Fecha de recibido: 02-05-2024
Fecha de aceptado:19/08/2024
DOI: 10.22490/21456453.8115

COLCHICINA COMO INDUCTORA DE CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y ESTOMÁTICOS EN *Kalanchoe* × *laetivirens* DESC.

COLCHICINE AS AN INDUCER OF MORPHOLOGICAL AND STOMATAL CHANGES IN *Kalanchoe* × *laetivirens* DESC.

Seir Antonio Salazar Mercado [1]
Cristóbal Zambrano Parada [2]

[1]Biólogo MSc., Departamento de Biología. Universidad Francisco de Paula Santander. San José de Cúcuta, Colombia.
seirantoniosm@ufps.edu.co

[2]Bacteriólogo MSc., Departamento de Biología. Universidad Francisco de Paula Santander. cristobalzp@ufps.edu.co

Citación: Salazar, S., y Zambrano, C. (2025). Colchicina como inductora de cambios morfológicos y estomáticos en *Kalanchoe* × *laetivirens* Desc. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 16(1), 213 - 228. https://doi.org/10.22490/21456453.8115

RESUMEN

Contextualización: una de las estrategias empleadas en fitomejoramiento con plantas medicinales es la inducción artificial de poliploidía.

Vacío de conocimiento: se observa una falta de información sobre los efectos específicos de la poliploidía en *Kalanchoe* × *laetivirens* Desc. Además, la carencia respecto al tema de cómo estos afectan directamente a la producción de compuestos medicinales u otras características relevantes que permitan su uso medicinal.

Propósito: se evaluó el impacto de diversas dosis de colchicina en la morfología foliar y en la estructura estomática de *Kalanchoe* × *laetivirens*

Metodología: se aplicaron las soluciones de colchicina a las plantas durante 12 horas (0.025%, 0.05% y 0.1% p/v) y se evaluaron parámetros anatómicos (número de hojas, altura, longitud y ancho foliar) durante 10 semanas. Se analizó el tamaño, la densidad y el número de cloroplastos por estoma de una planta por tratamiento.

Resultados y conclusiones: las concentraciones más altas de colchicina indujeron un aumento relevante en la altura, el número y el ancho de las hojas. De igual manera, se observó una relación dosis-respuesta en las mejoras morfológicas. Las plantas tratadas con colchicina presentaron estomas de tamaño superior, mayor densidad estomática y un incremento en la cantidad de cloroplastos por estoma teniendo en cuenta el control. Los resultados sugieren una asociación entre el nivel de ploidía y las características estomáticas, con posibles implicaciones en la fisiología de la planta. Son necesarios más estudios para entender los efectos a largo plazo de la colchicina y evaluar posibles efectos adversos. La inducción de poliploidía con colchicina en *Kalanchoe* × *laetivirens* es una técnica prometedora para mejorar la morfología foliar y las características estomáticas, con potencial para aplicaciones en investigación y agricultura.

Palabras clave: i*nhibidor mitótico*, índice estomático, planta medicinal, poliploidización

ABSTRACT

Contextualization: One of the strategies used in plant breeding with medicinal plants is the artificial induction of polyploidy.

Knowledge gap: The lack of information on the specific effects of polyploidy in Kalanchoe × laetivirens Desc. and how these directly affect the production of medicinal compounds or other characteristics relevant to their medicinal use.

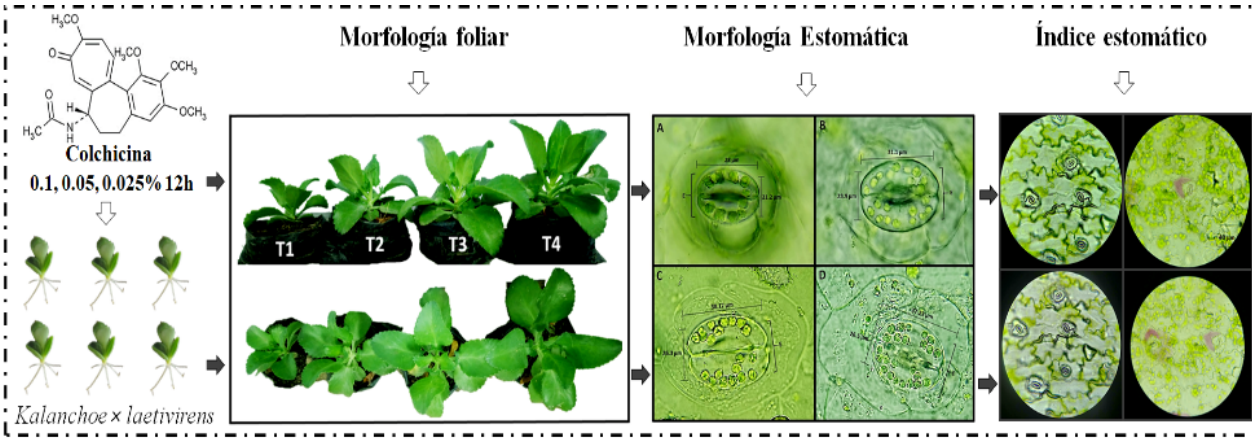
Purpose: The impact of various doses of colchicine on leaf morphology and stomatal structure of *Kalanchoe* × *laetivirens* was evaluated.

Methodology: Colchicine solutions were applied to plants for 12 hours (0.025%, 0.05% and 0.1% w/v) and anatomical parameters (number of leaves, height, length and leaf width) were evaluated for 10 weeks. The size, density and number of chloroplasts per stomata of one plant per treatment were analyzed.

Results and conclusions: Higher colchicine concentrations induced a relevant increase in leaf height, number and width. A dose-response relationship was observed in morphological improvements. Colchicine-treated plants showed larger stomata, higher stomatal density and an increase in the number of chloroplasts per stomata compared to the control. The results suggest an association between ploidy level and stomatal characteristics, with possible implications for plant physiology. Further studies are needed to understand the long-term effects of colchicine and to evaluate possible adverse effects. Induction of polyploidy with colchicine in *Kalanchoe* × *laetivirens* is a promising technique for improving leaf morphology and stomatal characteristics, with potential for applications in research and agriculture.

keywords: mitotic inhibitor, medicinal plant, polyploidization, stomatal index

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores.

1 INTRODUCCIÓN

Las especies de *Kalanchoe* son principalmente abundantes en Madagascar y África (Shtein y Smith, 2021). Son plantas suculentas que se caracterizan por la formación de pequeñas plantas que se crean en los bordes de sus hojas y se transforman en nuevas plantas si caen sobre el suelo (Roslim *et al*., 2021). Los fitoquímicos del género *Kalanchoe* están ampliamente descritos y se han utilizado en medicina tradicional y moderna en diferentes partes del mundo, ya que poseen moléculas con propiedades antioxidantes, *antihiperglucémicas*, antimicrobianas, antiinflamatorias, antiulcerogénicas, hepatoprotectoras, antimutagénicas, antiartríticas y anticancerígenas (Eid y Gonaid, 2018; Araújo *et al*., 2019; da Silva *et al*., 2021; Sousa *et al*., 2021).

K. × *laetivirens.* es un híbrido de *K. daigremontiana* y *K. laxiflora* (syn. *Bryophyllum crenatum*) y su área de distribución nativa es Madagascar (Govaerts *et al*., 2021). Presenta potencial ornamental, pero es poco estudiada, especialmente en relación con su biología (Sousa *et al*., 2021). *K.* × *laetivirens* posee múltiples propiedades benéficas para el ser humano, principalmente en disminuir la probabilidad de padecer el cáncer. De acuerdo con Kaewpiboon *et al*. (2014), el extracto de esta planta tiene propiedades medicinales debido a que logra revertir la resistencia al etopósido, medicamento frecuentemente administrado para regímenes quimioterapéuticos en células de cáncer pulmonar. Según Stefanowicz-Hajduk *et al*. (2020), las plantas de *Kalanchoe* son citotóxicas. No

obstante, los datos sobre su uso tradicional en el tratamiento de tumores son escasos.

En la actualidad, se han ideado una variedad de métodos para incrementar los rendimientos de producción, ya sea de forma natural o a través de intervenciones artificiales (Salazar *et al*., 2021). Estos están dirigidos a inducir la duplicación de cromosomas en las plantas, empleando agentes que interfieren con la mitosis, como la orizalina, colchicina, trifluralina, pronamida, entre otras (Manzoor *et al*., 2019). Los agentes mencionados tienen la capacidad de ser aplicados tanto en embriones como en plántulas haploides, lo que conlleva a la obtención de plantas homocigotas diploides en ambos casos (Zhao *et al*., 2023).

La poliploidización artificial se utiliza a menudo para desarrollar poblaciones de plantas de alto rendimiento, ricas en compuestos biológicamente activos. Es una herramienta eficaz para aumentar el número y tamaño de sus órganos vegetativos y generativos, la biomasa vegetal, el contenido de metabolitos secundarios y compuestos biológicamente activos (Niu *et al*., 2016; Samatadze *et al*., 2022). Según Eng y Ho (2019), la colchicina es un potente agente antimitótico que induce la poliploidización en las plantas. Diversas investigaciones han demostrado que la aplicación de colchicina en diferentes especies vegetales conduce a la obtención de individuos con una morfología mejorada (Salazar *et al*., 2018; Samanhudi *et al*., 2023; Zou *et al*., 2024).

Este fenómeno se atribuye principalmente a la poliploidía inducida, la cual genera células y órganos de mayor tamaño. Por lo tanto, se observa un aumento en el peso de las plantas, lo que representa un beneficio considerable para la producción agrícola y forestal (Eng y Ho, 2019). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación radica en determinar el impacto de la colchicina como estrategia de inducción de poliploidía para llevar a cabo un análisis morfológico minucioso en las plantas de *K.* × *laetivirens*. Se emplearán tres dosis de colchicina: 0,025 %, 0.05% y 0.1% (p/v), así como un grupo control tratado con agua destilada durante 12 horas, con el propósito de evaluar su influencia en el proceso de poliploidización y sus efectos morfológicos subsiguientes.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones del cultivo y material biológico

Se seleccionaron brotes de una planta madre, alojada en el municipio de Los Patios, Norte de Santander. Se seleccionaron 40 plantas con una altura comprendida entre 1,4 y 1,8 cm, las cuales mostraban un sistema radicular en buen estado. Las plantas de *K.* × *laetivirens* se mantuvieron en un entorno con una temperatura en promedio de 29 °C. Las plántulas fueron sumergidas en una

solución de colchicina con concentraciones del 0,025 %, 0,05 % y 0,1 % (p/v) durante un periodo de exposición de 12 horas, mientras que el agua destilada se utilizó como control. Se distribuyeron en cuatro tratamientos, cada uno con 10 repeticiones.

El sometimiento de las plantas a las diversas dosis de colchicina (Sigma-Aldrich) se llevó a cabo en cámara oscura, siguiendo el protocolo descrito por Salazar *et al.* (2021). Cada tratamiento, consistió en un total de 10 plántulas. Posteriormente, estas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 1 kg, utilizando un sustrato mezclado por abono orgánico de lombrinaza, cascarilla de arroz mezclado y arena.

Análisis morfológico

Se inició 10 días después del trasplante de las plántulas, una vez que habían sido expuestas a las distintas concentraciones de colchicina. Fueron evaluadas diversas características entre las que se incluyen el número de hojas (NH), la altura de las plantas (AP), el ancho de hoja (AH) y la longitud foliar (LH). Se realizaron mediciones de estas variables cada ocho días para realizar un seguimiento preciso de su desarrollo a lo largo del tiempo.

Análisis estomático

Para evaluar las estructuras estomáticas como el largo, el ancho y el número de cloroplastos, se empleó la metodología descrita por Salazar *et al.* (2021). Este método involucró el uso de cinta adhesiva para remover la epidermis, específicamente del área central de una hoja de 2 cm^2. La cinta se adhirió a un portaobjetos y luego se ubicó la muestra en el microscopio compuesto BK-6000. La muestra fue enfocada utilizando el objetivo de 100X, y este procedimiento se repitió 10 veces por lámina.

Al calcular el índice estomático (IE) se contabilizó el número de estomas por célula epidérmica, utilizando un campo visual total de 400x. La fórmula utilizada para calcular el IE fue la implementada por Salazar *et al.* (2018) (Ecuación 1).

$$IE = \frac{NE}{CE + NE} x100 \qquad \text{Ecuación 1}$$

De acuerdo con las variables de la fórmula, NE representa el número de estomas observados, mientras que CE corresponde al número de células epidérmicas.

Análisis estadístico

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorio que constaba de cuatro tratamientos, cada uno con diez repeticiones (Salazar y Botello, 2018; Salazar y Maldonado, 2019; Mercado y Jaimes, 2022); esto permitió evaluar el efecto de los tratamientos en un total de 40 unidades experimentales. La información recopilada del análisis anatómico y estomático fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), luego, se realizaron comparaciones de medias utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey para detectar diferencias significativas (P≤ 0,05). Se uso el software Infostat para los análisis respectivos.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 y la Figura 1 exhiben los hallazgos del análisis de la morfología foliar de *K.* × *laetivirens,* 10 semanas después de la siembra bajo diferentes tratamientos con colchicina. Se observa que los tratamientos con colchicina (T2, T3 y T4) mostraron un aumento gradual en todas las medidas morfológicas en comparación con el grupo control (T1). A medida que incrementaba la concentración de colchicina, también lo hacen el número de hojas, la altura de la planta, la longitud foliar y el ancho de las hojas de *K.* × *laetivirens*. El tratamiento T4, que recibió la mayor concentración de colchicina (0,1%), reveló los valores más altos en todas las variables morfológicas evaluadas en comparación con los demás tratamientos. Esto sugiere una correlación dosis-respuesta entre las cantidades de colchicina y el crecimiento de las plantas.

Es importante destacar que en las plantas del tratamiento T4 se observó la formación de 3 hijuelos, lo que señala un efecto adicional de la colchicina en la proliferación vegetativa de *K.* × *laetivirens* (Figura 2). Además, se determina que las diferencias entre los tratamientos son estadísticamente significativas, lo que indica que la colchicina tuvo una influencia positiva en la morfología foliar de *K.* × *laetivirens*. Estos resultados respaldan la eficacia de la colchicina como agente inductor de poliploidía y su capacidad para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas en términos morfológicos (Manzoor *et al*., 2019). Sin embargo, es importante considerar los posibles efectos adversos de dosis más altas de colchicina en el vigor y viabilidad, a largo plazo, de las plantas.

Se han empleado características morfológicas para la identificación de poliploides sin necesidad de preparación de laboratorio, siendo la hoja un órgano comúnmente estudiado. Las hojas de poliploides inducidos suelen exhibir diversos rasgos distintivos, como una lámina foliar más gruesa, un color verde más oscuro y cambios en la forma (Zhou *et al*., 2016; Zhou *et al*., 2017; Dudits *et al*., 2016; Salazar *et al*., 2021). En un estudio realizado por Narukulla *et al*. (2023), se probaron concentraciones de colchicina del 0,1%, 0,2%, y 0,3% en cítricos, durante periodos de 16 y 24 horas. Se encontró que el tratamiento con colchicina al 0,1% durante 24 horas resultó en elevadas tasas de mutación para poliploidización, mostrando el porcentaje de inducción tetraploide más alto registrado (18,3%) y un aumento significativo en el área foliar en todos los cultivares de portainjertos evaluados. Sin embargo, se percibió que tanto la alta concentración de colchicina como el largo tiempo de exposición disminuyeron la supervivencia de las plántulas observadas.

Tabla 1.

Análisis de la anatomía foliar de K. × laetivirens

Dosis de Colchicina	NH (cm)	AP(cm)	AH (cm)	LH (cm)
T1 (testigo)	6,3 ± 1,48^{a}	2,9 ± 0,67^{a}	2,5 ± 0,63^{a}	3,2 ± 1,35^{a}
T2	7,1 ± 1,67^{a}	3,6 ± 0,899^{ab}	2,8 ± 0,345^{a}	3,7 ± 1,6^{ab}
T3	8,7 ± 1,70^{ab}	5,2 ± 1,9^{cd}	3,2 ± 0,621^{a}	4,3 ± 1,67^{ab}
T4	9,0 ± 1,93^{b}	6,3 ±1,98^{d}	3,6 ± 0,75^{a}	5.1 ± 1,86^{b}

Nota. Número de hojas: NH; Altura de la planta: AP; Ancho de la Hoja: AH; Longitud foliar: LH; Evaluación ejecutada a las 10 semanas posteriormente de la siembra. los valores con diferente letra indican diferencias de acuerdo con *Tukey* (P≤ 0,05).

Fuente: autores.

Figura 1. Análisis de la morfología foliar de *K.* × *laetivirens* usando diversas dosis de colchicina

Fuente: autores.

Según los ensayos realizados por Salazar *et al.* (2021), se halló un aumento en la anatomía foliar en las pruebas con colchicina de 0.025% a 48 horas y 0.1% a 24 horas en *Kalanchoe tubiflora*. Además, se observó una producción de 4 y 6 hijuelos, respecti-

vamente. Estos hallazgos son consistentes con nuestros resultados, ya que ambas apreciaciones sugieren que el uso de la colchicina puede mejorar la morfología y la reproducción celular en plantas. Sin embargo, es importante destacar que los efectos pueden variar dependiendo de la especie vegetal, las concentraciones de colchicina utilizadas y la duración del tratamiento (salazar *et al.*, 2018; Según Eng y Ho, 2019).

Adicionalmente, las concentraciones elevadas de colchicina y un tiempo de exposición más prolongado interfieren con el crecimiento de las plántulas. Esto ocasiona hiperploidía, pardeamiento y necrosis en el tejido meristemático, lo que eventualmente conduce a la muerte de las plántulas (Narukulla *et al.*, 2023). Sin embargo, en esta investigación no se registraron pérdidas de plántulas durante el estudio en todos los tratamientos con colchicina. Lo anterior resalta la importancia de llevar a cabo investigaciones adicionales para comprender completamente los efectos de la colchicina en diferentes especies vegetales y condiciones experimentales.

Figura 2. Hijuelos formados en el margen de las hojas del T4 (0.1% de colchicina 12h) de *K.* × *laetivirens*

Fuente: autores.

La Tabla **2, la Figura 2 y la Figura 3 revelan una correlación dosis-respuesta entre la concentración de colchicina y las características estomáticas de** *K.* × *laetivirens***.** A medida que aumenta la concentración de colchicina, se observa un crecimiento gradual en el tamaño de los estomas, tanto en longitud como en anchura. Este fenómeno sugiere una relación verdadera entre la dosis aplicada y el volumen de los estomas. Además, el índice estomático, el cual representa la densidad de estomas en la hoja, exhibe un

aumento progresivo en relación con el incremento de la concentración del procedimiento. Esta tendencia sugiere que las concentraciones más altas están asociadas con una mayor densidad estomática. Por último, el número de cloroplastos por estoma también sube con la concentración, lo que indica una posible mejora en la capacidad fotosintética de las células estomáticas bajo condiciones de tratamiento más elevadas. Lo anterior sugiere que las mayores concentraciones de colchicina inducen cambios morfológicos y fisiológicos en los estomas.

Tabla 2.

Características estomáticas. Índice estomático, largo, ancho y número de cloroplastos por estomas sometidas con colchicina

Dosis de Colchicina	Largo del estoma (µm)	Ancho del estoma (µm)	Índice estomático	Cloroplastos por estomas
T1(testigo)	28,8[a]	17,4[a]	12,7 [a]	10,2[a]
T2 (0,025 %)	31[b]	21,6 [b]	19,8 [b]	20,4[b]
T3 (0,05 %)	35,7[b]	25,2 [b]	20,6 [b]	21,2[b]
T4 0,1%)	38,4[b]	29,3 [b]	22,652[b]	26,5[b]

Fuente: autores.

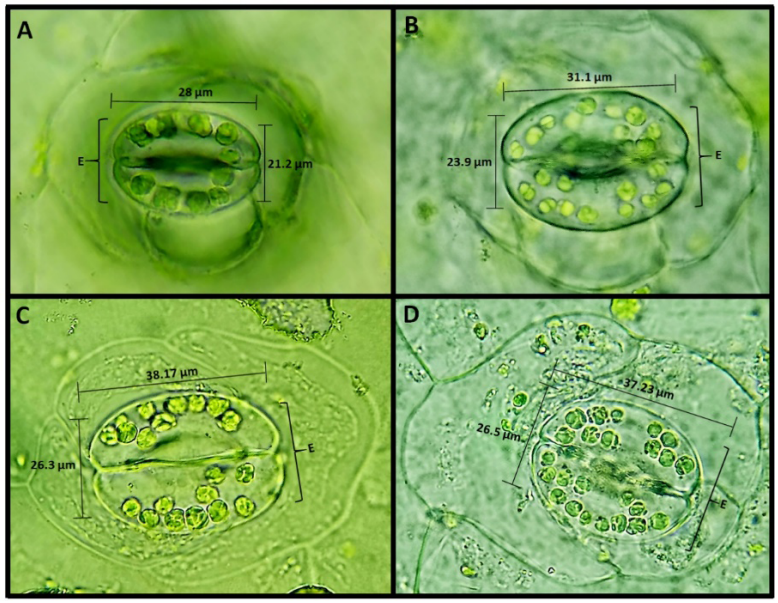


Figura 3. Características de los estomas de las hojas de *K.* × *laetivirens* (A) Estoma del T1: 10 CL. (B) Estoma del T2: 20 CL. (C) Estoma del T3: 21 CL. (D) Estoma del T4: 26 CL. Aumento total 1000x. CL: cloroplasto

Fuente: autores.

La relación entre el nivel de ploidía y las características estomáticas ha sido objeto de estudio en varios trabajos de investigación recientes. Los hallazgos de Narukulla *et al.* (2023) indican un incremento significativo en el tamaño de los estomas al aumentar el nivel de ploidía, lo que sugiere una correspondencia directa entre estos dos factores. Esta asociación entre el nivel de ploidía y diversas características fisiológicas, incluidas las dimensiones estomáticas, ha sido corroborada por investigaciones previas, como las de Manzoor *et al.* (2019). Se ha observado que las plantas poliploides tienden a exhibir estomas más grandes y separados en comparación con sus contrapartes los diploides, lo cual puede utilizarse como un marcador para identificar poliploides (Šmarda *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2021).

Además del tamaño de los estomas, la ploidía también influye en el tamaño y la cantidad de orgánulos en las células estomáticas. Estudios han demostrado que los estomas más grandes en poliploides están asociados con un aumento en el número de cloroplastos en las células protectoras, lo que puede acarrear consecuencias significativas en la capacidad fotosintética de las plantas (Ræbild *et al.*, 2024). En investigaciones realizadas por Barceló-Anguiano *et al.* (2021), encontraron que los cloroplastos eran aproximadamente el doble de voluminosos en las células estomáticas de tetraploides en comparación con diploides de la misma especie. Estos cambios anatómicos inducidos por la ploidía en el aparato estomático pueden tener implicaciones importantes en la fisiología de las plantas en lo que respecta a la conductancia estomática y la eficiencia en el uso del agua. Estudios han sugerido que la difusión intracelular de gases y agua puede ser más lenta en células mesófilas grandes y cloroplastos agrandados, lo que puede afectar la eficacia del intercambio gaseoso y la efectividad de la utilidad del agua en las plantas poliploides (Diatta *et al.*, 2022).

Estos hallazgos respaldan la existencia de características estomáticas distintivas en plantas poliploides como el volumen de los estomas, la densidad estomática y el número de cloroplastos en las células. Lo cual sugiere que estas propiedades podrían ser utilizadas como marcadores confiables para la identificación preliminar de poliploides en diversas especies vegetales, lo que podría tener importantes implicaciones en la investigación agrícola.

4 CONCLUSIONES

La colchicina se muestra como una opción factible para la inducción de poliploidía en *K.* × *laetivirens*, con la posibilidad de generar nuevas variedades con características morfológicas superiores. Los hallazgos indican mejoras corporales y cambios significativos en las propiedades estomáticas de la planta, lo que sugiere una asociación entre el

nivel de ploidía y estas características. Se recomienda continuar con investigaciones que exploren el uso de diversas dosis y periodos de exposición a la colchicina para comprender mejor sus consecuencias y maximizar su capacidad en la mejora de las plantas medicinales, como también para evaluar los efectos fisiológicos y agronómicos de las plantas poliploides obtenidas.

Sin embargo, es crucial considerar los eventuales impactos adversos que puedan presentar dosis más altas de colchicina en la viabilidad a largo plazo de las plantas. Este estudio proporciona una base consistente para futuras producciones académicas sobre la inducción de poliploidía en *K.* × *laetivirens* utilizando colchicina. Así, se destaca la importancia de sopesar cuidadosamente tanto los beneficios potenciales como los posibles riesgos asociados con este enfoque en fitomejoramiento. Además, es necesario evaluar el efecto de estos tratamientos con colchicina en la producción de metabolitos secundarios de plantas de interés medicinal.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Seir Antonio Salazar Mercado: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, revisión y edición borrador original. **Cristóbal Zambrano Parada:** conceptualización, escritura, análisis de datos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Francisco de Paula Santander.

FINANCIAMIENTO

No aplica.

LITERATURA CITADA

Araújo, E. R. D., Félix-Silva, J., Xavier-Santos, J. B., Fernandes, J. M., Guerra, G. C. B., de Araújo, A. & Zucolotto, S. M. (2019). Local anti-inflammatory activity: Topical formulation containing *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* leaf aqueous extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 113*, 108721

Barceló-Anguiano, M., Holbrook, N. M., Hormaza, J. I., & Losada, J. M. (2021). Changes in ploidy affect vascular allometry and hydraulic function in *Mangifera indica* trees. *Plant Journal, 108*(2), 541-554. https://doi.org/10.1111/tpj.15460

Chen, T., Sheng, Y., Hao, Z., Long, X., Fu, F., Liu, Y., Tang, Z., Ali, A., Ye, P., Lu, L., Hu, X., Shi, J., & Chen, J. (2021). Transcriptome and proteome analysis suggest enhanced photosynthesis in tetraploid *Liriodendron* sino-americanum. *Tree Physiology, 41*(10), 1953-1971. https://doi.org/10.1093/treephys/tpab039

da Silva Ferreira, D., Santiago, P. A. L., de Lima, B. R., Soares, E. R., de Almeida, R. A., Ohse, K. C., ... & da Silva Santiago, S. R. S. (2021). Caracterização química de uma cianidina glicosilada obtida a partir dos extratos *de Kalanchoe laetivirens* e avaliação do seu potencial antimicrobiano. *Research, Society and Development, 10*(14), e345101421483-e345101421483.

Diatta, O., Kjær, E. D., Diallo, A. M., Nielsen, L. R., Novák, V., Sanogo, D., Laursen, K. H., & Ræbild, A. (2021). Leaf morphology and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in *Acacia senegal* (L.) Wild trees vary with climate at the geographic origin and ploidy level. *Trees, 36*(1), 295-312. https://doi.org/10.1007/s00468-021-02206-8

Dudits, D., Török, K., Cseri, A., Paul, K., Nagy, A. V., Nagy, B., Sass, L., Ferenc, G., Vaňková, R., Dobrev, P. I., Vass, I., & Ayaydin, F. (2016). Response of Organ Structure and Physiology to Autotetraploidization in Early Development of Energy Willow Salix viminalis. *Plant Physiology, 170*(3), 1504-1523. https://doi.org/10.1104/pp.15.01679

Eid, O., & Gonaid, M. (2018). Future Journal of Pharmaceutical Sciences Crassulaceae (chemistry and pharmacology) - A review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 4*(2), 234–240. https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.07.003

Eng, W., & Ho, W. (2019). Polyploidization using colchicine in horticultural plants: A review. *Scientia Horticulturae, 246*, 604-617. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.010

Govaerts, R., Nic Lughadha, E., Black, N. (2021). The World Checklist of Vascular Plants, a continuously updated resource for exploring global plant diversity. *Scientific Data 8*, 215 https://doi.org/10.1038/s41597-021-00997-6

Kaewpiboon, C., Srisuttee, R., Malilas, W., Moon, J., Kaowinn, S., Cho, I., & Johnston, R. N. (2014). Extract of *Bryophyllum laetivirens* reverses etoposide resistance in human lung A549 cancer cells by down-regulation of NF- κ B, 161–168. https://doi.org/10.3892/or.2013.2844

Manzoor, A., Ahmad, T., Bashir, M. A., Hafiz, I. A., & Silvestri, C. (2019). Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants. *Plants (Basel, Switzerland), 8*(7), 194. https://doi.org/10.3390/plants8070194

Mercado, S. A. S., & Jaimes, Y. M. O. (2022). Inclusion of organic components in culture medium to improve the in vitro propagation of Cattleya warscewiczii and Cattleya gaskelliana. *South African Journal of Botany*, *148*, 352-359.

Narukulla, V., Lahane, Y., Fiske, K., Pandey, S., & Ziogas, V. (2023). Induction of Polyploidy in Citrus Rootstocks through In Vitro Colchicine Treatment of Seed-Derived Explants. *Agronomy, 13*(6), 1442. https://doi.org/10.3390/agronomy13061442

Niu, L., Tao, Y. B., Chen, M. S., Fu, Q., Dong, Y., He, H., & Xu, Z. F. (2016). Identification and characterization of tetraploid and octoploid *Jatropha curcas* induced by colchicine. *Caryologia, 69*(1), 58-66.

Ræbild, A., Anamthawat–Jónsson, K., Egertsdotter, U., Immanen, J., Jensen, A. M., Koutouleas, A., Martens, H. J., Nieminen, K., Olofsson, J. K., Röper, A., Salojärvi, J., Strömvik, M. V., Vatanparast, M., & Vivian–Smith, A. (2024). Polyploidy – A tool in adapting trees to future climate changes? A review of polyploidy in trees. *Forest Ecology and Management, 560*, 121767. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121767

Roslim, D., Putra, Y., Dewi, Y., Bago, Y., Sitohang, H., & Sofiyanti, N. (2021). First Record Of The Five Dna Barcodes of the Nothospecies Cocor Bebek (*Kalanchoe*×*Laetivirens*). *Sabrao Journal of Breeding & Genetics, 53*(2).

Shtein, R., & Smith, G. F. (2021). A revision of the climbing *kalanchoes* (Crassulaceae subfam. Kalanchooideae) of Madagascar including the description of Kalanchoe sect. *Invasores and K. ser. Vilana. Phytotaxa, 482*(2), 93-120.

Salazar, S. A., Caleño, J. D. Q., & Urbano, V. J. B. (2021). Impact of colchicine on leaf morphology and stomatics of *Kalanchoe tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet (Crassulaceae). *Botanica Pacifica*, *10*(2). https://doi.org/10.17581/bp.2021.10201

Salazar, S. A., Valderrama, G. J., y Quintero, J. D. (2018). Efecto de la colchicina sobre la morfología foliar y los estomas de *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier (Crassulaceae). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 12*(1), 212-222. https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.7059

Salazar, S. A., y Botello, E. A. (2018). Viabilidad de semillas de *Glycine max* (l.) Utilizando la prueba de tetrazolio. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *9*(2), 89-98. https://doi.org/10.22490/21456453.2270

Salazar, S., Maldonado., H. (2019). Evaluation of cytotoxic potential of chlorpyrifos using *Lens culinaris* Med as efficient bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 183*, 109528. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109528

Samatadze, T. E., Yurkevich, O. Y., Khazieva, F. M., Basalaeva, I. V., Konyaeva, E. A., Burova, A. E., Zoshchuk, S. A., Morozov, A. I., Amosova, A. V., & Muravenko, O. V. (2022). Agro-Morphological and Cytogenetic Characterization of Colchicine-InducedTetraploid Plants of *Polemonium caeruleum* L. (Polemoniaceae). *Plants (Basel, Switzerland), 11*(19), 2585. https://doi.org/10.3390/plants11192585

Samanhudi, Hartati, S., Cahyono, O., Wibowo, A. F., & Ardiani, F. (2023). Morphological Characteristics of *Phalaenopsis* spp. by Colchicine Application Based on Qualitative. *Advances in Biological Sciences Research,* 335-342. https://doi.org/10.2991/978-94-6463-128-9_3

Šmarda, P., Klem, K., Knápek, O., Veselá, B., Veselá, K., Holub, P., ... & Bureš, P. (2023). Growth, physiology, and stomatal parameters of plant polyploids grown under ice age, present—day, and future CO2 concentrations. *New Phytologist, 239(*1), 399-414.

Sousa, L. N., Albarello, J. B., Cardozo, M. M., Faita, M. R. & Santos, C. M. R. dos. (2021). Reproductive biology of *Kalanchoe laetivirens* (Crassulaceae) in the edaphoclimatic conditions of Santa Catarina, Brazil. *Research, Society and Development, 10*(1), e27010111567. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11567

Stefanowicz-Hajduk, J.; Asztemborska, M.; Krauze-Baranowska, M.; Godlewska, S.; Gucwa, M.; Moniuszko-Szajwaj, B.; Stochmal, A.; Ochocka, R. (2020). Identification of Flavonoids and Bufadienolides and Cytotoxic Effects of *Kalanchoe daigremontiana* Extracts on Human Cancer Cell Lines. *Planta Medica, 86.*

Zhao, Y., Kong, B., Uyen, P., Li, L., Du, J., Ma, L., Sang, Y., Wu, J., Zhou, Q., Cheng, X., Kang, X., & Zhang, P. (2023). Gibberellins as a novel mutagen for inducing 2n gametes in plants. *Frontiers In Plant Science, 13.* https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1110027

Zhou, H., Zeng, W., & Yan, H. (2016). In vitro induction of tetraploids in cassava variety 'Xinxuan 048' using colchicine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 128*(3), 723-729. https://doi.org/10.1007/s11240-016-1141-z

Zhou, K., Fleet, P., Nevo, E., Zhang, X., & Sun, G. (2017). Transcriptome analysis reveals plant response to colchicine treatment during on chromosome doubling. *Scientific Reports*, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-017-08391-2

Zou, P., Zheng, Y., Wang, Y., Hu, X., Dai, S., Wang, W., Lee, S. Y., & Li, G. (2024). In vitro induction of tetraploids in the ornamental plant Melastoma candidum using colchicine treatment. *Research Square.* https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4072444/v1

Conflicto de intereses
Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Licencia de Creative Commons
Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional License.