7i4.495>
- Vergara. R. D., Mathieu. G., Samain. M. S., Armenta. M. S., & Krömer. T. (2017). Diversity, distribution, and conservation status of *peperomia* (Piperaceae) in the state of Veracruz, Mexico. *Tropical Conservation Science*, Vol. 10. DOI: [10.1177/1940082917702383](https://doi.org/10.1177/1940082917702383)
- Ware I, Franke K, Hussain H, Morgan I, Rennert R, Wessjohann LA. (2022). Bioactive Phenolic Compounds from *Peperomia obtusifolia*. *Molecules*, 7;27(14):4363. Recuperado de: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9315869/>
- Yu. D., Yang. X., Lu. X., Shi. L., Feng. B. (2016). Ethyl acetate extract of *Peperomia tetraphylla* induces cytotoxicity, cell cycle arrest, and apoptosis in lymphoma U937 cells. *Biomed Pharmacother*. 84:1802-1809. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27847202/>

