

Enraizamiento a partir de callos de *Jatropha cuneata* (Wiggins & Rollins) *in vitro*

Enraizamiento de milhos Jatropha cuneata (Wiggins & Rollins) in vitro

Paula Miriam Preciado Paredes

Universidad de Sonora, México

miriampreciado@hotmail.com

Gloria Irma Ayala Astorga

Universidad de Sonora, México

gayala@guayacan.uson.mx

Damián Martínez Heredia

Universidad de Sonora, México

dmartinez@guayacan.uson.mx

Resumen

El género *Jatropha* es importante por sus propiedades medicinales y se piensa que podría llegar a constituir una fuente de aceite con posibilidades de desplazar en un futuro a las fuentes de combustibles convencionales.

En el estado de Sonora existen varias especies de *Jatropha*, una de ellas es *Jatropha cuneata*, la cual necesita ser estudiada debido a que es una especie con gran potencial económico, ya que representa una posible alternativa para el desarrollo energético sostenible de biodiesel.

A través del cultivo *in vitro*, se realizan estudios con la planta *Jatropha cuneata*. Para ello se utilizan hojas de la planta, se desinfectan y siembran asépticamente en medio MS con el regulador de crecimiento ANA (0, 1, 1.5 y 2 mgL⁻¹) combinándolo con 0, 0.5 y 1 mgL⁻¹ de cinetina, lo cual produjo mayor formación de callos con 1 mgL⁻¹ de ambos reguladores de crecimiento. Los callos obtenidos se subcultivaron en medio de cultivo conteniendo las

combinaciones de ANA con cinetina: ANA en concentraciones de 0, 1, 1.5 y 2 mGL^{-1} y cinetina en las concentraciones de 0, 0.5, 1, 1.5 y 2 mGL^{-1} ; se obtuvo enraizamiento en los callos que estuvieron sometidos en medios de cultivo con las concentraciones de 1 y 1.5 mGL^{-1} de ANA. También se subcultivaron callos en 0, 1, 1.5, 2 y 2.5 mGL^{-1} de 2, 4-D y en 0, 1, 1.5, 2, y 2.5 mGL^{-1} del regulador de crecimiento de cinetina, no mostrando diferencias significativas con los callos sometidos en 1, 1.5 y 2 mGL^{-1} de 2, 4-D y cinetina.

Palabras clave: *Jatropha cuneata*, callos, ANA, cinetina, 2, 4-D.

Resumo

O género *Jatropha* é importante para as suas propriedades medicinais e acha que poderia finalmente ser uma fonte de potencial para deslocar óleo no futuro, para as fontes de combustível convencionais.

No estado de Sonora existem várias espécies de *Jatropha*, um é *cuneata* *Jatropha*, que precisa ser estudado porque é uma espécie com grande potencial económico, pois representa uma alternativa possível para o desenvolvimento de energia sustentável de biodiesel.

Através de estudos *in vitro* de cultura *cuneata* *Jatropha* planta elas são realizadas. Para esta folhas da planta são usados, desinfetados e assepticamente semeado em meio MS com regulador de crescimento ANA (0, 1, 1,5 e 2 mgL^{-1}) em combinação com 0, 0,5 e 1 mg L^{-1} de cinetina, que produzido mais formação do calo 1 mg L^{-1} de ambos os reguladores de crescimento. Os calos foram subcultivados em meio de cultura contendo combinações com cinetina ANA: ANA contendo 0, 1, 1,5 e 2 mgL^{-1} e cinetina concentrações de 0, 0,5, 1, 1,5 e 2 mgL^{-1} ; Enraizamento foi obtido calos foram submetidos a meios de cultura para concentrações de 1 e 1,5 mgL^{-1} ANA. Os calos foram subcultivados também 0, 1, 1,5, 2 e 2,5 mgL^{-1} 2, 4-D e 0, 1, 1,5, 2, 2,5 e MGL^{-1} regulador do crescimento cinetina, não mostra diferenças significativas calos submetidos a 1, 1,5 e 2 mgL^{-1} 2, 4-D e cinetina.

Palavras-chave: *Jatropha cuneata*, grãos, ANA, cinetina, 2, 4-D.

Fecha recepción: Noviembre 2014

Fecha aceptación: Mayo 2015

Introdução

Entre os principais tipos de vegetação são reconhecidos Euphorbiaceae México (Martinez-Gordillo et al., 2002). *Jatropha* é um género na família, com 175 espécies distribuídas na América, África e Índia (Rodríguez-Acosta et al., 2009). No México, existem 45 espécies de *Jatropha*. Ela cresce em uma variedade de zonas climáticas em regiões tropicais e subtropical e podem ser cultivadas em regiões com baixa precipitação e solos pobres (Renuga e Rajamanickam, 2014). No estado de Sonora encontramos sete espécies, algumas em áreas áridas e semi-áridas (Gil-Montano et al, 2010).

As culturas que são utilizados como produtores de petróleo para a conversão em biodiesel são: colza (*Brassica napus*) em os EUA, girassol (*Helianthus annus*) na Itália e no sul da França, da soja (*Glycine max*) nos Estados Unidos e no Brasil, e óleo de palma (*Elaeis guineensis*) na Malásia (Sujatha et al., 2005), mas tem a desvantagem de ser das regiões climas áridos, não poderia crescer e sobreviver em locais com aridez e seca, que não são uma alternativa adequada para terras marginais, enquanto as espécies de *Jatropha* são culturas que não competem com outras culturas e sobreviver e crescer em áreas pobres para a agricultura, tais como climas áridos e semi-secas de apoio; Também eles têm a vantagem de não ser consumido como alimento. A descrição acima é necessário realizar estudos com plantas que crescem e sobrevivem nessas condições.

A demanda por biodiesel criou um interesse crescente em encontrar novas espécies potencialmente gerar energia (Ricci et al., 2012). Sementes de *jatropha* estão produzindo energia. Atenção em óleos vegetais aumenta dia a suas aplicações em diferentes setores como cosméticos, alimentos e energia. *Jatropha* tem provado ser de grande importância devido ao seu potencial como um produtor de energia e agro-óleo de suas sementes podem ser utilizados na produção de biodiesel (Adriano-Anaya et al., 2014). Algumas partes desta planta provaram medicinal, como cascas que contêm taninos (Sharma e Kumar, 2008),

látex, contendo um alcalóide anticancerígeno jatrofina (Das Gupta-et al., 2011), e em geral todas as partes da planta ter sido utilizada em medicina veterinária tradicional, como as sementes que tenham sido utilizados para a artrite e gota, doenças e dermatomucosas seiva extrai partes da planta a alergias e inflamações, feridas . Partes de *Jatropha gossypifolia* foi usado em ambos os usos humano e veterinário (Felix-Silva et al., 2014A), e podem ser usados em tratamentos para a doença cardiovascular porque tem actividades antioxidantes e anticoagulantes sem mostrar efeitos tóxicos (Felix Silva et al., 2014b).

Estudos têm sido realizados com diferentes espécies de *Jatropha*, *J. curcas* sendo estudadas para conter o óleo que atenda aos requisitos para funcionar como biocombustível, e que tem a vantagem de não ser comestível conter substâncias tóxicas (Falasca e Ulberich de 2008) . Além disso, eles têm feito estudos com *J. gossypifolia*, porque algumas de suas peças são usadas em alguns países de formas diferentes: com as folhas fazem curas quando as pessoas têm dermatite, febre, erupções cutâneas e inflamações da pele, ulcerações em línguas bebês, dores de estômago e doenças venéreas (Balée, 1994). A decocção de água das folhas desta planta usada para banhar-se pessoas com infecções de pele, as sementes são purgante e utilizado em doenças tais como dores de cabeça, corpo e como purificador do sangue (Oduola et al., 2005) .

Micropropagação planta é um método alternativo para a obtenção de plantas a partir de tecidos diferentes, muitos laboratórios comerciais utilizar cultura de tecidos para rápida multiplicação de plantas, conservação de germoplasma, eliminação de agentes patogénicos, multiplicação genética, e para a produção de metabolitos secundários (Alonso e Perez-Jimenez, 2011). A cultura de tecidos é uma boa alternativa para a propagação de plantas de interesse econômico e medicinal por estas técnicas biotecnológicas é possível obter boas plantas que apreendem recursos adequados fornecidos por uma única planta mãe. As plantas de cultura de tecidos, juntamente com a engenharia genética são ferramentas amplamente utilizadas em biotecnologia vegetal para realizar vários estudos com muito promissor tanto plantas lenhosas e plantas ornamentais para interior e rápidos resultados de spread, no entanto geralmente investigação relacionadas com a produção de metabólitos secundários de plantas através de cultura *in vitro* têm-se centrado sobre o uso de tecido indiferenciado (suspensões de células de calos) (Pérez-Alonso e Jiménez, 2011). Callus,

suspensões de células, pêlos radiculares e multiplicação dos caules são utilizadas para estudos de micropropagação, bem como estudos de interações planta-poluentes sob condições assépticas (Couselo et al., 2012).

No estado de Sonora, existem algumas espécies de *Jatropha*, incluindo *Jatropha cuneata* Wigg. et Rollin, cujo nome comum é matacora (Velderrain-Algara, 2010) (Figura 1). Cuneata sementes *Jatropha* têm baixa porcentagem de germinação, de modo que o uso de técnicas de cultura de tecidos destinados a realizar estudos com a planta, bases de assento de poder e alcançar a sua produção *in vitro*.

Materiais e métodos

Médio

meio de cultura foi preparado por Murashige e Skoog (Murashige e Skoog, 1962), com água desionizada, o pH ajustado para 5,7, 3% de sacarose e 8,5 g de agar, reguladores de crescimento (NAA, cinetina adicionou e 2, 4-D) em diferentes concentrações foi aquecida com agitação e adicionou-se 10 para tubo de ensaio 20 mL de 25 x 150 mm, então esterilizados em autoclave STERILMATIC- modelo durante 15 minutos, 121 ° C e 15 libras de pressão. É frio e do meio de cultura começou a desinfetar as amostras da planta ea semeadura asséptica deixa na borda câmara de fluxo laminar Gard Hood.

A obtenção de explantes

O primeiro tentou acessar a germinar sementes coletadas na Bahia Kino, Sonora planta, ganhando 3% a porcentagem de germinação, porque é um percentual muito baixo de germinação foi decidido usar folhas de *Jatropha cuneata*, que foram coletadas de plantas cresce selvagem na estrada 93 km a Bahia de Kino, Sonora (Figura 1). As folhas tinham um tamanho aproximado de 1,0 cm de comprimento e 1,0 cm de largura; devido à contaminação caso contrário, continuei a ter material vegetativo para semeadura *in vitro*, assim caules de plantas selvagens foram cortadas e laboratório colocado em um recipiente com água da torneira; semana havia folhas novas (Figura 2), que foram tomadas amostra a ser inoculadas no meio de cultura.



Figura 1. *Jatropha cuneata* en Bahía de Kino, Sonora.



Figura 2. Tallos de *Jatropha cuneata* com as folhas que crescem no laboratório.

Desinfecção de amostras:

As folhas de plantas foram desinfectados com álcool etílico a 70-75% durante 1-3 minutos, contendo 0,5% de Tween 20, foram imersas numa solução de 10-15% de lixívia comercial durante 8-12 minutos, lavados em várias vezes com água deionizada estéril e, em seguida, procedeu à plantação sob condições assépticas sendo plantadas as folhas inteiras e cortes da folha em meios de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) estéril. Material de plantio e desinfectados assepticamente semeadas em meios de cultura, o ambiente asséptico foi fornecido pela câmara de fluxo laminar modelo Borda Gard Hood, que é previamente limpa. E a sementeira das amostras em meio MS com reguladores de crescimento α -naftaleno ácido acético (NAA) e cinetina em diferentes concentrações, procedeu-se à

incubação. Os explantes em meios nutrientes foram colocadas em condições de incubação: 25 ± 1 ° C de temperatura, 75% de humidade relativa, com 16 horas de luz.

Para estimular a indução do crescimento celular desorganizado (calos), foram usadas folhas de plantas, desinfectados e semeados em meio MS contendo o regulador de crescimento em concentrações ANA 0, 1, 1,5 e 2 mgL⁻¹ em combinação com cinetina concentrações de 0, 0,5 e 1 mgL⁻¹.

Para estimular calos organogênese obtida, meio MS foi preparada por adição de 0, 1, 1,5 e 2 da ANA mgL⁻¹ com 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2 mgL⁻¹ cinetina; calos obtidos foram subcultivadas e colocado sob condições de incubação anteriormente descritas. O calo em meio MS foram também transferidos para o ácido regulador de crescimento de 2, 4-diclorofenoxiacético ácido (2, 4-D): 0,1, 1,5, 2 e 2,5 mgL⁻¹ e cinetina (0, 1, 1,5, 2 e 2,5 mgL⁻¹).

O delineamento experimental

O delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Para determinar diferenças significativas análise de variância abordagem estávamos acostumados. Como existem diferenças significativas teste de LSD de meios comparação foi realizada, com um nível de significância de 95%. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo programa Statgraphic, Além disso, o Windows versão 1.5.

Resultados e discussão

As folhas da planta inoculada em meio MS com os reguladores de crescimento: ANA combinado com cinetina mostrou precoce de desenvolvimento do calo em meio contendo 1 mg L⁻¹ ANA com 1 MGL⁻¹ cinetina, em 8 dias a incubação continuou a crescer (Figura 3), e 30 dias de incubação mostraram um maior crescimento de calosidades (crescimento de células indiferenciadas), de boas características de proliferação e crescimento, que foi observada nas folhas plantadas nas outras combinações de reguladores crescimento. Os calos foram subcultivados em meio MS com ANA: 0, 1, 1,5 e 2 mgL⁻¹ com 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2 mgL⁻¹ cinetina, alcançando a presença de raízes em meio MS com 1 ANA mGL⁻¹ (Figura 4) aos 15 dias de incubação e 1,5 mgL⁻¹ (Figura 5) aos 20 dias de incubação, a

partir de calos a partir de hojas de plantas, quando não apresentando enraizamento cinetina estava presente no meio de cultura.

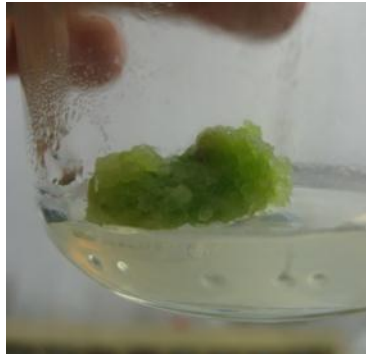


Figura 3. Callos obtenidos en MS con 1mGL^{-1} de ANA con 1mGL^{-1} de cinetina



Figura 4. Enraizamiento en callos de hojas de *J. cuneata* en el medio MS con 1mGL^{-1} de ANA.



Figura 5. Raíces en callos con 1.5 mGL^{-1} de ANA.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a presença de auxina é necessária para a indução e crescimento da massa celular como *Jatropha* folhas cuneata plantados em meio de cultura MS com ANA mostrou crescimento do calo em 30 dias de incubação. Ao transferir os calos obtidos MS meio nutriente com ANA e cinetina, o crescimento radicular foi observada em ANA: 1 e $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, Suarez e Salgado (2008) mencionam que a falta de organogênese a partir de calos frequentemente relatado em algumas espécies, especialmente aqueles que são recalcitrantes para propagação in vitro, no entanto, este estudo foi possível observar o desenvolvimento de raízes. Para o tecido propagação de cultura de *Jatropha* existem limitações, como o látex que contém, o que torna este tipo recalcitrante de propagação, no entanto, estudos in vitro com *Jatropha curcas* obtiveram bons resultados (Datta et al., 2007) . Renuga e Rajamanickam, (2014) desenvolveu um método eficiente para a propagação de *Jatropha curcas* in vitro a partir de segmentos de sistema nodal. Também com pinhão manso utilizado o nutriente meio MS com diferentes concentrações de sacarose, para a estimulação de embriões zigóticos de frutos imaturos, sendo que a concentração de 60 GL^{-1} de sacarose foi a melhor (Ferreira et al., 2008), enquanto em outro trabalho com o mesmo nível e com $22,2 \text{ uM}$ BAP eles conseguiram os melhores resultados para o crescimento de caules in vitro (Sujatha et al., 2006).

Neste estudo, a transferência de planta calo em meio MS contendo concentrações de 0, 1, 1,5, 2 e $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ regulador do crescimento de 2, 4-D, observou-se que as melhores respostas de crescimento estes calos foram obtidos nas concentrações de 1, 1,5 e 2 mg L^{-1} (Fig. 6), mostrando diferenças estatisticamente significativas com o aumento da concentração do regulador de crescimento (Tabela 1). Estes resultados concordam com os obtidos em *J. curcas*, em que a maior taxa de formação de calos foi induzida com 1,5 e 2 mg L^{-1} 2,4-D (Solis et al., 2013). Em estudos com *J. pinhão* de mais rápido crescimento do calo obtido com 2, 4-D (Coutino-Cortés et al., 2013). Neste trabalho, foi observado que aumentando a concentração do regulador de crescimento, isto é, com $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de 2, 4-D, diminuição da proliferação das células. Também foi observado um aumento da produção de calo, após 30 dias de incubação (Figura 7). Após este tempo, o crescimento e a produção de calo é diminuída, o que não é consistente com os resultados obtidos com *J. pinhão*, em que

diversas combinações de BA mgL⁻¹ 0,25 0,5 mgL⁻¹ AIB apresentados a formação de calo 21 dias de incubação (Bermejo-Cruz, 2010).

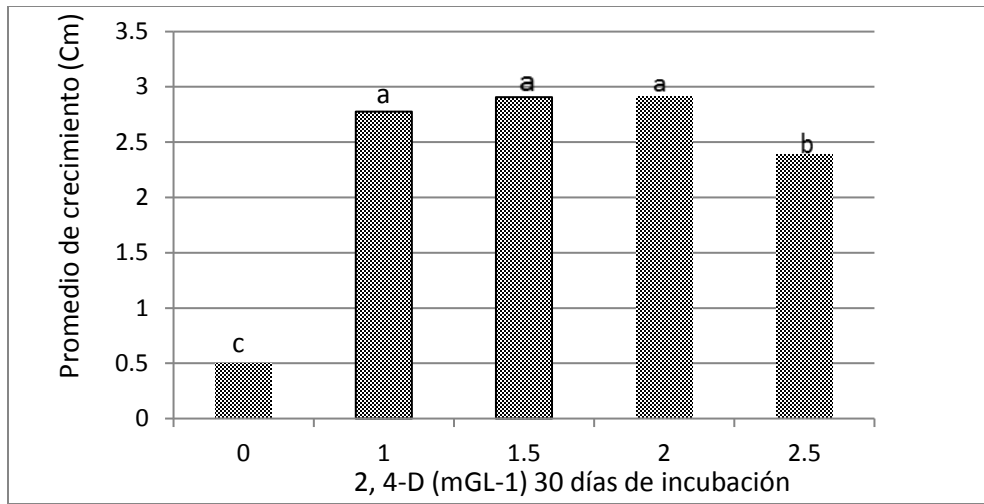


Figura 6. Promedio de crecimiento de callos en 0, 1, 1.5, 2.0 y 2.5 mGL⁻¹ de 2,4-D.

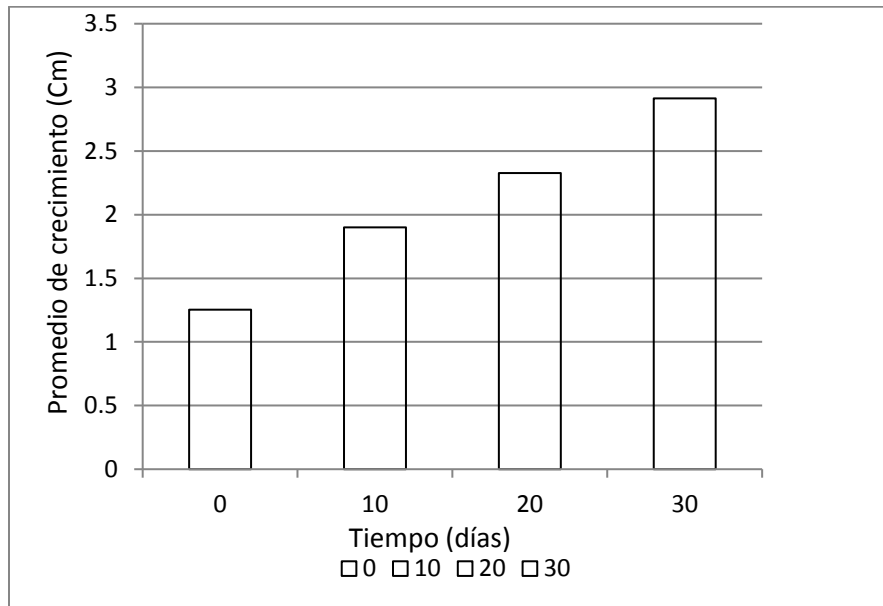


Figura 7. O crescimento médio dos grãos *J. cuneata* em 10, 20 e 30 dias de incubação com o regulador de crescimento de 2,4-D (2 mGL⁻¹).

Tabela 1. Efeitos de regulador de crescimento de 2, 4-D calo para quatro semanas de incubação.

2, 4-D (mgL ⁻¹)	Crecimiento (cm)	Diferencia estadística
0	0.5	c
1	2.77	a
1.5	2.90	a
2	2.91	a
2.5	2.38	eb

Os valores mobiliários não associados com a mesma letra são significativamente diferentes (P<0.05).

Os calos obtidos em meio MS com cinetina, em concentrações de 0, 1, 1,5, 2 e 2,5 mg L⁻¹, encontrar as melhores respostas em concentrações de 1,5 mg L⁻¹, quando se analisa os dados também subcultivadas estatisticamente não mostrou diferença significativa com calos submetidos a concentrações de 1 e 2 mg L⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos de regulador de crescimento cinetina calo *J. cuneata* aos 30 dias de incubação.

Cinetina (mGL ⁻¹)	Crecimiento (cm)	Diferencia estadística
0	0.5	c
1	2.54	ab
1.5	2.63	a
2	2.55	ab
2.5	2.26	b

Os valores mobiliários não associados com a mesma letra são significativamente diferentes (P<0.05).

Conclusões

As culturas que foram utilizadas como fontes de biodiesel, as culturas tradicionais têm sido utilizados na alimentação humana. Precisamos aumentar a investigação sobre plantas que potencialmente poderiam ser usadas como culturas para a produção de biodiesel e que não competem com as culturas que são usados como fonte de alimento para os seres humanos. Os resultados deste estudo mostram que a *Jatropha cuneata* é capaz de produzir resultados favoráveis em condições *in vitro*, por isso é necessário prosseguir os estudos deste tipo, porque são plantas que sobrevivem em condições climáticas adversas para outras culturas, podem utilizado em áreas marginais e com a vantagem de que eles não competem com as plantas que são colhidas para a produção de alimentos. *Cuneata Jatropha* pode ser usado por seu potencial para produzir biodiesel.

Bibliografía

- Adriano-Anaya, M. L., Gómez-Pérez, J. A., Ruiz-González, S., Vásquez-Ovando, J. A., Salvador-Figueroa, M. y Ovando-Medina, I. (2014). Oleosomas de semillas de *Jatropha curcas* L. como estimadores de diversidad en poblaciones del Sur de México. *Grasas Aceites* 65 (3).
- Balee, W. (1994). *Footprints of the forest, ka'apor ethnobotany-the historical ecology of plant utilization by an Amazonian people*. Columbia University Press, New York.
- Bermejo-Cruz, M. E. G. (2010). *Cultivo in vitro de Jatropha curcas para la obtención de curcina*. Tesis Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Departamento de Biotecnología. Yautepec de Zaragoza, Morelos, México.
- Carneros, E., Zavattieri, A., Hernández, I., Toribio, M. y Celestino, C. (2005). Inducción de masas preembriogénicas en embriones cigóticos de pino piñonero. Congreso Forestal Nacional. Sociedad Española de Ciencias Forestales (SECF), pp. 202. Zaragoza, España.
- Celestino, C., I. Hernández, E. Carneros, D. López-Vela, J. Jiménez, J. Alegre, A. Vieira-

- Peixe, A. Zavattieri y M. Toribio (2007). La embriogénesis somática como vía de regeneración clonal de especies forestales mediterráneas. *Rev. de Ciências Agrárias*, Vol. 30, No.1, Lisboa, Portugal.
- Collado, R., Barbón, R, Agramonte, D., Jiménez-Terry, F., Pérez, M. y Gutiérrez, O. (2006). Embriogénesis somática directa en *Swietenia macrophylla* King. *Biotecnología Vegetal*, Vol. 6, No. 2, pp. 67-71.
- Couselo, J. L., Corredoira, E., Vieitez. A. M. y Ballester, A. (2012). Plant tissue culture of fast-growing trees for phytoremediation research. *Methods Mol Biol.* 877: 247-63.
- Coutiño-Cortés, A. G.; Ovando-Medina, I.; Adriano-Anaya, M. L. Salvador-Figueroa, M. y Ruiz-González, S. (2013). Organogénesis de *Jatropha curcas* a partir de plantas adultas: Estudio de fitohormonas y factores físico-químicos. *Quehacer Científico en Chiapas* 8 (2) 2013, pp. 3-11.
- Das, Gupta D., Haque, E., Islam, N., Rahman, N., Hasan, M. y Shibib, B. A. (2011). Alkaloid and steroid from the stem bark of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *J. Pharm. Sci.* 10(1), pp. 9-11.
- Horsten S, Van den Berg A., Kettens-van den Bosch J, Leeftang B, Labadie R. (1996). Cyclogossine A: a novel cyclic heptapeptide isolated from the latex of *Jatropha gossypifolia*. *Planta Médica*; 62, pp.46-50.
- Félix-Silva J., Giordiani, R. B., Da Silva, A. A., Zuccoloto S. M. y Fernandes-Pedrosa, M. de F. (2014). *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of This Medicinal Plant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Hindawi Publishing Corporation. Vol 2014, pp. 1-32.
- Félix-Silva, J., Souza, T., Gomes-Camara, R. B. Cabral, B. Silva-Junior, A. A., Rebecchi, I. M., Zuccolotto, S. M. Oliviera-Rocha, H. A. y Fernandez-Pedrosa, M. de F. (2014). In vitro anticoagulant and antioxidant activities of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) leaves aiming therapeutical applications. *BMC Complement Altern*

Med. 20; 14, p. 405.

Ferreira, N. C. Pasqual, M. Dos Santos, D. N. Custódio, T. N. y Gomes de Araujo, A. (2008). Diferentes suplementos no cultivo in vitro de embriões de pinhão-manso. *Pesq. Agropec. Bras.* Brasília, Vol. 43, No.1, pp. 9-14.

Martínez-Gordillo, M., Jiménez-Ramírez, J. Cruz-Durán, R., Juárez-Arriaga, E., García, R., Cervantes, A. y Mejía-Hernández, R. (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 73(2), pp. 155-281.

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

Oduoal, T.; Adeosun G. O.; Oduola T. A., Avwioro G. O. y Oyeniyi M. A. (2005). Mechanism of action of jatropha gossypifolia stem latex as a haemostatic agent. *Eur J Gen Med* 2005; 2(4), pp.140-143.

Pérez-Alonso, N y Jiménez E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal.* Vol. 11, No. 4: pp. 195-211.

Renuga C. y Rajamanickam C. (2014). Efficient in vitro regeneration of biodiesel plant *Jatropha curcas* .L. *Journal of Plant & Agriculture Res.* Vol. 1. Issue 1, pp. 1-6.

Robineau, L. (1991). Towards a Caribbean pharmacopoeia, TRAMIL 4 Workshop: Scientific Research and Popular Use of Medical plants in the Caribbean. Santo Domingo, DO: Enda-caribe UNAH.

Rodríguez-Acosta, M.; Vega-Flores, K. De Gante Cabrera V. H. (2009). Distribución del género *jatropha* l. (euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica.* ISSN 1405-2768. Núm. 28, pp. 37-48.

Rout, G. R.; A. Mohapatra, S. Mohan Jain. (2006). Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances.* 24,

pp. 531–560.

- Solís-Ramos, L. y Miranda-Carballo, L. y Valdez-Melara, M. (2013). Establishment of cell suspension cultures of two Costa Rican *Jatropha* species (Euphorbiaceae). *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 61 (3), pp. 1095-1107.
- Suárez, I. E. y Salgado, J. A. (2008). In vitro Propagation of *Stevia rebaudiana* BERT. (Asteraceae-Eupatorieae). *Temas Agrarios*. Vol. 13:(1), pp. 40-48.
- Velderrain-Algara, L. A., León de la Luz, J. L. y Maya-Delgado, Y. (2010). Polibotánica. Estructura de la vegetación en montículos de la Bahía de la Paz, Baja California Sur, México. pp. 67-90, ISSN 1405-2768.
- Zhang, B.H. (2000). Regulation of plant growth regulators on cotton somatic embryogenesis and plant regeneration. *Biochemistry* 39: 1567.