

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

Informe final del proyecto de Servicio Social

**PROPAGACIÓN *IN VITRO* EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL DE
LULO (*Solanum quitoense*).**

Prestador de Servicio Social:

Flores Jiménez Ángel Manuel
Matrícula: 2193700268

Asesor Interno:

M. en C. Andrés Fierro Álvarez
No. Económico: 16755



Firma: _____

Asesor Externo:

Dr. Carlos Román Castillo Martínez
Cédula profesional: 2162857

Firma:  _____

Lugar de realización:

Laboratorio de Biotecnología Forestal, INIFAP

Fecha de inicio y terminación:

Del 25 de febrero de 2022 al 25 de agosto de 2022

Contenido

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
MARCO TEÓRICO	5
Micropropagación	6
Medio de cultivo	7
Sistemas de inmersión temporal	7
Reguladores de crecimiento	8
OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS	8
METODOLOGÍA REALIZADA	8
Preparación de medios de cultivo	9
Evaluación de la germinación in vitro de lulo	9
Ensayo preliminar en tubos de ensayo con medio sólido	9
Sistemas de inmersión temporal	10
ACTIVIDADES REALIZADAS CALENDARIO DE ACTIVIDADES	11
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	15
RECOMENDACIONES	16
LITERATURA CITADA	17

RESUMEN

La expresión cultivo *in vitro* en términos agronómicos, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia, y el control de los factores que afectan el crecimiento.

Un sistema de inmersión temporal es un sistema de cultivo semiautomatizado para la propagación *in vitro* de plantas. Está basado en el contacto intermitente del medio de cultivo líquido con los explantes por un corto período de tiempo.

El presente trabajo tiene como objetivo principal establecer las condiciones óptimas del uso de sistemas de inmersión temporal para la mayor obtención de respuesta de generación de brotes de lulo (*Solanum quitoense*) con objeto de coadyuvar a sentar las bases sólidas para la multiplicación óptima y masiva de la especie.

Como resultados al término de este Servicio Social, se logró obtener la tasa de germinación de la especie *S. quitoense* resultando un porcentaje del 92%, así como conocer que el promedio de brotes por explante con la técnica *in vitro* tradicional es de dos, y una respuesta positiva superior con sistemas de inmersión temporal frente a la técnica anteriormente mencionada.

INTRODUCCIÓN

La naranjilla o lulo (*S. quitoense*) es un frutal que pertenece a la familia de las solanáceas. Originaria de los sotobosques subtropicales de los Andes de Ecuador, crece principalmente en sitios con buena humedad (Castro & Herrera, 2019).

Entre los países productores de Lulo se encuentra Colombia, en donde los principales departamentos productores en su orden, son Huila (15%), Valle del Cauca (15%), Antioquia (12%), Cauca (10%), Boyacá (8%) y el resto de departamentos (40%), teniendo como superficie de producción 10, 307 ha para el año 2017, y se cosecharon 8, 234 ha, aportando una producción de 79,872 toneladas, con un rendimiento de 9,7 t ha⁻¹ en datos obtenidos en periodos de años transcurridos entre 2007-2017 (Sogamoso, 2020).

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia, y el control de los factores que afectan el crecimiento (Castillo, 2012).

Un sistema de inmersión temporal es un sistema de cultivo semiautomatizado para la propagación *in vitro* de plantas. Está basado en el contacto intermitente del medio de cultivo líquido con los explantes por un corto período de tiempo (Basail *et al.*, 2011). Estos sistemas de inmersión temporal también deben ir con un adecuado balance de reguladores de crecimiento para poder obtener los resultados esperados, por lo cual se puede describir a estos reguladores, como, aquellos compuestos sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos, y que cumplen un papel importante en la regulación de diferentes procesos bioquímicos a nivel celular en los organismos vegetales (Alcántara *et al.*, 2019).

El presente trabajo tuvo como objetivo principal establecer las condiciones óptimas del uso de sistemas de inmersión temporal para la mayor obtención de respuesta de generación de brotes de Lulo (*Solanum quitoense*) con objeto de coadyuvar a sentar las bases sólidas para la multiplicación óptima y masiva de la especie con miras en uso posterior de estudios genéticos, resistencia a plagas, entre otros usos más.

La sostenibilidad de este cultivo se ve afectada por el desconocimiento sobre los aspectos relacionados con el proceso productivo, tales como el manejo agronómico, nutrición, manejo poscosecha y lo más crítico es el manejo de plagas y enfermedades (Rojas, *et al.* 2014), por lo que el uso de cultivo *in vitro* nos puede apoyar a generar una nueva vía para el desarrollo de variedades nuevas con tolerancia a los patógenos que inciden sobre esta especie o simplemente disminuir la tasa de muerte de plántulas por presentarnos unas condiciones asépticas que no se alcanzan con técnicas tradicionales (Castillo, 2012), por lo que es primordial establecer adecuadamente las condiciones adecuadas para este fin.

Se propuso el uso de biorreactores de sistemas de inmersión temporal para lograr aumentar la capacidad de producción de plántulas en condiciones asépticas, disminuyendo costos de producción por la generación de ellas en un tiempo menor y con la ventaja de una homogeneidad genética siendo esto provechoso para fines diversos tanto como investigaciones posteriores así como un uso para multiplicación de plántulas para producción agrícola.

MARCO TEÓRICO

Lulo (*Solanum quitoense*)

Según Castro & Herrera (2019) la naranjilla o lulo (*S. quitoense*) es un frutal que pertenece a la familia de las solanáceas. Originaria de los sotobosques subtropicales de los Andes de Ecuador, crece principalmente en sitios con buena humedad, regiones frescas y sombreadas, que tengan altitudes entre los 800 y 1400 m.s.n.m. Otros países de cultivo son Perú, Colombia, México y Costa Rica.

Ochoa & Ellis (2002) citan que la naranjilla es una de las doce especies que constituyen la sección Lasiocarpa de la familia *Solanaceae*, autógama y con muy poca variabilidad en sus características morfológicas, fisiológicas y organolépticas. Y lo referenciado por Andrade *et al.*, 2016 nos dice que es una fruta climatérica de exquisito sabor y aroma.

Algunos de los nombres que se le brinda a *S. quitoense* son (Castro & Herrera, 2019):

EE.UU.: quito orange o popenoe

Colombia: lulo

Ecuador y Perú: naranjilla

Costa Rica: berenjena de olor

España: naranjilla de castilla o toronja

Holanda: gele terong

Francia: morelle de quito

Alemania: orange von quito

La clasificación taxonómica de la naranjilla según Whalen, Costish y Heiser (1981) y Villachica (1996) es la siguiente:

Reino: Vegetal

Subreino: Espermatophyta

División: Angiosperma

Subdivisión: Dicotiledonea

Clase: Simpetala

Subclase: Pentaclicica

Orden: Tubifloral

Familia: Solanaceae

Sección: Lasiocarpa

Género: *Solanum*

Especie: *S. quitoense*

Varietades: *S. quitoense* var. *quitoense*

S. quitoense var. *septentrional*

Para países como Ecuador, la producción de naranjilla superó las 14 mil toneladas métricas según el Censo Agronómico Nacional 2012 (Gutiérrez *et al.*, 2019), ilustrando su importancia económica para la región andina central; tomando esto en cuenta, que el mercado del lulo se dirige principalmente hacia Europa, Corea y Japón, y aunado a ello, la ubicación sociogeográfica de México, implementar campos con producción de buena de calidad de este producto sería una propuesta interesante.

Cultivos *in vitro*

Para Castillo (2012), la expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Las dos características fundamentales que destacan a esta técnica son: la asepsia, y el control de ciertos factores que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Cuando no se realiza el estudio con todo el ser vivo sino con solamente una parte del mismo, se utiliza el término explante para indicar la parte del órgano o tejido vegetal que se cultiva *in vitro*.

Una forma amplia de definir al cultivo de tejidos, es que se refiere a un heterogéneo grupo de técnicas mediante las cuales, un explante se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (Tandazo, 2015).

La base del cultivo de tejido vegetal es la totipotencialidad de sus células, que logran regenerar plantas completas idénticas a la original, los cambios fisiológicos, genéticos y morfológicos que deben ocurrir, está influenciado por los procesos metabólicos que origina el empleo de reguladores de crecimiento, como auxinas, citoquininas, giberelinas y poliaminas; con su uso se posibilita obtener resultados de interés en el área de la biotecnología vegetal (Perea, 2009). Cabe destacar que el reproducir en condiciones de laboratorio todos los factores que conforman el ambiente de la planta en la naturaleza es técnicamente muy complejo (Castillo, 2012).

Micropropagación

La micropropagación se basa en multiplicar explantes de plantas de forma masiva en condiciones controladas y estériles. En el cultivo *in vitro* podemos utilizar varios tipos de explantes, cada uno de ellos con una función o ruta a seguir. El explante más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas vegetativas de las plantas (González, 2014).

Existen dos grandes rutas a la hora de micropropagar plantas *in vitro*, la organogénesis y la embriogénesis: La organogénesis es un proceso que consiste en obtener tallos, raíces o flores por medio de una yema. Se trata de un proceso por el cual se busca la formación de embriones somáticos, que también recibe el nombre de embriogénesis asexual o adventicia (Gisbert, 2011).

La planta puede propagarse de tres maneras diferentes: (1) yema axilar, donde la yema axilar da lugar a muchos brotes nuevos; (2) la regeneración directa de yemas de brotes, además da lugar a muchas yemas o a través de embriones somáticos y da lugar a plántulas, ya que son diploides con brotes y raíces conectados por un sistema vascular; y (3) regeneración indirecta de brotes o embriones somáticos a partir de callos (Singh, 2015).

Medio de cultivo

El medio de cultivo es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua. A menudo se denomina medio basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y con otras sustancias. Los requerimientos nutritivos para un crecimiento *in vitro* óptimo varían con la especie e incluso son específicos de acuerdo con la parte de la planta que se esté cultivando y de la respuesta que se desea obtener. Debido a estas necesidades específicas se han desarrollado muchas formulaciones diferentes para los medios de cultivo (Martínez & Gaco, 2008).

Sistemas de inmersión temporal

El uso de medios líquidos en procesos de micropropagación se considera la solución ideal para reducir los costos de producción de plántulas y permitir la automatización. Entre otras ventajas de los sistemas de cultivo líquidos, es que proporcionan condiciones de cultivo uniformes, el medio puede ser renovado fácilmente sin necesidad de cambiar de recipiente, la limpieza del recipiente luego de un período de cultivo es más fácil y se reducen los subcultivos (Vilchez & Albany, 2014).

Sin embargo, la inmersión continua de los tejidos provoca síntomas de estrés oxidativo producto del incremento de los niveles H_2O_2 debido a los bajos niveles de oxígeno en el medio (Saher *et al.*, 2004). Para solucionar estos problemas en la actualidad se disponen de equipos para la propagación masiva basados en una inmersión temporal de los explantes, en los cuales la intervención de la mano de obra se minimiza, y puede controlarse factores tales como la concentración de carbohidratos, macronutrientes en el medio, así como el tiempo y frecuencia de inmersión (Castro & González, 2002).

Un sistema de inmersión temporal es un sistema de cultivo semiautomatizado para la propagación *in vitro* de plantas. Está basado en el contacto intermitente del medio de cultivo líquido con los explantes por un corto período de tiempo y la consecuente renovación de la atmósfera gaseosa, para evitar la hiperhidricidad de los tejidos y la acumulación de gases tóxicos (Basail *et al.*, 2011).

Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento vegetal son compuestos sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos, son similares a las fitohormonas y cumplen un papel importante en la regulación de diferentes procesos bioquímicos a nivel celular en los organismos vegetales (Alcántara *et al.*, 2019).

Se han podido fabricar de manera sintética reguladores de crecimiento que pueden imitar el rol de las fitohormonas de manera natural. Existen distintos tipos de reguladores capaces de promover o inhibir el crecimiento vegetal. Algunos autores han sugerido la existencia de compuestos químicos capaces de controlar el crecimiento de manera específica, por lo que los reguladores se han podido clasificar en diez tipos diferentes (Hussain *et al.*, 2012).

Según sea el balance hormonal y otras condiciones de cultivo, se puede propiciar la regeneración de distintos órganos o formaciones vegetales. Por ejemplo, si el balance de citoquininas/auxinas es mayor que 1, se favorece la generación de brotes; si es menor que 1, la generación de raíces; y si es igual a 1, la formación de callos (Segretín, 2006).

Cuadro 1. Principales reguladores utilizados en propagación *in vitro*. Referencia: Segretín, 2006.

Regulador	Función
Auxinas	Promueven la elongación celular, la formación de callos y raíces adventicias, inhiben la formación de brotes axilares adventicios y, a veces, inhiben la embriogénesis.
Citoquininas	Promueven la división celular, regulan el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

General:

- a) Propagar lulo (*Solanum quitoense*) mediante cultivo de tejidos en sistemas de inmersión temporal

Específicos

- a) Establecer en condiciones asépticas semillas de lulo (*Solanum quitoense*)
- b) Establecer en condiciones asépticas explantes de lulo (*Solanum quitoense*) para la formación de brotes
- c) Preparar y adecuar medios de cultivo para sistemas de inmersión temporal de lulo (*Solanum quitoense*)
- d) Evaluar la tasa de crecimiento
- e) Desarrollo de artículo científico

METODOLOGÍA REALIZADA

Obtención de semillas de *Solanum quitoense*

De frutos de *S. quitoense* se extraen las semillas y de manera posterior se debe realizar un tren de desinfección de la manera siguiente:

- a) Lavar perfectamente con agua de grifo
- b) Colocar las semillas en frascos de vidrio
- c) Adicionar alcohol al 95% hasta cubrir las semillas por 1 minuto y 30 segundos

- d) Vaciar y enjuagar con agua destilada
- e) Adicionar hipoclorito de sodio al 6.5% durante 20 minutos
- f) Lavar y enjuagar

Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de medios de cultivo se realiza de la siguiente manera:

- a) Pesar 30 g L⁻¹ de sacarosa
- b) Pesar 4.4 g L⁻¹ de medio Murashige & Skoog con vitaminas
- c) Adicionar 1 mL L⁻¹ de Plant Preservative Mixture (PPM)
- d) Reguladores de crecimiento a la concentración requerida
- e) Regular pH
- f) Pesar 8 g L⁻¹ de Agar Plant
- g) Vaciar a recipientes a utilizar

Evaluación de la germinación in vitro de lulo

A los dos meses de colocar las semillas a germinación se realiza el conteo total de las semillas germinadas y se utiliza la siguiente fórmula para la obtención del porcentaje de germinación

$$\% \text{ germinación} = \frac{\# \text{ de semillas germinadas}}{\# \text{ de semillas totales}} \times 100\%$$

Ensayo preliminar en tubos de ensayo con medio sólido

Se realizó un estudio preliminar al uso del uso de sistema de inmersión temporal en el que consistió en observar la respuesta de la estructura vegetal, así como el efecto de tipo de regulador de crecimiento, así como de distintas concentraciones de dichos reguladores, los tratamientos se describen en la Tabla 1. En este estudio preliminar se utilizaron 513 tubos de ensayo que contuvieron medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) en estado sólido. Se utilizaron 3 tipos de tejidos (Yema, tallo y hoja), un tratamiento sin reguladores, 4 reguladores y 2 combinaciones de reguladores (sin regulador, BA, ANA, KIN, AIA, BA+ANA, KIN+AIA), 3 niveles de concentraciones (0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L), realizándose 57 tratamientos en total.

Tabla 1. Tratamientos de distintas concentraciones y estructura vegetal que se sometieron a evaluación sobre la respuesta a brotes en medio MS sólido. Donde MS: Medio de cultivo de Murashige & Skoog. BA: Ácido indol-3-butírico. ANA: Ácido Naftalacético. AIA: Ácido 1H-indol-3-acético. KIN: quinetina

Tejido	Reguladores	Concentraciones
Yema	Medio MS sin regulador	0 mg/L de reguladores
	Medio MS + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
Tallo	Medio MS sin regulador	0 mg/L de reguladores
	Medio MS + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
Hoja	Medio MS sin regulador	0 mg/L de reguladores
	Medio MS + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + BA + ANA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L
	Medio MS + KIN + AIA	0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L




Sistemas de inmersión temporal





El sistema utilizado son los vasos RITA® con una capacidad de 1L, los cuales mantienen medio de cultivo líquido, el cual consiste en sales y vitaminas básicas de Murashige & Skoog 4.4 g/L suplementado con 0.5mg/L de Ácido Nicotínico, 4mg/L de Glicina, 0.02mg/L de IAA, además 30g/L de sacarosa, 1 mL Plant Preservative Mixture (PPM) a un pH 5.65 - 5.75. Se utilizaron tres biorreactores dentro de los cuales están distribuidos 30 explantes de *Solanum quitoense*, cada biorreactor contiene un tratamiento, los cuales son 1 (solo MS), 2 (MS + Ácido indol-3-butírico (BA) a 2.0 mg/L y Ácido Naftalacético (ANA) 0.2mg/L), 3 (MS + Ácido 1H-indol-3-acético (AIA) 2.0 mg/L y quinetina (KIN) 0.2 mg/L).


Estos fueron colocados durante 30 días en la cámara de crecimiento de 25°C, con ciclos de inmersión de 5 min cada 4 horas (Vilchez *et al.*, 2011). Transcurrido el tiempo del experimento fue realizada la toma de datos.

ACTIVIDADES REALIZADAS

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

FEBRERO	<p>Recepción de los frutos de la especie Lulo (<i>Solanum quitoense</i>)</p> <p>Extracción de semillas de Lulo y llevadas a tren de desinfección</p> <p>Las semillas cultivadas <i>in vitro</i> en medio sólido con medio MS para evaluar tasa de germinación</p>	
MARZO-ABRIL	Evaluación de la tasa de germinación de las semillas de Lulo	
MAYO	<p>Obtención de la tasa de germinación de las semillas</p> <p>Preparación de medios de cultivo para evaluación de la respuesta de distintos tipos de tejidos a la exposición de distintos reguladores de crecimiento así como concentraciones de los mismos a la generación de brotes</p>	

<p>JUNIO</p>	<p>Siembra de tejidos en medio MS</p>	
<p>JULIO-AGOSTO</p>	<p>Evaluación de respuesta de número de brotes a los reguladores de crecimiento</p>	
<p>SEPTIEMBRE-OCTUBRE</p>	<p>Evaluación de respuesta de número de brotes a la combinación de reguladores de crecimiento</p>	
<p>NOVIEMBRE</p>	<p>Preparación de medios de cultivo y siembra en sistemas de inmersión temporal</p>	

DICIEMBRE	Evaluación de la respuesta número de brotes en sistemas de inmersión temporal	
ENERO-MAYO	Desarrollo de artículo científico	

OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

OBJETIVOS

- Se cumplió con el objetivo general de propagar lulo (*Solanum quitoense*) mediante cultivo de tejidos en sistemas de inmersión temporal

De los objetivos específicos se cumplieron

- El establecer en condiciones asépticas semillas de lulo (*Solanum quitoense*)
- Se obtuvo la tasa de germinación de Lulo en Medio MS en cultivo sólido
- Se logró encontrar las condiciones asépticas para establecer explantes de lulo (*Solanum quitoense*) para la formación de brotes
- Se pudo evaluar la tasa de obtención de brotes en medio MS en cultivo sólido
- Se pudo determinar cuál es el mejor tratamiento para la generación de brotes en medio de cultivo sólido
- Se prepararon y adecuaron los medios de cultivo para sistemas de inmersión temporal de lulo (*Solanum quitoense*) con los mejores tratamientos obtenidos en la fase anterior
- Se realizó un estudio estadístico para evaluar la tasa de generación de brotes en la especie *Solanum quitoense* en sistemas de inmersión temporal
- Con los datos estadísticos arrojados se desarrolló un artículo científico que en breve será publicado en la revista científica AgroProductividad en este mismo año.

METAS

- Durante este tiempo de estancia como prestador de servicio social me ayudó para adquirir un amplio conocimiento en el área de biotecnología agrícola

- Con los objetivos planteados y cumplidos se logró observar todo el proceso biotecnológico que conlleva el manejo de especie agrícola-forestal dentro de un instituto de investigación
- La especie lulo nos permitió observar su comportamiento dentro del proceso de cultivo *in vitro* así como su aclimatación en invernadero
- Se logró desarrollar un artículo científico que será usado como un requisito que se ocupará para un posgrado

RESULTADOS

Tasa de germinación



Figura 1. Germinación de semillas. Se observan la cantidad de semillas germinadas y no germinadas en medio MS

Para este parámetro se colocaron a germinar en el medio MS 200 semillas de *Solanum quitoense* de las cuales 184 germinaron y las 16 semillas restantes no lo hicieron (Ver Fig.1), con lo cual se pudo obtener la tasa de germinación la cual es del 92% (Ver Fig. 2) en medio MS en estado sólido.



Figura 2. Tasa de germinación. El 92% de las semillas germinaron y el 8% restante no lo hicieron, esto evaluado en medio MS sólido

Medios de cultivos preparados para ensayo preliminar

Los tratamientos que fueron sometidos en el medio MS sólido con sus respectivos reguladores de crecimientos y concentraciones tuvieron como característica principal la esperada respuesta, que es el hecho de que los tejidos de yema apical serían los de mayores porcentajes de respuesta a la formación de nuevos brotes. Por lo que los resultados mostrados en el Cuadro 1 son los del tejido yema. En todos los tratamientos el mayor promedio de número de brotes generados no excede a 1 brote por explante.

TRATAMIENTO	PROMEDIO NUMERO DE BROTES
Testigo 2 Medio MS tejido yema	1
Medio MS ANA 0.5 tejido yema	0,56
Medio MS ANA 1.0 tejido yema	1
Medio MS ANA 2.0 tejido yema	0,67
Medio MS BA 0.5 tejido hoja	0,33
Medio MS BA 0.5 tejido yema	1,33
Medio MS BA 0.5 tejido tallo	0,67

Promedio de número de brotes producidos en cultivo sólido

Una vez teniendo la respuesta de los promedios generados por los tratamientos de reguladores de crecimientos solo, se procedió a evaluar la respuesta a la generación de brotes con combinaciones de reguladores y tres niveles de concentración en sólo el tejido yema apical. Los resultados se muestran en el Cuadro 2. En la que se observa un incremento del promedio de número de brotes generados en cada explante siendo los reguladores BA/ANA 2.0/0.2 mg/L y KIN/AIA 2.0/0.2 mg/L ambos tratamientos con un promedio de 2 brotes por explante.

TRATAMIENTO	PROMEDIO NUMERO DE BROTES
Medio MS BA/ANA 1.0/0.1 tejido yema	1,78
Medio MS BA/ANA 2.0/0.2 tejido yema	2,00
Medio MS KIN/AIA 1.0/0.1 tejido yema	1,11
Medio MS KIN/AIA 2.0/0.2 tejido yema	2,00

Promedio de número de brotes en sistemas de inmersión temporal

Por razones de conflictos de intereses no se pueden publicar los resultados obtenidos, sin embargo, se confirma que el uso de sistemas de inmersión temporal si tiene un efecto positivo superior sobre la respuesta en número de brotes en comparación con el sistema *in vitro* tradicional.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Andrade *et al.*, 2013 nos da una referencia cercana a la tasa de germinación esperada para *Solanum quitoense* ya que si bien no se menciona directamente esta especie nos hace referencia a especies silvestres del género *Solanum* y que responden a distintos medios de cultivo que incluyen MS siendo las tasas de germinación más altas de 90.6%, 94.40%, 55.4% y 55.20% para las especies *S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. marginatum* y *S.*

umbellatum respectivamente, y para el caso de *S. quitoense* nos resultó un porcentaje del 92%.

Para el caso de la respuesta a la generación de número de brotes con reguladores solos a los 3 niveles de concentración se generó el resultado de que el máximo promedio queda en un solo brote por explante, sin embargo, al modificar la adición de un regulador más, siendo el segundo proceso de crecimiento con una combinación de dos reguladores en medio sólido se aumenta este promedio siendo ahora las concentraciones BA/ANA a 2.0/0.2 mg/L así como de KIN/AIA a 2.0/0.2 mg/L quienes tienen una mejor respuesta, la cual nos aumenta a 2 brotes por explante en medio sólido, esto es similar a lo reportado por (Andrade *et al.*, 2013) en donde las especies *S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. marginatum* y *S. umbellatum S. quitoense* donde sus promedios de número de brotes obtenidos es de dos.

Al obtener las combinaciones de reguladores con mayor efecto en la respuesta de número de brotes *in vitro* con medio MS en estado sólido se continuó con la evaluación de esa respuesta pero modificando la técnica, llevándola a sistemas de inmersión temporal ya que (Castillo *et al.*, 2020) nos indica que el uso de esta técnica disminuye el tiempo y aumenta la respuesta de los explantes gracias a que el medio líquido ayuda a una mejor disponibilidad de nutrientes así como la mayor cantidad de oxígeno disponible que ayuda a acelerar procesos celulares de los explantes expuestos a estos sistemas.

Posterior a la evaluación de la respuesta de generación de número de brotes en sistemas de inmersión temporal se demuestra que efectivamente una de las combinaciones mostradas aquí tiene un efecto superior tanto en cultivo sólido con todos los reguladores y combinaciones presentadas, así como dentro del mismo sistema de inmersión temporal donde se pusieron a evaluar 2 combinaciones y el medio MS solo sin regulador.

Una vez recorrido todo el proceso de esta investigación se logró demostrar que efectivamente se puede aumentar la respuesta a número de brotes si se utilizan de manera adecuada los sistemas de inmersión temporal, por lo que se concluye que esta técnica si nos proporciona una ayuda significativa para ahorrarse tiempo, espacio y dinero para la obtención de nuevas plántulas para el fin que se desee.

RECOMENDACIONES

Durante el préstamo del actual servicio social se pudo llegar a la etapa de la aclimatación de plántulas generadas *in vitro* sin embargo se produjo el detalle de baja tasa de establecimiento, por lo que se sugiere tener precaución e innovación en los métodos de aclimatación para *Solanum quitoense* por lo cual existe aquí una línea de investigación.

LITERATURA CITADA

Alcántara-Cortés, J. S., Acero-Godoy, J., Alcántara-Cortés, J. D., & Sánchez-Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109-129. Consultado en Febrero, 2022, Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200109&lng=en&tlng=es

Andrade, J.; Moreno, C.; Bravo, J.; Guijarro, M.; Monar, V.; Cevallos, C; Concellón, A. (2016). Efecto del estado de madurez sobre la calidad de tres variedades de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 17, núm. 2, 2016, pp. 217-230 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México.

Andrade-Díaz, D.; Córdoba-Figueroa, M. E.; Criollo-Escobar, H. y Lagos-Burbano, T. C. 2013. Evaluación de medios de cultivo para propagación in vitro de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*. *Acta Agron.* 62:27-36.

Basail, M., Medero, V., Otero, E., Torres, M., Cabrera, M., López, J., Santos, A., Rayas, A., Bauta, M., Paz, E., Beovidez, Y., Ortega, A., Enrique, J. (2011). Multiplicación *in vitro* de 'FHIA-25' (*Musa* spp., AAB) en Sistemas de Inmersión Temporal. *Revista Biotecnología Vegetal* 11(1): 27-31.

Castro L., W. O., & Herrera I., L. (2019). La naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) en Ecuador. Consultado en febrero de 2022. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/12219/Naranjilla.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Castro, D.; González, J. 2002. *Eucalyptus* (*Eucalyptus grandis* Hill. ex Maiden.) en el sistema de inmersión temporal. *Agricultura Técnica.* 62(1): 68-78.

Castillo, A. (2012). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *INIA, Uruguay.*

Castillo Ontaneda, A. L., Moreno Herrera, A., García Batista, R. M. (2020). Eficiencia del sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional in vitro. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 173-182

Gisbert D., M. C. (2011). Morfogénesis: la ruta organogénica versus la ruta embriogénica. Universidad Politécnica de Valencia. Consultado en febrero de 2022. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/11526/Microsoft%20Word%20-%20art%EDculo%20docente%20cgisbert%20sept2010.pdf?sequence=1#:~:text=En%20la%20organog%C3%A9nesis%20se%20produce,a%20partir%20de%20c%C3%A9lulas%20som%C3%A1ticas>

González, A. N. (2014). Embriogénesis somática en paraíso (*Melia azedarach*) cultivado *in vitro*. *Botánica morfológica.* Consultado en febrero de 2022. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/animaciones/ciclos/paraiso/paraiso%20in%20vitro/text>

[o.htm](#)

Gutiérrez, B., Cobo, M. M., Orellana, M., Vega, J., Arahana, V., Jaramillo, V., & deLourdes Torres, M. (2019). Micropropagation of *Solanum quitoense* var. *quitoense* by apical bud, petiole and hypocotyl culture. *Plant Biotechnology*, 36(2), 91-97.

Hussain A, Ahmed Qarshi I, Nazir H, Ullah I. Recent Advances in Plant *in vitro* Culture. Vol. 1, *Intech*. 2012. 221 p.

Martínez, N. L. & Gaco, M. (2008). Micropropagación vegetal. Universidad de Vigo. Consultado en febrero de 2022. Disponible en: http://revbigo.webs.uvigo.es/images/revbigo/2008/Rebigo_2008_07.pdf

Ochoa, J.; y Ellis, M. (2002). Seed transmission of *Fusarium oxysporum* in common naranjilla (*Solanum quitoense*) in Ecuador. *Plant Health Progress*. doi:10.1094/PHP2001-0719-01-HN

Perea, M. (2009). Cultivo de Tejidos Vegetales In Vitro, 1a. edición. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Ciencias. 284pp.

Rojas, J. M., Peñuela, A. E., Gómez, C. R., Aristizábal, G. E., MC, C. C., & López, J. A. (2014). Capítulo 3: Lulo de Castillo. Caracterización de los productos hortifrutícolas colombianos y establecimiento de las normas técnicas de calidad. Consultado en febrero de 2022. Disponible en: <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/828/6/Lulo%20de%20Castilla.pdf>

Saher, S., Piqueras, A., Hellin, E., Olmos, E. (2004). Hyperhydricity in micropropagated carnation shoots: the role of oxidative stress. *Physiologia Plantarum*. 120(1): 152-161.

Segretín, M. E. (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). *Consejo argentino para la información y el desarrollo de la biotecnología*, 2, 5-8.

Singh, A. (2015). Micropropagation of plants. In *Plant Biology and Biotechnology*. 329-346 pp. Springer, New Delhi.

Sogamoso Alape, H. J. (2020) Estudio preliminar de la respuesta fisiológica del lulo sin espinas (*Solanum quitoense* var. *quitoense*) expuesto a diferentes niveles de radiación durante la etapa vegetativa en la Sabana de Bogotá. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10654/35950>

Tandazo C., J. A. (2015). Evaluación de medios de cultivo in-vitro para la inducción de callos y vástagos de naranjilla *Solanum quitoense* var. *quitoense*, UCE-FCA, 2015 (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Villachica, H. (1996). Frutales y Hortalizas Promisorias de la Amazonía. Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría Pro-Tempore. Lima, Perú.

Vilchez, J.; Albany, N.; Martínez, L.; Molina, M.; Pirela, C.; Molina, M.; Álvarez, C. & Chirinos,

J. (2011). Multiplicación en sistemas de inmersión temporal y enraizamiento *ex vitro* de ocumo blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(1), 94-102. Retrieved Junio 08, 2022, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752011000100013&lng=en&tlng=es.

Vilchez, J., & Albany, N. (2014). Multiplicación in vitro de *Psidium guajava* L. en sistemas de inmersión temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(2), 96-103. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752014000200012

Whalen, M.; Costish, D.; y Heiser, C. (1981). *Taxonomy of Solanum Section Lasiocarpa* (Vol. 12). Ithaca, N.Y.: Gentes Herbarum.