

ARTÍCULO ORIGINAL

LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO Y LA LUZ COMO INDUCTORES DE CALLOS EN HOJAS DE *Vitis vinifera* L. VARIEDAD "ITALIA"

GROWTH REGULATORS AND LIGHT AS INDUCERS OF CALLUS IN LEAVES OF *Vitis vinifera* L. "ITALY" VARIETY

Julio Chico-Ruíz^{1*}; Lisi Cerna-Rebaza²; Róger Veneros-Terrones¹, Alfredo León-Alayo¹,
Claudia Díaz-Fernández¹, Luis Gonzales-Llontop³, Joseph Campos-Ruíz⁴

¹Laboratorio de Fisiología y Cultivo Celulares. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo – PERÚ. jchico@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0002-7287-321X>

²Laboratorio de Biología. American School. Trujillo-PERÚ.

³Laboratorio de Ciencias. Universidad Santiago Antúnez de Mayolo. Moyobamba-PERÚ.

⁴Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca-PERÚ.

RESUMEN

Vitis vinifera, es un cultivo de importancia económica e industrial en nuestro país y en especial la región La Libertad. Comúnmente es propagada por esquejes para establecer una plantación clonal, con los inconvenientes de su sanidad y su baja producción. Por ello es necesario sanearlas y luego propagarlas in vitro masivamente por la vía asexual, y una alternativa es la embriogénesis somática, pero para ello es necesario, primero, establecer un protocolo para la inducción de callos que nos permita, posteriormente, desarrollar varias técnicas alternativas de propagación in vitro. Por lo expuesto es que evaluamos diferentes reguladores del crecimiento y fuente luminosa para inducir callos en hojas de vid. Se utilizó ANA, BAP y 2,4-D como reguladores del crecimiento y el medio basal de Murashige y Skoog (MS, a la mitad de su concentración); éste a su vez fue suplementado con vitaminas, sacarosa (3%), fitagel (0.3%) y el pH se estableció entre 5.5 y 6.0. Los resultados muestran que el 2,4-D (5 uM) es un eficiente inductor de callos a los 15 días en presencia o en ausencia de luz. Las concentraciones de ANA y BAP (5 uM) inducen, en ausencia de luz, la formación de raíces (organogénesis) en los callos y la luz presenta un efecto variable. Se concluye que la auxina 2,4-D es un buen inductor de callos en hojas de vid y la luz no afecta el proceso de inducción.

Palabras claves: *Vitis vinifera*, micropropagación, reguladores del crecimiento, luz, callos.

© Los autores. Este artículo es de acceso abierto. Es publicado por la Revista Sagasteguiana del Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú; y distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) que permite Compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato), Adaptar (remezclar, transformar y construir a partir del material para cualquier propósito, incluso comercialmente) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>).



ABSTRACT

Vitis vinifera is a crop of economic and industrial importance in our country and especially the La Libertad region. It is commonly propagated by cuttings to establish a clonal plantation, with the drawbacks of its health and low production. For this reason, it is necessary to clean them and then propagate them massively in vitro by the asexual route, and an alternative is somatic embryogenesis, but for this it is necessary, first, to establish a protocol for the induction of callus that allows us, later, to develop several alternative techniques in vitro propagation. For this reason, we evaluated different growth regulators and light sources to induce callus in vine leaves. ANA, BAP and 2,4-D were used as growth regulators and Murashige and Skoog basal medium (MS, at half its concentration); This in turn was supplemented with vitamins, sucrose (3%), phytigel (0.3%) and the pH was established between 5.5 and 6.0. The results show that 2,4-D (5 µM) is an efficient callus inducer after 15 days in the presence or absence of light. The concentrations of ANA and BAP (5 µM) induce, in the absence of light, the formation of roots (organogenesis) in the callus and the light has a variable effect. It is concluded that 2,4-D auxin is a good inducer of callus in vine leaves and light does not affect the induction process.

Keywords: *Vitis vinifera*, micropropagation, growth regulators, light, callus.

Historial del artículo: Recibido: 10 de agosto de 2023. Aceptado: 30 de noviembre de 2023. Publicado online: 30 de diciembre de 2023.

Citación: Chico-Ruíz, J; Cerna-Rebaza, L.; Veneros-Terrones R.; León-Alayo A.; Díaz-Fernández C.; Gonzales-Llontop L. & J. Campos-Ruíz. 2023. Los reguladores del crecimiento y la luz como inductores de callos en hojas de *Vitis vinifera* L. variedad "Italia". *Sagasteguiana* 11(2): 111-122.

INTRODUCCIÓN

La vid, *Vitis vinifera*, es un cultivo de importancia económica e industrial en muchas regiones templadas de América. Es originaria de las regiones establecidas en el Asia Menor y fue traída al Perú desde México en los siglos XVII y XVIII (Romero, 2017) y su adaptabilidad permitió que sea el frutal más industrializado y vendido en nuestro país, siendo Ica el mayor productor a nivel nacional (Cáceres & Julca, 2018; Compendio, 2000; INIA, 1987).

Comúnmente la vid es propagada por esquejes para establecer una plantación clonal, resultando un incremento en la uniformidad y producción, pero, lamentablemente los virus, bacterias y otros microorganismos son transmitidos en este tipo de propagación, lo cual disminuye, además de las mutaciones que en ellas pueden ocurrir con el tiempo, la producción de los viñedos. Por eso es necesario sanearlas y luego propagarlas masivamente. También la productividad de la vid puede ser incrementada a través de un programa de mejoramiento, pero ello consume tiempo por su complejidad y larga fase juvenil (MINAGRI, 2016; Hartman & Kester, 1994; Masías, 1993). Los métodos de selección y mejora vegetal se han visto potenciados con la utilización del cultivo in vitro, tecnología que muestra su mejor campo de aplicación no solo en la obtención de clones fijos, tolerantes a diferentes agentes ambientales y productivos, sino también en los estudios bioquímicos y genéticos en plantas. Una de estas técnicas de cultivo in vitro es la inducción de callos (Melyan et al., 2015; Bhojwani, 1990).

La obtención de callos in vitro puede ser con fines comerciales como de investigación en técnicas de micropropagación, embriogénesis somática, eliminación de virus, recuperación de embriones, producción de haploides, manipulación de la ploidía, almacenamiento y transporte del germoplasma, etc. El proceso de inducción de callos es a partir del aislamiento de órganos o tejidos diferenciados, los cuales posteriormente son nuevamente inducidos a una desdiferenciación celular, presentando estas células una proliferación continua acelerada y de apariencia desorganizada, que

da origen a una masa amorfa de tejido. Esta masa celular puede presentar diferentes tipos morfológicos, los cuales varían según la apariencia externa, textura y composición celular. Durante el proceso de desdiferenciación, cada punto activo de crecimiento puede producir una plántula y consecuentemente un callo puede regenerar muchas plantas. Esto da ventaja para aislar los diferentes vástagos o plántulas del callo en orden de incrementar su eficiencia. Los callos pueden ser iniciados de varios órganos de plantas, pero las condiciones para un crecimiento saludable de un callo durante una serie de subcultivos no han sido establecidas aún, especialmente en *Vitis*. (Fehér, 2019; Barceló, 1995; Torné & Santos, 1990; Bhojwani & Razdan, 1983;)

Los reguladores del crecimiento son importantes en el proceso de inducción de callos, en particular las auxinas, las cuales son muy usadas en la iniciación y mantenimiento del cultivo de callos como el ácido indol-3-acético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) en concentraciones que oscilan de 0.1 a 10 mg/l, encontrándose una concentración óptima del regulador para la inducción y mantenimiento del callo, según la especie (Zhai et al., 2021; Bartel, 1997). Las citoquininas promueven la división y diferenciación celular afectando varios procesos en el desarrollo de las plantas, como el retraso de la senescencia, la movilización de nutrientes, la estimulación de la expansión de los cotiledones, así como la inducción de la formación de brotes en cultivo de tejidos vegetales, etc. La estimulación de la citocinesis es una de las propiedades más importantes permitiendo la proliferación celular en la inducción de callos (Hu & Shani, 2023; Simón -Martínez, 2002; Salisbury & Ross, 1994).

El desarrollo de las plantas está regulado por factores ambientales y genéticos. En condiciones naturales la luz regula la continua organización, movilización, utilización y expansión del crecimiento. De la captura de los fotones por los vegetales, se derivan tres tipos de efectos: 1. fotoenergéticos (reacciones metabólicas o transformaciones químicas) 2. fotocibernéticos (altera estructura para controlar el metabolismo, crecimiento y la diferenciación) 3. fotodestructivos (a muy altas irradiancias) (de Wit et al., 2016; Gil-Martínez, 1995)

Algunas experiencias revisadas son los trabajos de Bertini et al. (2019), quienes regeneraron plantas a partir de un callo-embriogénico derivado de protoplastos de las variedades Garganega y Sangiovese; Ozden & Karaasian (2011), trabajaron con la var. bogazkere y utilizó BAP para inducir callos y analizar posibles metabolitos que se manifesten, también Naor et al. (2011), trabajaron con segmentos nodales de la var. Chardonnay para obtener callos según la posición del explante para ello utilizó 1.1 ppm ANA y 0.45 ppm de BAP, encontrando que el segmento nodal invertido producía mayor número de callos. Cetin (2014) obtuvo callos de *Vitis* a partir de peciolos de las hojas, ellos se formaron a las 6 semanas en el medio B5 suplementado con 0.5 ppm de BAP y 0.5 ppm de AIA en el medio B5, posteriormente se irradiaron con UV-C para obtener un metabolito secundario; Jona & Webb (1978), indujeron callos en peciolos de *Vitis*, con luz continua y ANA (1 mg/l) y usando brotes axilares obtuvo callos con BAP (10^{-7} – 10^{-6} M).

Con lo expuesto, es necesario buscar alternativas para obtener plántulas in vitro y ello puede ser a través de los callos in vitro por lo cual evaluamos el efecto de la luz y los reguladores del crecimiento (ANA, BAP y 2,4-D) en la inducción de callos a partir de hojas jóvenes de vid. Con este estudio se busca establecer condiciones para una propagación en serie de callos, examinar su morfogénesis y promover, posteriormente, la proliferación de yemas en un cultivo "in vitro" o también inducir la presencia de embriones somáticos en los mismos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las hojas de *V. vinifera* var. italia, fueron obtenidas de plántulas in vitro, de 20 días de edad (Fig. 1a). Para el cultivo in vitro se preparó el medio nutritivo de Murashige & Skoog, MS (1962); reducido a la mitad de su concentración, (MS, $\frac{1}{2}$) cuya composición es una mezcla de micro y

macronutrientes, éste a su vez fue suplementado con vitaminas, sacarosa (3%), fitagel (0.3%), y reguladores de crecimiento. El pH se estableció entre 5.5 - 6.0. Posteriormente el medio sólido se autoclavó a 1 atmósfera de presión por treinta minutos.

La introducción de los explantes se realizó en la cámara de siembra en condiciones asépticas. Los explantes se cortaron en secciones aproximadas de 0.5 cm por lado y se introdujeron a los medios de cultivo que tenían las siguientes concentraciones (tratamientos):

T1 (2,4-D: 1uM)	T2 (2,4-D: 5uM)
T3 (ANA: 1uM)	T4 (ANA: 5uM)
T5 (BAP: 1uM)	T6 (BAP: 5uM)

Los tratamientos fueron separados en grupos: (A) que recibieron iluminación artificial (luz blanca de fluorescente, 40 W) y fotoperiodo de 16:8 y a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y (B) con ausencia de luz y a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. El tiempo de incubación para ambos grupos fue de 45 días. Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento y grupo, y con un tamaño de muestra heterogénea de 118 a 140 explantes para cada tratamiento. Los frascos se rotularon con fecha y tratamiento para su respectiva evaluación que se realizó cada 15 días.

Las variables que se analizaron fueron diámetro (mm), peso (mg), color, tipo (friable y compacto), presencia y ausencia de callos en la luz y oscuridad. Se realizaron pruebas estadísticas como el ANAVA, test de contingencia (prueba del χ^2) con una probabilidad de 0.05.

RESULTADOS

En presencia de luz, el 2,4-D induce callos en hojas de *V. vinifera* a los 15 días (32%) cuando la concentración es de $5\mu\text{M}$ (T2) y a los 45 días ambas T1 y T2 han inducidos callos en 45% y 53%, respectivamente. El regulador del crecimiento ANA recién a los 30 días comienza a inducir callos, así T3 comienza induciendo un 30% y termina con un 57%; y T4 a los 45 días sólo ha inducido callos en el 32% de los explantes. El BAP no pudo inducir callos. Si hay diferencias significativas entre los tratamientos a los 45 días cuando se aplica ANAVA con $p < 0.05$ (Tabla 1). En lo que respecta al peso de los callos, cuando se utiliza 2,4-D como inductor, este se mantiene con el tiempo, y con ANA es variable. Para el diámetro de los callos, sus medidas van en aumento para todos los tratamientos, siendo su valor extremo de 8 mm en T2 (2,4-D, $5\mu\text{M}$) según se observa en la Tabla 1.

En ausencia de luz, los callos inducidos en mayor porcentaje (64%) fue con T2 (2,4-D, $5\mu\text{M}$), pero los callos aparecen a los 15 días en T1 y T2. En cambio, al utilizar ANA y BAP los callos recién emergen a los 30 días; T4 ($5\mu\text{M}$) induce callos en un 57%, mucho más que T3 (45%). Resultados similares se observa con BAP, siendo $5\mu\text{M}$ la que induce un mayor porcentaje de callos (47%). No hay diferencias significativas cuando el tratamiento es con 2,4-D, pero si hay diferencias con los demás tratamientos, al evaluar los datos en ANAVA ($p < 0.05$). (Tabla 2). El peso de los callos no aumenta significativamente, para el 2,4-D, cuando está frente a la luz. A los 30 días recién se observan callos con ANA y BAP, su peso aumenta en 15 días. El diámetro aumenta con el tiempo de cultivo, siendo mayor el de 9 mm con T2 ($5\mu\text{M}$) y T1 ($1\mu\text{M}$) con 8 mm según se observa en la Tabla 2.

En resumen, los explantes en oscuridad producen el mayor porcentaje de callos inducidos a los 15 días con 2,4-D (T1= 23% y T2=23%) y también presentan los más altos porcentajes a los 45 días (T1=60% y T2=64%). Con BAP y ANA aparecen callos recién a los 30 días y en T4 y T6 se observa presencia de raíces, un caso de organogénesis (Fig. 1f). No se observa variación en los pesos de los callos cuando están permanentemente frente a una fuente luminosa o cuando están ausentes de ella. En cambio, los diámetros de los callos son mayores en oscuridad, logrando las máximas medidas para T1 y T2.

La inducción del crecimiento del callo en un medio de cultivo es lenta, y solo una pequeña porción de células están en contacto con el medio observándose a los 15 días en los bordes por efecto del tratamiento con reguladores del crecimiento (Fig. 1b). Los callos inducidos con ANA, BAP y 2,4-D presentan diferentes formas celulares: células alargadas y asimétricas, con pocos cloroplastos y con presencia de almidón, esto se pudo observar a los 30 días (Fig. 1d,e).

Los callos (Fig. 1c) no fueron homogéneos en color y textura, formándose regiones de color crema, marrón y verde. Los callos verdes permanecen relativamente pequeños y si la incubación sigue, el callo se vuelve crema o blanco. Así tenemos que todos ellos se inician tomando un color hialino y así se mantienen hasta los 45 días, T3 y T4 (con luz) y T4, T5 y T6 en ausencia de luz. En cambio, con los demás tratamientos cambian su color a crema hasta tomar un color marrón final (Tabla 3). Sobre los tipos de callos, en todos los tratamientos se observaron del tipo friable y así se mantuvieron hasta los 45 días, siendo T2 el de mayor porcentaje, con luz y T1 y T3 en ausencia de luz; en cambio T2 (luz) T2, T4 (oscuridad) presentan callos del tipo compacto y en ausencia de luz, T4 y T6 indujeron la formación de raíces.

Para establecer si la luz intervino en la inducción de callos en hojas de la var. Italia aplicamos la prueba de Chi cuadrado (Tabla 5) de la cual confirma que la fuente luminosa no es indispensable para inducir callos, pero si se obtiene un mayor número de callos en ausencia de ella.

Tabla 1. Evaluación de los callos inducidos, cada 15 días, en hojas de *V. vinifera* variedad "Italia", utilizando como inductores ANA, BAP y 2,4-D y en presencia de luz.

Tratamiento	NE	15 días			30 días			45 días		
		I (%)	P(mg)	D(mm)	I (%)	P(mg)	D(mm)	I (%)	P (mg)	D(mm)
T1	390	0	0	0	22	0.094	3	45 ^a	0.0278 ^a	7 ^a
T2	360	32	0.081	2	53	0.0173	6	53 ^b	0.0294 ^b	8 ^a
T3	360	0	0	0	30	0.01	2	57 ^c	0.024 ^c	4 ^b
T4	360	0	0	0	0	0	0	32 ^d	0.092 ^d	0
T5	360	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T6	360	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Las letras diferentes indican diferencias significativas cuando se aplica ANAVA, p< 0.05

NE: Número de explantes

I: porcentaje de callos inducidos

P: peso promedio de los callos

D: diámetro de los callos

Tabla 2. Evaluación de los callos inducidos, cada 15 días, en hojas de *V. vinifera* variedad "Italia", utilizando como sustancias inductoras ANA, BAP y 2,4-D y en ausencia de luz.

T	NE	15 días			30 días			45 días		
		(%)	(mg)	(mm)	(%)	(mg)	(mm)	(%)	(mg)	(mm)
T1	420	23	0.0081	2	51	0.094	4	60 ^a	0.0278 ^a	8 ^a
T2	354	23	0.097	2	48	0.0171	6	64 ^a	0.0280 ^a	9 ^a
T3	360	0	0	0	22	0.0129	2	45 ^b	0.0196 ^b	4 ^b
T4	360	0	0	0	27	0.0095	2	57 ^c	0.0224 ^c	5 ^b
T5	360	0	0	0	17	0.088	2	35 ^d	0.0170 ^d	3 ^c
T6	360	0	0	0	25	0.00753	1	47 ^e	0.0218 ^e	2 ^c

Las letras diferentes indican diferencias significativas cuando se aplica ANAVA, $p < 0.05$

T: Tratamientos

NE: Número de explantes

I: porcentaje de callos inducidos

P: peso promedio de los callos

D: diámetro de los callos

Tabla 3. Características de los callos inducidos en hojas de *V. vinifera* variedad "Italia", según tipo y color. La evaluación es cada 15 días y en presencia o en ausencia de luz.

Tratamiento		COLOR			TIPO Friable	OBSERVACIONES Compacto
		15	Días 30	45		
L U Z	T1	B	C	M	+	-
	T2	B	B	C	+	+
	T3	B	B	B	+	-
	T4	B	B	B	+	-
	T5	-	-	-	-	-
	T6	-	-	-	-	-
O S C U R I D A D	T1	B	C	M	+	-
	T2	B	C	M	+	+
	T3	B	B	C	+	-
	T4	B	B	B	+	+
	T5	B	B	B	+	-
	T6	B	B	B	+	-

B: callo hialino

C: callo de color crema

M: callo de color marrón

Tabla 4. Prueba de Chi cuadrado para los callos inducidos en presencia o ausencia de luz. Los explantes procedieron de hojas de *V. vinifera* variedad "Italia".

Factor	Presencia de callos		Total callos
	LUZ	OSCURIDAD	
Promedio Callos inducidos	123	228	351
Promedio de Callos no inducidos	237	132	369
Total	360	360	720

Ho: En presencia de luz se inducen menor número de callos que en ausencia de luz

Ha: En ausencia de luz se inducen mayor número de callos que en presencia de luz

$X^2_w = 24.067$

$X^2_{tab.} = 2.617$

$X^2_w > X^2_{tab.}$

* El promedio del número de callos es mayor en ausencia que en presencia de luz.

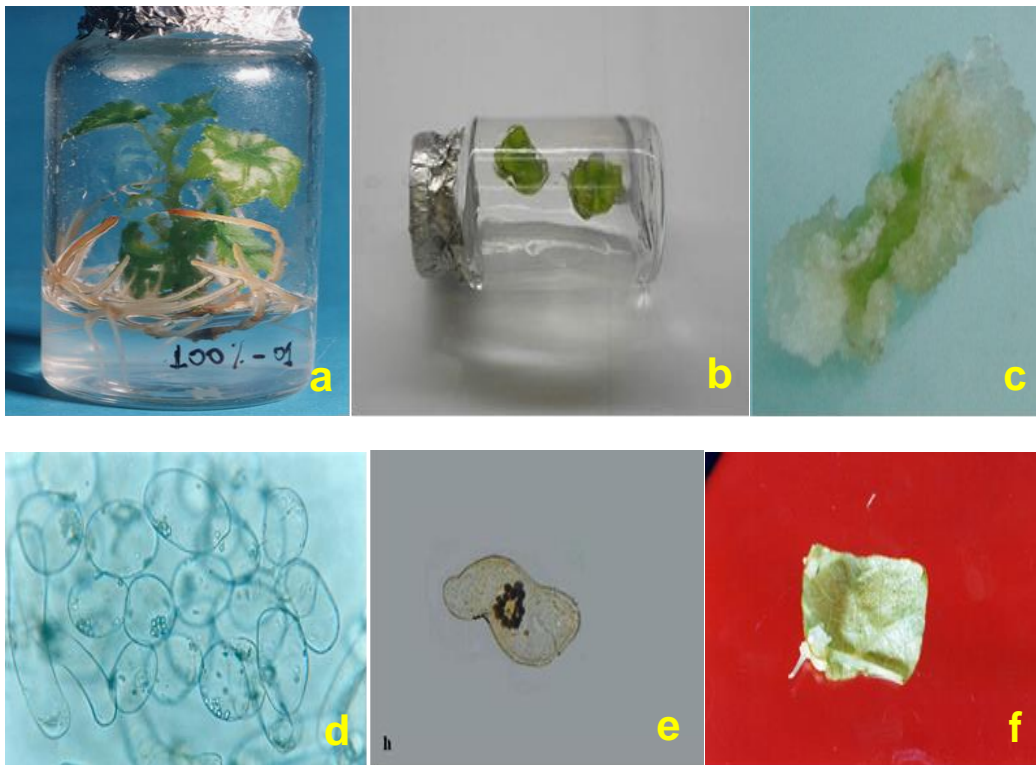


Fig. 1. (a) Plántula in vitro de *V. vinifera*. (b) Hoja con bordes sinuosos, verde y de forma cóncava que indican el inicio del proceso de inducción de callos. La sustancia inductora es el 2,4-D (5 μ M) en presencia de luz y a los 15 días de iniciado la experiencia. (c) Callo friable hialino. (d) Células del callo observadas al microscopio 400x. (e) Célula coloreada con lugol para observar presencia de almidón en los cloroplastos reunidos alrededor del núcleo. (f) Presencia de raíz (organogénesis) cuando el tratamiento es con ANA y BAP.

DISCUSIÓN

Los callos inducidos son masas celulares amorfas hialinas, con o sin luz, cambiando a un color amarillo a los 45 días quizás debido a una exposición prolongada a los tratamientos con reguladores del crecimiento, el tiempo de exposición, la diversidad celular en el tejido, la edad de esos cultivos, composición del medio, etc. (Tabla 3). El tipo o grado de pigmentación está marcadamente influenciado por factores nutricionales y ambientales y se manifiesta por la presencia de clorofila, caroteno, antocianinas, etc. (Adil et al., 2019; Chico-Ruíz, 2003).

La morfología del callo observado puede describirse como friable, cuando las células están asociadas unas a otras de manera relativamente laxa, o compacta, si las células se agregan más densamente, (Chico-Ruíz, 2003; Kumar et al., 2015), en la experiencia se observaron un mayor número de callos friables (Tabla 3, fig. 1c) en su mayoría constituidos por masas de grandes células vacuolizadas, cubiertas de zonas superficiales de pequeñas células meristemáticas, que producen hacia dentro masa de callo y hacia fuera yemas de raíz o de tallo o embriones (Taranto et al., 2017). Esto se observó al inducir los callos con los reguladores del crecimiento ANA y BAP a una concentración de 5 μM en ausencia de luz (fig. 1f). Además el mantenimiento de estas células se ven influenciadas por distintos cambios que se dan en fases del ciclo de crecimiento, estas fases son: de latencia, división celular, fase estacionaria (Rodrigues et al., 2017); por efecto de los reguladores de crecimiento como ANA, BAP y 2,4-D, finalizando con el aumento al máximo de su masa celular, siendo las auxinas ANA y 2,4-D en concentraciones de 1 μM y 5 μM las que permiten una mayor proliferación celular, evidenciándose esto en el diámetro y peso promedio muy superior al ocasionada por las citocininas (Tabla 1, 2, 3).

Las auxinas, en esta experiencia, inducen la formación de callos a los 15 días, siendo el 2,4-D (5 μM), en presencia y ausencia de luz, con un peso y diámetro promedios superiores en comparación con los otros tratamientos (Tabla 1). Esto se explica porque las auxinas, como el ANA y 2,4-D, promueven el desarrollo de los callos estimulando la división de las células, en la fase S y en la transición G2-M y en el proceso de expansión celular (Teale et al., 2006; Perrot-Rechenmann, 2010). También causa un rápido eflujo de protones, activación enzimática, transcripción y traducción de proteínas y síntesis de polisacáridos, causando pérdida en la estabilidad de la pared celular, disminución de las sustancias de reserva e inactivación de los mecanismos de reparación celular (Vondrakova et al., 2011; García et al., 2019), todas estas actividades promueven la formación de callos y regeneración de plantas normales o anormales. Miyazawa et al., (2002) explica que el 2,4-D estimula a las células a proliferar activamente y cesa la acumulación de almidón, el cual se va degradando y diferenciándose de amiloplastos a proplastidios (Fig. 1e). No se observó lo mismo con ANA y BAP quizás porque estos reguladores son muy fotolábiles o porque su absorción sea muy lenta, no se ha encontrado explicación porque a altas concentraciones (5 μM) no se hallan formando callos cuando el explante está expuesto a la luz (Tabla 1). Las citocininas estimulan la división y la expansión celular y también se postula que controla la expresión de los factores de transcripción WUSCHEL (WUS) (Ikeda et al., 2014; Ashok, & Qu, 2000) y mantienen la totipotencia celular de las células madre (Efferth, 2019).

La luz permite cambios en los niveles endógenos de varios reguladores del crecimiento (Bidwell, 1993; Reinert & Bajaj, 1977)). Esto explica porque la inducción de callos se puede realizar en la luz y oscuridad lográndose un mayor número de callos en la oscuridad. Quizás el efecto de la luz sea

a nivel de metabolismo, porque un callo que es inducido a la luz y se deja crecer con esta fuente luminosa, a los 60 días, tiende a tomar un color rojo, que indica presencia de antocianinas, y no forma embriones somáticos (datos no publicados).

CONCLUSIONES

Con el interés de encontrar un regulador del crecimiento que induzca callos en el menor tiempo es que se realizó esta experiencia. El 2,4-D demostró ser efectivo para esta actividad pues a los 15 días ya estaba induciendo callo en el explante y en ausencia de luz. Las condiciones de oscuridad facilitan para obtener embriones somáticos o realizar organogénesis. El BAP también inducen callos, pero a los 30 días, cuando las condiciones son, de preferencia, en ausencia de luz en la cual también se observa presencia de raíces (organogénesis). Al utilizar los reguladores del crecimiento hay que considerar el explante juvenil y el producto que se desea obtener para exponerlo o no, a una fuente luminosa.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

J.C., L.C., R.V., A.L., C.D., L.G. & J.C: Recolección de información, realización de la experimentación y redacción del manuscrito original; todos los autores han leído el manuscrito final y autorizan su publicación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adil, M.; Abbasi, B.H. & Haq, I.** 2019. Red light-controlled callus morphogenetic patterns and secondary metabolites production in *Withania somnifera* L, *Biotechnol. Rep.* 24: e00380.
- Ashok, C. & Qu, R.** 2000. Somatic embryogenesis and plant regeneration of turf-type bermudagrass: effect of 6-benzyladenine in callus induction medium. *Plant Science* 60:113-120.
- Barceló, J.C.** 1995. *Fisiología Vegetal*. 7^o edición. Edit. Pirámide. Madrid. España.
- Bartel, B.** 1997. Auxin biosíntesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 51-66.
- Bertini, E.; Torielli, G.B.; Pezzotti, M. & Zenoni S.** 2019. Regeneration of plants from embryogenic callus-derived protoplasts of Garganega and Sangiovese grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 138, 239–246.
- Bhojwani, S.S.** 1990. *Plant Tissue Culture. Applications and Limitations*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Bhojwani, S.S. & Razdan, M.K.** 1983. *Plant Tissue Culture. Theory and Practice*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Bidwell, R.G.** 1993. *Fisiología Vegetal*. Edit. A.G.T. Editor. México.
- Cáceres, H. & Julca, A.** 2018. Caracterización y tipología de fincas productoras de vid para Pisco en la región Ica-Perú. *Idesia* 36(3): 35- 43.

- Cetin, E.** 2014. Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Öküzgözü callus cultures. *Biological Research* 47:37
- Compendio Agropecuario, Agroindustrial y Agroclimático.** 2000. Dirección Regional Agraria La Libertad. Ministerio de Agricultura. Lima. Perú
- Chico-Ruíz, J.** 2003. Aplicación de la embriogénesis somática en la producción de vástagos de *Fragaria virginiana* var. tajo utilizando ácido naftalenacetico (ANA) y bencilaminopurina (BAP). Tesis para optar el grado de Maestro en Microbiología Industrial y Biotecnología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú, 100 pp.
- de Wit M.; Costa V. & Fankhauser C.** 2016. Light-Mediated Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67:513–37
- Efferth, T.** 2019. Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. *Engineering* 5: 50–59.
- Fehér, A.** 2019. Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology? *Front. Plant Sci.* 10:536.
- Garcia, C.; Furtado de Almeida A.; Costa M.; Britto D.; Valle R.; Royaert S. & Marelli, J.** 2019. Abnormalities in somatic embryogenesis caused by 2,4-D: An overview. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 137, 193–212.
- Gil-Martinez, F.** 1995. Elementos de Fisiología Vegetal. Edic. Mundi Prensa. Madrid. España.
- Hartman, H. & Kester, E.** 1994. Propagación de plantas. Principios y prácticas. Edit. Continental S.A. México D.F.
- Hu, Y. & Shani, E.** 2023. Cytokinin activity – transport and homeostasis at the whole plant, cell, and subcellular levels.
- Ikeda, M.; & Ohme-Takagi, M.** 2014. TCPs, WUSs, and WINDs: families of transcription factors that regulate shoot meristem formation, stem cell maintenance, and somatic cell differentiation. *Front Plant Sci* 5:427.
- Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).** 1987. El cultivo de la vid. Boletín Técnico N° 7. Lima. Perú.
- Jona, R. & Webb, J.** 1978. Callus and axillar bud culture of *Vitis vinifera* "sylvaner riesling". *Scientia Horticulturae* 9: 55-60
- Kumar, G.P.; Subiramani, S.; Govindarajan, S.; Sadasivam, V.; Manickam V.; Mogilicherla, K.; Thiruppathi, S.K. & Narayanasamy, J.** 2015. Evaluation of different carbon sources for high frequency callus culture with reduced phenolic secretion in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cv. SVPR-2, *Biotechnol. Rep.* 7: 72–80.
- Masías, H.I.** 1993. Manual Práctico de Viticultura. Edit. Trillas. México.
- Melyan, G.; Sahakyan, A. & Harutyunyan, A.** 2015. Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar "Parvana" through lateral bud development. *Vitis. Journal of Grapevine Research* 54: 253-255.
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego).** 2016. Series Históricas de Producción Agrícola: Compendio Estadístico. Lima, PE. Disponible en: http://frenteweb.minag.gob.pe/sisca/?mod=consulta_cult
- Miyazawa, Y.; Kutsuwa, N.; Inada, N.; Kuroiwa, H.; Kuroiwa, T. & Yoshida, S.** 2002. Dedifferentiation of starch-storing cultured tobacco cells: effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on multiplication, starch content, organellar DNA content, and starch synthesis gene expression. *Plant Cell Rep.* 21:289-295.

- Murashige, H. & Skoog, J.** 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473-497.
- Naor, V.; Ziv, M. & Zahavi, T.** 2011. The effect of the orientation of stem segments of grapevine (*Vitis vinifera*) cv. Chardonnay on callus development in vitro *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 106: 353–358
- Ozden, M. & Karaaslan, M.** 2011. Effects of cytokinin on callus proliferation associated with physiological and biochemical changes in *Vitis vinifera* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 33:1451–1459
- Perrot-Rechenmann, C.** 2010. Cellular responses to auxin: Division versus expansion. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*
- Reiner, J. & Bajaj, P.S.** 1977. *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture.* Springer-Verlag. Germany.
- Rodrigues A.; Santos E.; Takane R.J. & Carvalho, A.** 2017. Artificial light and growth regulators on the in vitro etiolation of *Cattleya labiate*, *Rev. Ciênc. Agron.* 48 (2): 296–302.
- Romero, Y.** 2017. Variación de la edafología y estrés hídrico en *Vitis vinifera* L. con relación al relieve en un viñedo del Valle de Guadalupe, B.C., México. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México. 66 pp.
- Salisbury, B.F. & Ross, W.C.** 1994. *Fisiología de las Plantas.* Edit. Paraninfo. Madrid. España.
- Simón -Martínez, E.** 2002. Citoquininas y fitocromos. Libro de Resúmenes del VIII Simposio: Metabolismo y modo de acción de las hormonas. Sevilla. España, 173-184
- Taranto, F.; Pasqualone, A.; Mangini, G.; Tripodi, P.; Miazzi, M.M.; Pavan, S. & Montemurro, C.** 2017. Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects, *Int. J. Mol. Sci.* 18: 377.
- Teale, W. D.; Paponov, I. A. & Palme, K.** 2006. Auxin in action: Signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 847–859.
- Torné, J.M. & Santos, M.A.** 1990. The meristematic calli of maize: A maintenance system of tissue juvenility. In *Plant Aging: Basic and Applied Approachs.* Edit. R. Rodriguez et al. Plenum Press, New York, 395-398.
- Vondrakova, Z.; Eliašova, K.; Fischerova, L. & Vagner, M.** 2011. The role of auxins in somatic embryogenesis of *Abies alba*. *Open Life Sci.*
- Zhai, L.; Wang, X.; Tang, D.; Qi, Q.; Yer, H.; Jiang, X.; Han, Z.; Mc Avoy R.; Li W. & Li Y.** 2021. Molecular and physiological characterization of the effects of auxin-enriched rootstock on grafting *Horticulture Research* 8:74

