

EFEECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Discocnide mexicana* Liebm SOBRE BROTES DE *Agave potatorum* Zucc.

EFFECT OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Discocnide mexicana* Liebm ON SPROUTS OF *Agave potatorum* Zucc.

Aguilar-Jiménez D.^{1*}, Fuentes A. G.¹, González V. R. D.², Herrera L. H.², Salgado B. R.¹

¹Programa Educativo de Agrobiotecnología, ²Programa Educativo de Agricultura Sustentable y Protegida, Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros, Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla. C.P. 74420.

*Autor para correspondencia: *aguilard229@gmail.com.

Recibido: 22/agosto/2022

Aceptado: 15/diciembre/2022

RESUMEN

Discocnide mexicana Liebm es una planta de la familia *Urticaceae*. Tiene usos medicinales de forma empírica y es conocida comúnmente como chichicaxtle en la Mixteca Poblana, México. Unos de sus metabolitos secundarios más abundantes son flavonoides, con diversas propiedades biológicas y funciones metabólicas importantes en las plantas, como es la intervención en el transporte de auxina, fitohormona reguladora del crecimiento vegetal. Además, contiene taninos, fitosteroles, ceramidas, fenilpropanos, polifenoles, monoterpendioles, aglutinina, entre otros. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar un extracto

hidroalcohólico a partir de *Discocnide mexicana* Liebm en brotes de *Agave potatorum* Zucc. *in vitro* comparado con reguladores de crecimiento vegetal. Para ello se elaboró un medio de cultivo con las sales inorgánicas de Murashige y Skoog (1962), adicionando 0,4 mg L⁻¹ de tiamina-HCl, 100 mg L⁻¹ de inositol y 3,0 % de sacarosa, ajustando el pH a 5,7 ± 0,1. Por separado se adicionaron reguladores de crecimiento en 1,0 mg L⁻¹ (AIA, ANA, BAP, KIN y 2IP) y tres concentraciones de extracto (10, 20 y 30 mL L⁻¹) antes de esterilizarse a 121 °C durante 20 min. En cada recipiente se sembró un brote de *Agave potatorum* y se mantuvieron en área de incubación durante ocho semanas. Los

resultados obtenidos indican que 10 mL L⁻¹ de extracto tienen efecto significativo en la formación y longitud de raíces de forma similar a AIA. Sin embargo, el número de raíces en brotes de *Agave potatorum in vitro* desciende al incrementar la concentración de extracto a 20 ó 30 mL L⁻¹.

Palabras clave: Metabolitos secundarios, bioestimulación, experimentación *in vitro*.

ABSTRACT

Discocnide mexicana Liebm is a plant of the *Urticaceae* family. It has medicinal uses empirically and is commonly known as chichicaxtle in the Mixteca Poblana. Some of its most abundant secondary metabolites are flavonoids, with various biological properties and important metabolic functions in plants, such as intervention in the transport of auxin, a phytohormone that regulates plant growth. In addition, it contains tannins, phytosterols, ceramides, phenylpropanes, polyphenols, monoterpenoids, agglutinin, among others. Therefore, the objective of this study was to evaluate a hydroalcoholic extract from *Discocnide mexicana* Liebm in *Agave potatorum* Zucc shoots *in vitro* compared to plant growth regulators.

For this, a culture medium was prepared with the inorganic salts of Murashige and Skoog (1962), adding 0.4 mg. L⁻¹ of

thiamine-HCl, 100 mg. L⁻¹ of inositol and 3 % sucrose, adjusting the pH to 5.7 ± 0.01. Separately, growth regulators were added at 1.0 mg. L⁻¹ (AIA, ANA, BAP, KIN and 2IP) and three extract concentrations (10, 20 and 30 mL.L⁻¹) before being sterilized at 121 °C for 20 minutes. An *Agave potatorum* shoot was planted in each container and kept in the incubation area for eight weeks. The results obtained indicate that 10 mL.L⁻¹ of extract have a significant effect on the formation and length of roots in a similar way to AIA. However, the number of roots in shoots of *Agave potatorum in vitro*, decreases when increasing the concentration of extract in 20 and 30 mL.L⁻¹.

Keywords: Secondary metabolites, biostimulation, experiment *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios que pueden encontrarse en raíz, hojas, tallos, semilla o flores (Harborne, 1993). La estructura química y molecular de los metabolitos secundarios puede interactuar a nivel de receptores con las células vegetales generando señales que finalmente se expresan en respuestas fisiológicas o morfogénicas (García, *et al.* 2013 y Aguilar-Jiménez *et al.* 2021). En el caso de

Discocnide mexicana Liebm (chichicaxtle), es una planta herbácea y pertenece a la familia *Urticaceae*. Se han encontrado clorofilas, carotenoides, vitaminas A, B y C, triterpenos, esteroides, ácidos orgánicos, histamina, serotonina, colina, taninos y flavonoides en las hojas de las plantas de esta familia, como principios activos (Ministerio de la Protección Social, 2008). Los flavonoides son metabolitos secundarios que han demostrado tener diversas propiedades biológicas, entre ellas antioxidantes, antibacterianas y antivirales. También, cumplen funciones metabólicas importantes en las plantas al intervenir en el transporte de auxina, que es una fitohormona reguladora de crecimiento vegetal, provocando elongación de células, generando raíces y regulando el crecimiento de la planta (Faraa y Tahara, 1999).

Por otra parte, en México los agaves representan un recurso económico y cultural invaluable, ya que se han empleado durante siglos como fuente de alimento para las personas y animales, medicina, construcción, ornato, fibras duras, textiles, abono y, principalmente, en la producción de bebidas alcohólicas (García-Mendoza, 2007). El *Agave* se ha convertido en una de las plantas más importantes para México porque de él se producen algunos de los productos más famosos de la gastronomía

mexicana; y también de los más exportados, como es el caso del tequila y el mezcal, bebidas con denominación de origen mexicana. El *Agave potatorum* Zucc. (denominado vulgarmente tobalá) es una especie silvestre que se reproduce naturalmente sólo por semilla; por ello se necesitan protocolos para su propagación *in vitro*, empleándose reguladores de crecimiento vegetal entre otros constituyentes (Enríquez-del Valle *et al.*, 2005; Arzate-Fernández y Mejía-Franco, 2011; Arzate-Fernández *et al.*, 2016; Aguilar *et al.*, 2018a y Aguilar y Rodríguez 2018b). No obstante, también es importante evaluar productos alternativos para estimular su crecimiento, ya que es lento (entre 8 y 10 años; García-Mendoza, 2010). En ese tenor el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto fisiológico de un extracto hidroalcohólico de chichicaxtle (*Discocnide mexicana* Liebm) en brotes *in vitro* de *Agave potatorum* Zucc. comparado con otros reguladores acreditados de crecimiento vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon brotes de *Agave potatorum* obtenidos *in vitro* con anterioridad a partir de material vegetal proveniente de Tehuacán (Puebla); y establecidos para su

multiplicación en el Laboratorio de Biotecnología de la UTM.

Condiciones de cultivo

Se emplearon las sales inorgánicas MS de Murashige y Skoog (1962) modificadas y adicionando tiamina ($0,4 \text{ mg L}^{-1}$), mioinositol (100 mg L^{-1}), sacarosa ($30,00 \text{ g L}^{-1}$) y agar-agar (Bioxon®; $8,0 \text{ g L}^{-1}$), ajustando el medio de \pm cultivo a pH $5,7 \pm 0,1$ para esterilizarse en autoclave a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ a $1,50 \text{ kg cm}^{-2}$ de presión durante 20 min. Posteriormente, los recipientes de cultivo sembrados se mantuvieron en el área de incubación con luz y temperatura ambiente.

Efecto de extracto hidroalcohólico de *Discocnide mexicana* sobre los brotes de *Agave potatorum* cultivados *in vitro*

Se empleó el medio de cultivo básico MS (Murashige y Skoog, 1962) descrito anteriormente tratado a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 min. Posteriormente se dejó enfriar a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ en campana de flujo laminar y en porciones iguales se les agregó por separado 0, 10, 20 y 30 mL L^{-1} de extracto hidroalcohólico con ayuda de un filtro *Millipore* de 0,22 micras; se vertieron 20 mL de cada tratamiento en recipientes de vidrio de 100 mL tapándose con papel aluminio. Los frascos de cultivo se etiquetaron posteriormente y se llevaron al área de incubación, colocándose al azar.

Efecto de reguladores de crecimiento en brotes de *Agave potatorum* cultivados *in vitro*

Se elaboró medio de cultivo básico MS (1962) descrito anteriormente, se dividió en partes iguales para adicionar por separado cinco reconocidos reguladores de crecimiento vegetal (AIA, ANA, BAP, KIN y 2i-p) (Hurtado y Merino, 2000) en $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. También se consideró un tratamiento control (sólo medio MS) y el tratamiento con la concentración de extracto que tuvo efecto fisiológico. En cada recipiente se colocó un brote de forma vertical. Posteriormente, los frascos de cultivo se etiquetaron y se llevaron al área de incubación colocándose de forma aleatoria.

Análisis de datos

El diseño experimental fue completamente al azar. Se consideró un brote (1,0 cm aproximadamente) por recipiente como unidad experimental con diez repeticiones cada tratamiento. Para las variables: número de brotes, longitud de brotes y de raíz; se realizó un análisis de varianza y una prueba de Tukey con $p = 0,05$ para medir el efecto medio de los tratamientos con los datos obtenidos a las ocho semanas de cultivo. El

paquete estadístico utilizado fue *Minitab* 17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

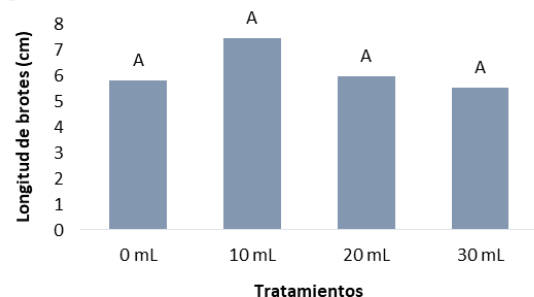
Efecto de extracto hidroalcohólico de *Discocnide mexicana* en brotes de *Agave potatorum* cultivados *in vitro*

Ninguna de las concentraciones de extracto hidroalcohólico a partir de *D. mexicana* (chichicaxtle) tuvo efecto significativo (Tukey, $p = 0,05$) en la longitud de brotes *in vitro* de *A. potatorum* con respecto al tratamiento control (Fig. 1). No obstante, las concentraciones de 10 y 20 mL L⁻¹ favorecieron brotes más vigorosos y de color verde intenso (Fig. 2). Esto puede deberse a la posible presencia de flavonoides en el extracto (Ministerio de la Protección Social, 2008). Además, son considerados importantes para el buen desarrollo y funcionamiento de las plantas al protegerlas de la luz UV, de organismos fitopatógenos, además de tener actividad antioxidante (Cartaya y Reynaldo, 2001). Sin embargo, los brotes cultivados en 30 mL L⁻¹ de extracto fueron más delgados y con apariencia deshidratada, lo cual indica que a mayores concentraciones no causa afectaciones fisiológicas positivas (a pesar de ser un producto de origen natural), pues existen estudios que indican interrupción del ciclo celular y alteraciones en el ADN

de la célula cuando se aplican extractos vegetales en ciertas concentraciones o por tiempos prolongados de exposición, llegando incluso a causar citotoxicidad y genotoxicidad como sucedió con extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) en células meristemáticas de *Allium cepa* (Fernández *et al.*, 2021). Por tanto, los resultados sugieren que no es conveniente emplear cantidades considerables del producto utilizado para favorecer la fisiología de los cultivos y, por lo tanto, la presente propuesta puede ser una alternativa para bioestimular el crecimiento vegetal.

Figura 1.

Longitud de brotes de *A. potatorum* *in vitro* con aplicación de extracto de *D. mexicana*.



Nota: los tratamientos que presentan la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p = 0,05$).

Para número de raíces los resultados obtenidos coinciden con Máximo y Lourenço (2000), quienes también observaron que a menor concentración de extracto se produce un efecto

bioestimulador, pero a concentraciones elevadas el efecto es contrario (Fig. 3).

Figura 2

Respuesta morfogénica en brotes de *A. potatorum* in vitro con aplicación de extracto de *D. mexicana*.



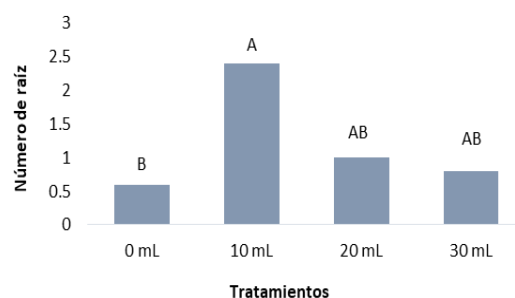
Nota: 1. Control, 2. 10 mL L⁻¹, 3. 20 mL L⁻¹ y 4. 30 mL L⁻¹.

También, Reigosa y Pazos-Malvido (2007) mencionaron que el tratamiento control y la dosis más concentrada de extracto a partir de *Ulex europaeus* L. presentaron valores negativos, relacionando dichas respuestas con el efecto nocivo que provocan los alcaloides, ácidos fenólicos y otros metabolitos como los que se encuentran en *Urtica dioica* y que provocaron una respuesta similar, según lo publicado por Grevsen *et al.* (2008) y Lapinskaya y Kopyt'Ko (2008). Al respecto, Reigosa y Pazos-Malvido (2007) señalaron que los ácidos fenólicos, así como otros metabolitos secundarios, tienen un efecto nocivo en el crecimiento vegetal. Por ello es posible que los metabolitos secundarios responsables de

dicha respuesta negativa en concentraciones mayores a 10 mL L⁻¹ sean flavonoides (de naturaleza fenólica), ya que son de los metabolitos secundarios más abundantes en *D. mexicana* (Cartaya y Reynaldo, 2001). Por lo tanto, el empleo de extracto a partir de *D. mexicana* a razón de 10 mL L⁻¹, puede ser un bioestimulador radicular en agricultura al provocar un efecto significativo y positivo (Tukey, $p = 0,05$) en la formación de raíces en *A. potatorum* con relación al tratamiento control (Figura 3).

Figura 3

Formación de raíz en brotes de *A. potatorum* in vitro con aplicación de extracto de *D. mexicana*.



Nota: los tratamientos que presentan la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p = 0,05$).

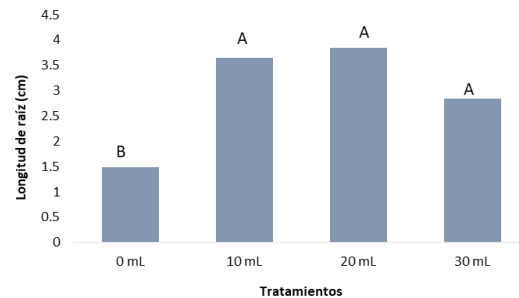
De la misma forma, para la variable longitud de raíz se tuvo un efecto significativo (Tukey, $p = 0,05$), 10, 20 y 30 mL L⁻¹ de extracto a partir de *D. mexicana* como bioestimulante en la longitud de raíces con relación al tratamiento control (Fig. 4). Sin embargo, con 30 mL L⁻¹ de

extracto no se aprecia variación significativa entre las tres concentraciones (Tukey, $p = 0,05$) en la longitud de raíz (Fig. 4), lo cual coincide nuevamente con lo publicado por Máximo y Lourenço (2000) que a bajas concentraciones de extracto hay un efecto bioestimulante, pero a concentraciones elevadas las respuestas se inhiben. Por lo tanto, estos resultados parecen indicar que las concentraciones de de 10 y 20 mL L⁻¹ de extracto hidroalcohólico de *D. mexicana* en *A. potatorum* tienden a favorecer la formación y longitud de raíces en *A. potatorum*, especie de crecimiento lento y, por ende, las mismas respuestas fisiológicas se podrían observar con mayor apreciación en otros modelos vegetales, o en menor tiempo.

Por otra parte, valdría la pena considerar que las respuestas fisiológicas negativas también podrían estar influenciadas por la posible presencia de etileno, el cual puede producirse como respuesta al estrés que los extractos y las condiciones *in vitro* logren causar como ha sucedido en otros modelos vegetales cultivados *in vitro* (Aguilar-Jiménez y Rodríguez-de-la-O, 2020).

Figura 4

Longitud de raíz en brotes de *A. potatorum* *in vitro* con aplicación de extracto de *D. mexicana*.



Nota: los tratamientos que presentan la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p = 0,05$).

Efecto de reguladores de crecimiento en brotes de *Agave potatorum* cultivados *in vitro*

Los resultados obtenidos indican que el regulador de crecimiento AIA generó más raíz de forma significativa (Tukey, $p = 0,05$) en comparación a los demás tratamientos y únicamente de forma similar en su longitud también al extracto vegetal a razón de 10 mL L⁻¹ (Fig. 5). La respuesta para AIA es la esperada, porque uno de sus efectos principales es favorecer el sistema radicular (Taiz y Zeiger, 2006), respuesta corroborada por Aguilar-Jiménez y Rodríguez-de-la-O (2018b) cultivando *Agave marmorata in vitro*. Por lo tanto, los resultados logrados con 10 mL L⁻¹ de extracto vegetal sugieren que puede emplearse como un bioestimulante para favorecer un buen sistema radicular, no sólo

en plantas *in vitro*, sino que también en cultivos tradicionales, por lo cual se recomienda realizar las pruebas necesarias ya sea en condiciones de campo abierto o en invernadero.

Con respecto al efecto de las citocininas, los resultados obtenidos coinciden con Enríquez-del Valle *et al.* (2005), Arzate-Fernández y Mejía-Franco (2016) y Arzate-Fernández *et al.* (2020), quienes mencionan que la formación de brotes en *Agave spp.*, estuvo determinada por la presencia de aquellas. Por lo tanto, las respuestas obtenidas permiten descartar que las concentraciones de extracto a partir de *D. mexicana* tengan algún efecto bioestimulante en la formación de brotes en *A. potatorum* bajo condiciones *in vitro*. También se descarta que tengan efecto en la formación de callos (desdiferenciación

celular) como se muestra en la Tabla 1 y Fig. 5, respuesta obtenida únicamente con BAP como evidenciado por Aguilar *et al.* (2018a) en *A. potatorum*. No obstante, las tres concentraciones de extracto vegetal causaron una coloración de color pardo en el medio de cultivo, así como tejidos ligeramente necrosados en la base de los brotes después de ocho semanas *in vitro*. La misma situación se encuentra cuando se emplean reguladores de crecimiento vegetal, cuyas respuestas pueden variar dependiendo de la especie trabajada (Hurtado y Merino, 2000); en este mismo trabajo los fitorreguladores ANA y KIN también mostraron un ligero obscurecimiento del medio y necrosis de tejidos basales (Fig. 5).

Cuadro 1.

Efecto de reguladores de crecimiento vegetal y concentraciones de extracto a partir de Discocnide mexicana en brotes in vitro de Agave potatorum Zucc.

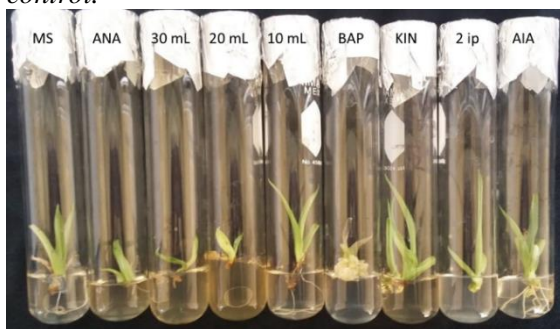
Tratamientos	Número de brotes	Longitud de brotes	Número de raíz	Longitud de raíz	Presencia de callo	Presencia de necrosis
MS	0 ± 0	5.8 ± 1.2a	0.3 ± 0.4c	1.7 ± 0.5b	----	----
MS + ANA	0 ± 0	1.3 ± 0.8b	0.2 ± 0.2c	0.2 ± 0.2c	----	Sí
MS + AIA	0 ± 0	6.7 ± 1.2a	4.4 ± 1.2a	4.6 ± 1.5a	----	----
MS + KIN	1.3 ± 0.7a 2.4	6.8 ± 0.7a	0 ± 0	0 ± 0	----	Sí
MS + BAP	± 0.8a	1.4 ± 0.5b	0 ± 0	0 ± 0	Sí	----
MS + 2IP	1.2 ± 0.4a	6.6 ± 1.3a	0 ± 0	0 ± 0	----	----
MS + 10 mL extracto	0 ± 0	6.9 ± 1.4a	2.3 ± 0.6b	3.3 ± 0.8a	----	Sí
MS + 20 mL extracto	0 ± 0	1.7 ± 0.6b	0.8 ± 0.3c	2.2 ± 0.9b	----	Sí

MS + 30 mL extracto	0 ± 0	1.3 ± 0.8b	0.4 ± 0.2c	2.0 ± 0.5b	----	Sí
---------------------	-------	------------	------------	------------	------	----

Nota: Respuestas morfológicas y fisiológicas de reguladores de crecimiento y concentraciones de extracto a partir de *D. mexicana* en brotes *in vitro* de *A. potatorum* Zucc. Los tratamientos que tienen la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p = 0,05$).

Figura 5

Efecto de reguladores de crecimiento vegetal y concentraciones de extracto a partir de *Discocnide mexicana* en brotes *in vitro* de *Agave potatorum* con relación a un tratamiento control.



CONCLUSIONES

El empleo de extracto hidroalcohólico a partir de *D. mexicana* en brotes *in vitro* de *A. potatorum*, tiene efecto bioestimulante para formación y longitud de raíces significativamente mejor (Tukey, $p = 0,05$) con relación al control y de forma similar a AIA cuando se emplea en concentración baja (10 mL L⁻¹). No obstante, el extracto a partir de *D. mexicana* en brotes *in vitro* de *A. potatorum*, no mostró tener efecto bioestimulante para formación de nuevos brotes y también no causó desdiferenciación celular; sin embargo, las tres concentraciones de extracto causan ligera

necrosis en la base de los brotes de *A. potatorum* cultivados.

Finalmente, el empleo de 10 y 20 mL L⁻¹ de extracto a partir de *D. mexicana*, también favorece el color y vigor en brotes de *A. potatorum* cultivados *in vitro*.

REFERENCIAS

- Aguilar, J. D., Rodríguez, De-la-O J. L. y Herrera, L. H. (2018a). Obtención de brotes *in vitro* en *Agave potatorum* Zucc. *Universo de la Tecnología*. 2(29): 5-7.
- Aguilar-Jiménez, D. y Rodríguez-de-la-O J. L. (2018b). Micropropagación y aclimatación de Maguey Pitzometl (*Agave marmorata* Roezl) en la Mixteca poblana. *Colomb. Biotec.* 20(2), 124-131.
- Aguilar-Jiménez, D. y Rodríguez-de-la-O, J. L. (2020). Efecto de nitrato de plata en la germinación *in vitro* de *Euphorbia nutans* Lag. *Biotecnología Vegetal*. 20(4): 338-350.
- Aguilar-Jiménez, D., Salgado-Bravo, R., Herrera-López, H., Piña Guillén, J. y González Vicente R. D. (2021). Bioestimulación del crecimiento vegetal a base de extractos de *Saccharum sp.*, *Solanum lycopersicum* y *Aloe vera*. *MIX-*

- TEC. 1(1): 1-16. Recuperado de: www.mixtec.utim.edu.mx.
- Arzate-Fernández, A. M. (2016). Regeneración de agave mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) a partir de embriones somáticos encapsulados. México. Revista Fitotecnia Mexicana. 39(4): 359-366.
- Arzate-Fernández, A. M., y Mejía-Franco, R. (2011). Capacidad embriogénica de callos inducidos en ejes embrionarios cigóticos de *Agave angustifolia* Haw. Revista Fitotecnia Mexicana. 34(2): 101-106.
- Cartaya, O. y Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. Cultivos tropicales. 22(2): 5-14.
- Enríquez-del Valle, J. R., Carrillo-Castañeda, G., Rodríguez-de la O, J. L. (2005). Sales inorgánicas y ácido indolbutírico en el enraizamiento in vitro de brotes de *Agave angustifolia*. Rev. Fitotec. Mex. 28(2): 175-178.
- Faraa, M. y Tahara, S. (1999). Fungal metabolismo de flavonoides y fitoalexinas relacionadas. Phytochemistry. 2: 1-33.
- Fernández, S., Llanos, F. y Cruz-López, C. S. (2021). Citotoxicidad y genotoxicidad del extracto acuoso de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre células meristemáticas de *Allium cepa*. Manglar. 18(2): 129-133.
- García, M. S., Gómez, M. F. C., Trejo, T. L. I. y Herrera, C. E. B. (2013). Factores de transcripción involucrados en respuestas moleculares de las plantas al estrés osmótico. Rev. Fitotec. Mex. 36(2): 105-115.
- García-Mendoza, A. J. (2007). Los agaves de México. Ciencias UNAM, México. pp: 14 – 23. ISSN (Versión impresa): 0187-6376.
- García-Mendoza, A. J. (2010). Revisión taxonómica del complejo *Agave potatorum* Zucc. (Agavaceae): nuevos taxa y neotipificación. Acta Botánica Mexicana. 71: 91-93.
- Grevsen, K., Fretté, X. y Christensen, L. (2008). Concentration and composition of flavonol glycosides and phenolic acids in aerial parts of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) are affected by nitrogen fertilization and by harvest time. European J. Hortic. Sci. 1(73): 20-27.
- Harborne, J. B. (1993). Phytochemical Dictionary. Handbook of bioactive compound from plants. Taylor and Francis, p. 791.
- Hurtado, M. D. V. y Merino, M. M. E. (2000). Cultivo de Tejidos Vegetales 5ª reimpresión. Trillas S.A. de C.V., México D.F.; ISBN: 968-24-2159-4.
- Lapinskaya, E. and Kopyt'Ko, Ya. (2008). Composition of the lipophilic fraction of

stinging nettle (*Urtica dioica* L. and *Urtica urens* L.) homeopathic matrix tinctures. *Pharmaceutical Chem. J.* 12(42): 699-702.

Máximo, P. y Lourenco, A. (2000). New quinolizidine alkaloids from *Ulex jussiaei*. *J. Natural Products.* 63(2): 201-204. DOI: 10.1021/np9903604. PMID: 10691709.

Ministerio de la Protección Social. *Vademecum Colombiano de Plantas Medicinales* (2008). Bogotá, Colombia: Arte y Sistemas Integrados. ISBN: 978958701997-1.

Murashige, T. y Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures, *Physiol Plant.* 15, 473-497.

Reigosa, M. y Pazos-Malvido, E. (2007). Phytotoxic effects of 21 plant secondary metabolites on *Arabidopsis thaliana* germination and root growth. *J. Chem. Ecol.* 7(33): 1456-1466.

Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal Volumen 2.* 3ra edición. Castellón de la Plana, España: Publicacions de la Universitat Jaume I. ISBN: 978-84-8021-601-2.