

**Estandarización de un protocolo de desinfección de semillas y meristemas apicales y axilares para micropropagación in vitro de plantas de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ en el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB-UNAD) Dosquebradas, Risaralda.**

John Edwin Cardona Marín

Asesor:

Manuel Francisco Polanco Puerta

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente ECAPMA

Agronomía

2025

## **Dedicatoria**

A mi esposa y a mi hijo, quienes han sido mi mayor inspiración y motivo para seguir adelante. Su amor, apoyo y paciencia me han dado la fuerza para alcanzar este logro. A mi hijo, deseo que este trabajo sea una muestra de que, con esfuerzo, dedicación y constancia, cualquier meta es posible.

## **Agradecimientos**

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB) de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) por el apoyo brindado durante el desarrollo de este proyecto, especialmente al doctor Manuel Francisco Polanco Puerta, a las docentes Laura Victoria Peñaranda González y Juliana Rivera Cano por su guía y orientación constante.

Agradezco también a mis profesores de la Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente (ECAPMA) por compartir sus conocimientos y por su acompañamiento académico, que ha sido fundamental para la realización de este trabajo.

Mi gratitud al equipo de TecnoParque SENA Risaralda, cuya infraestructura y apoyo técnico fueron clave para la implementación y ejecución de los ensayos en condiciones controladas.

Finalmente, agradezco profundamente a mi familia por su apoyo incondicional, paciencia y motivación constante. Sin su respaldo, este logro no habría sido posible.

## Resumen

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) es una planta de la familia Solanaceae de importancia agroindustrial en la región andina. Sin embargo, su propagación tradicional mediante semillas o estacas presenta un alto riesgo de diseminación de enfermedades. La micropropagación in vitro ofrece ventajas para la obtención de plántulas homogéneas y libres de patógenos. Este estudio tuvo como objetivo desarrollar un protocolo de desinfección para el establecimiento in vitro de semillas y meristemas del cultivar SOLUNAD-DOSQ. Se trabajó en el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB-UNAD) y el Tecnoparque SENA Risaralda. Se evaluaron cuatro concentraciones de hipoclorito de sodio (0.5%, 1%, 1.5% y 10%) y tres tiempos de exposición (5, 10 y 15 minutos) en semillas de SOLUNAD-DOSQ, bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Las semillas se sembraron en medio MS con BAP (4 mg/L) y AIA (1 mg/L), y se midieron las tasas de germinación y contaminación durante 35 días. Se empleó ANOVA y prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para comparar los tratamientos. Los resultados mostraron que todas las combinaciones de hipoclorito de sodio lograron tasas de germinación superiores al 95% y 0% de contaminación, siendo el tratamiento de 0.5% de NaClO por 5 minutos el más eficiente. Para meristemas, se evaluaron hipocótilos, cotiledones, yemas apicales y axilares, siendo los cotiledones los más eficientes (100% de regeneración). El protocolo propuesto demostró ser efectivo y reproducible para la producción masiva de plántulas sanas y de alta calidad de *Solanum quitoense* Lam.

**Palabras clave:** lulo, micropropagación, desinfección, yemas axilares, fitomejoramiento.

### Abstract

Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) is a plant from the Solanaceae family with significant agro-industrial potential in the Andean region. However, its traditional propagation through seeds or cuttings carries a high risk of disease dissemination. In vitro micropropagation offers advantages for obtaining homogeneous and pathogen-free plantlets. This study aimed to develop a disinfection protocol for the in vitro establishment of seeds and meristems of the SOLUNAD-DOSQ cultivar. The research was conducted at the Center for Research in Agriculture and Biotechnology (CIAB-UNAD) and the SENA Risaralda Tecnoparque. Four concentrations of sodium hypochlorite (0.5%, 1.0%, 1.5%, and 10%) and three exposure times (5, 10, and 15 minutes) were evaluated on SOLUNAD-DOSQ seeds using a completely randomized design with three replicates per treatment. Seeds were cultured on MS medium supplemented with BAP (4 mg/L) and IAA (1 mg/L), and germination and contamination rates were monitored for 35 days. ANOVA and Tukey's test ( $p < 0.05$ ) were applied to compare treatments. Results showed that all sodium hypochlorite combinations achieved germination rates above 95% and 0% contamination, with the 0.5% NaClO for 5 minutes treatment being the most efficient. For meristems, hypocotyls, cotyledons, apical buds, and axillary buds were evaluated, with cotyledons showing the best response (100% regeneration). The proposed protocol proved to be effective and reproducible for the mass production of healthy, high-quality *S. quitoense* Lam. plantlets.

**Keywords:** lulo, micropropagation, disinfection, axillary buds, plant breeding.

## Contenido

Introducción .....	9
Planteamiento del problema.....	11
Justificación .....	13
Objetivos.....	15
Objetivo General .....	15
Objetivos Específicos.....	15
Marco Teórico.....	16
Importancia del lulo ( <i>Solanum quitoense</i> Lam.).....	16
Condiciones edafoclimáticas del cultivo.....	16
Principales Plagas y Enfermedades.....	17
Zonas de Cultivo y Área Sembrada.....	17
Diversidad Genética y Adaptabilidad .....	18
Métodos de Propagación de <i>Solanum quitoense</i> Lam.....	19
Cultivo in vitro de <i>Solanum quitoense</i> Lam.....	22
Importancia del Cultivo in vitro.....	24
Protocolos de Micropropagación In Vitro.....	25
Materiales y métodos .....	29
Localización y tipo de Estudio.....	29
Materiales y Métodos Objetivo Específico No. 1 .....	29
Materiales y Métodos Objetivo Específico No. 2 .....	37
Resultados y discusión.....	41
Resultados Objetivo Específico No. 1.....	41
Resultados Objetivo Específico No. 2.....	48
Conclusiones .....	56
Recomendaciones .....	58
Referencias.....	59
Apéndices.....	67

## Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Plagas y enfermedades en el cultivo de Solanum quitoense Lam. y sus efectos</i> .....	17
Tabla 2 <i>Comparación de métodos de propagación de Solanum quitoense Lam.</i> .....	20
Tabla 3 <i>Comparación de principales protocolos de micropropagación in vitro utilizados en solanáceas</i> .....	26
Tabla 4 <i>Volúmenes de medio de cultivo preparados según Murashige y Skoog (1962).</i> .....	32
Tabla 5 <i>Diseño experimental para la desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam. con NaClO.</i> .....	34
Tabla 6 <i>Resultados de germinación de semillas de Solanum quitoense Lam. bajo condiciones controladas.</i> .....	38
Tabla 7 <i>Evaluación de explantes de Solanum quitoense Lam. en micropropagación.</i> .....	39
Tabla 8 <i>Resultados de desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam. (SOLUNAD-DOSQ y Castilla) bajo diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio y tiempos de inmersión.</i> 41	
Tabla 9 <i>Análisis estadístico de contaminación y germinación en semillas de Solanum quitoense Lam. (SOLUNAD-DOSQ y Castilla).</i> .....	42
Tabla 10 <i>Resultados de la desinfección y micropropagación de explantes de Solanum quitoense Lam. (UNADQ).</i> .....	50
Tabla 11 <i>Prueba HSD de Tukey para comparación de medias entre tipos de explante en Solanum quitoense Lam. (UNADQ).</i> .....	51

### Lista de figuras

Figura 1 <i>Flujo de fases fisiológicas en métodos de propagación</i> .....	22
Figura 2 <i>Fases del cultivo in vitro de Solanum quitoense Lam.</i> .....	24
Figura 3 <i>Protocolo de desinfección de semillas</i> .....	31
Figura 4 <i>Semillas SOLUNAD-DOSQ libres de patógenos germinando en condiciones de laboratorio.</i> .....	44
Figura 5 <i>Obtención de explantes SOLUNAD-DOSQ a partir de plántulas geminadas in vitro</i> ...	49
Figura 6 <i>Diferencias en los niveles medios entre tipos de explante de Solanum quitoense Lam. (UNADQ) según la prueba HSD de Tukey.</i> .....	53

## Introducción

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) es una planta frutal de la familia Solanaceae, originaria de la región andina de América del Sur, que incluye países como Colombia, Ecuador y Perú. En Colombia, el lulo es un cultivo de alto valor comercial y cultural, apreciado por las características organolépticas de su fruto, como su sabor agridulce y su textura suave, lo que le confiere una gran aceptación en los mercados nacionales e internacionales. Además, su composición nutricional, rica en vitamina C, fibra y compuestos antioxidantes, le otorga un valor añadido en la industria alimentaria y de procesamiento.

A pesar de su potencial agroindustrial, la producción de lulo enfrenta importantes desafíos agronómicos. La propagación tradicional mediante semillas o estacas presenta limitaciones debido a la alta variabilidad genética y al riesgo de diseminación de enfermedades como virus, bacterias y hongos, lo que afecta directamente la calidad y productividad del cultivo. Las plantas obtenidas por propagación sexual suelen mostrar diferencias significativas en el tamaño del fruto, rendimiento y resistencia a enfermedades, lo que dificulta la uniformidad en la producción.

La micropropagación *in vitro* ha surgido como una alternativa eficaz para superar estas limitaciones, ya que permite la producción masiva de plántulas genéticamente homogéneas y libres de patógenos en un período corto de tiempo. Esta técnica ofrece ventajas significativas, como la conservación de la diversidad genética, el desarrollo de plantas vigorosas y la obtención de explantes libres de contaminantes. Sin embargo, uno de los principales retos en el

establecimiento de cultivos in vitro es el control de la contaminación microbiana, que puede afectar la tasa de germinación, el desarrollo de las plántulas y la calidad del material vegetal.

En este contexto, este estudio tiene como objetivo desarrollar un protocolo de desinfección para el establecimiento in vitro de semillas y meristemos del cultivar de lulo SOLUNAD-DOSQ, obtenido mediante procesos de fitomejoramiento en el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB) de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). La implementación de un protocolo eficiente permitirá mejorar la tasa de establecimiento, reducir la contaminación y garantizar la producción de plántulas de alta calidad para programas de mejoramiento genético y comercialización de lulo en la región andina.

## Planteamiento del problema

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) es uno de los cultivos más prometedores en la región andina de Colombia, conocido por sus características organolépticas y su potencial para el procesamiento industrial. Sin embargo, la productividad de este cultivo se ve limitada por diversos factores como la calidad de las semillas, la selección adecuada de las zonas de siembra, la afectación por plagas y enfermedades, así como por las prácticas agronómicas y las condiciones de cosecha y poscosecha (Gallo et al., 2018). Según el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 2011), entre las principales problemáticas se destacan los marchitamientos de origen bacteriano y fungoso, la antracnosis en frutos y la gota o tizón en el follaje. Estos problemas están a menudo asociados con el uso de material de siembra de baja calidad, que en su mayoría proviene de semillas, lo que genera una alta variabilidad genética (Aguilera et al., 2019).

La propagación tradicional del lulo ha demostrado ser ineficaz para mantener la calidad del material vegetal, lo que ha llevado a la búsqueda de métodos alternativos más eficientes, como el cultivo in vitro. Esta técnica biotecnológica no solo permite la producción de plantas sanas y libres de patógenos, sino que también asegura la fidelidad genética y la homogeneidad del material cultivado (Criollo et al., 2016; Segovia et al., 2002). La implementación de protocolos de desinfección adecuados es esencial para el éxito del establecimiento del cultivo in vitro, ya que el mantenimiento de la variabilidad genética y la conservación de atributos deseables son fundamentales para la obtención de plántulas clonales de alta calidad (Fory, 2005; Escobar & Alfaro, 2002).

Adicionalmente, la utilización de especies silvestres para mejorar la producción de cultivos de interés comercial, como el lulo, es un enfoque creciente en la fruticultura. Los parientes silvestres son fuente de genes de resistencia que pueden contribuir a la adaptación de las plantas frente a plagas, enfermedades y factores ambientales adversos (Cárdenas-Burgos et al., 2016; Polanco-Puerta et al., 2018). En este sentido, el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB) viene investigando la mejora genética de *Solanum quitoense* Lam., buscando facilitar las condiciones de cosecha y obtener frutos con características organolépticas deseadas (Raza, 2020; Cárdenas-Burgos et al., 2016).

Dado lo anterior, es imperativo contar con un banco de germoplasma in vitro que permita conservar la variedad mejorada y propagar el material de forma masiva. Este proyecto de investigación tiene como objetivo dar respuesta a la siguiente pregunta:

**¿Es posible desinfectar de manera eficiente las semillas y meristemos de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ para alcanzar el establecimiento del cultivo in vitro?**

## Justificación

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) es una planta de la familia Solanaceae, con más de 14 especies, de las cuales ocho se encuentran en Colombia. Su desarrollo ha sido impulsado principalmente por los propios productores, en ausencia de un acompañamiento científico inicial en la investigación y experimentación (Gómez-Merino et al., 2014). Colombia se beneficia de una amplia variabilidad genética de *Solanum quitoense* Lam. y otras especies relacionadas, así como de nichos ecológicos adecuados para su siembra, un potencial agroindustrial significativo y la aceptación del producto por parte del consumidor. Esto lo convierte en una opción viable para la reconversión productiva de pequeños y medianos productores.

Sin embargo, la propagación sexual del lulo, realizada a través de semillas, presenta desafíos significativos. Aunque la propagación vegetativa por estacas es sencilla y eficiente, conlleva un alto riesgo de diseminación de enfermedades (Fory, 2005). El tamaño diminuto de las semillas y la fragilidad de las plántulas en sus primeras etapas hacen indispensable el uso de semilleros. Para esto, se recomienda un proceso de fermentación de la pulpa del fruto con las semillas, seguido de un lavado y secado antes de la siembra (Aguilera et al., 2019).

La micropropagación in vitro ha surgido como una alternativa eficiente para superar estas limitaciones. A diferencia de la propagación sexual, que genera alta variabilidad genética y plantas con características inconsistentes, la micropropagación permite obtener plántulas homogéneas y libres de patógenos, con una tasa de multiplicación superior y resistencia a condiciones de estrés. Esta metodología permite obtener un número elevado de plántulas

genéticamente idénticas en un corto periodo, con tolerancia a diversos tipos de estrés (Aguilera et al., 2019; Cárdenas-Burgos, 2016).

El desarrollo de este proyecto complementará los estudios realizados en el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB) de la UNAD, específicamente sobre *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ (Polanco-Puerta et al., 2018). Con el objetivo de propagar masivamente plántulas seleccionadas, se buscará garantizar su producción en campo y la obtención de plántulas libres de enfermedades. La disponibilidad de plántulas libres de patógenos permitirá aumentar la productividad y contribuir a la seguridad alimentaria y a la sostenibilidad agrícola al garantizar un suministro constante y estable de frutos para los mercados nacionales e internacionales.

Además, la producción masiva de plántulas de alta calidad permitirá a los pequeños productores mejorar sus ingresos, reducir las pérdidas por enfermedades y fortalecer la cadena productiva, generando un impacto positivo en la economía local y en la calidad de vida de las comunidades rurales. Por lo tanto, el desarrollo de este protocolo no solo fortalecerá la producción agrícola sostenible, sino que también contribuirá al mejoramiento genético y a la competitividad del lulo en mercados nacionales e internacionales.

## Objetivos

### Objetivo General

Estandarizar un protocolo de desinfección de semillas y meristemos para el establecimiento de cultivo *in vitro* de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ, a partir de semillas cigóticas y yemas apicales y axilares provenientes de plantas élite, los cuales permitan la obtención masiva de plántulas clonales de alta calidad bajo las condiciones bióticas y abióticas del Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología - CIAB Dosquebradas Risaralda.

### Objetivos Específicos

Determinar un método eficiente de desinfección de semillas de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ para el establecimiento de cultivo *in vitro*.

Establecer un método eficiente de desinfección de meristemos apicales y axilares de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ que permita la brotación para el establecimiento de cultivo *in vitro* bajo condiciones bióticas y abióticas de Dosquebradas Risaralda.

## Marco Teórico

### Importancia del lulo (*Solanum quitoense* Lam.)

El lulo, conocido científicamente como *Solanum quitoense* Lam., es una fruta de la familia de las **Solanaceae**, originaria de la región andina de América del Sur, que incluye países como Colombia, Ecuador y Perú. En Colombia, se reconocen varias especies de lulo, siendo *Solanum quitoense* Lam. la más cultivada y la que presenta un mayor interés comercial.

El lulo ha ganado atención no solo por su valor nutritivo, sino también por su potencial en la agroindustria. Este cultivo se caracteriza por su alto contenido de vitamina C, fibra y compuestos antioxidantes, como el ácido ascórbico y carotenoides, que pueden tener efectos positivos sobre la salud humana (Chacón et al., 2020). Además, la producción de metabolitos secundarios en el lulo ofrece aplicaciones biotecnológicas significativas, como la obtención de extractos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

### Condiciones edafoclimáticas del cultivo

Según AGROSAVIA (2022), el lulo se desarrolla óptimamente en suelos profundos, bien drenados y ricos en materia orgánica, con un pH que oscila entre 5.5 y 6.5. Los suelos arcillosos o limosos son preferibles, ya que facilitan el anclaje de las raíces y la retención de humedad. En términos de clima, el lulo se adapta a altitudes que van desde los 1,200 hasta los 2,500 metros sobre el nivel del mar. Prefiere temperaturas moderadas que oscilan entre los 18 y 25 °C y requiere un régimen de lluvias adecuado, idealmente entre 1,200 y 2,500 mm anuales, distribuidos a lo largo del año para mantener la humedad del suelo.

## Principales Plagas y Enfermedades

A pesar de sus características favorables, el cultivo de lulo enfrenta varios desafíos, principalmente en forma de plagas y enfermedades. Las más comunes se detallan a continuación:

**Tabla 1**

*Plagas y enfermedades en el cultivo de Solanum quitoense Lam. y sus efectos*

Plaga/Enfermedad	Agente	Efecto en el Cultivo	Referencias
Gusano cogollero	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Daña hojas y cogollos.	Mora et al., 2021
Chinche de los cuernos	<i>Nicotiana tabacum</i>	Afecta desarrollo de la planta.	Cárdenas et al., 2021
Trips	<i>Frankliniella spp.</i>	Deformaciones en frutas y transmisión de virus.	Segovia et al., 2002
Mildiu	<i>Peronospora sp.</i>	Manchas en hojas.	Gallo et al., 2023
Tizón	<i>Phytophthora infestans</i>	Devastación del cultivo si no se controla.	Fischer et al., 2022
Virus del mosaico del tabaco (TMV)	-	Afecta calidad del fruto.	Rodríguez et al., 2019

*Nota.* Tabla elaborada por el autor con base en Mora et al. (2021), Cárdenas et al. (2021), Segovia et al. (2002), Gallo et al. (2023), Fischer et al. (2022) y Rodríguez et al. (2019).

## Zonas de Cultivo y Área Sembrada

En Colombia, las zonas con mayor producción de lulo incluyen los departamentos de Huila, Valle del Cauca, Antioquia, Cauca y Nariño, donde las condiciones agroecológicas permiten su óptimo desarrollo en altitudes entre 1,600 y 3,000 metros sobre el nivel del mar. Huila se destaca como el principal productor, seguido por Valle del Cauca y Antioquia, debido a su idoneidad en términos de clima y altitud, entre 1,900 y 2,200 metros sobre el nivel del mar (Aguilera et al., 2019 y Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019).

En términos de área sembrada y rendimiento, se estima que existen aproximadamente 7,751 hectáreas dedicadas al cultivo de lulo en el país, con un rendimiento promedio de 9.92 toneladas por hectárea, lo cual contribuye a una producción nacional de alrededor de 76,896 toneladas anuales. Estos datos reflejan la importancia económica del lulo en la agricultura colombiana, aunque el área de cultivo puede variar por factores como el uso de agroquímicos, las variaciones climáticas y los cambios en los precios de mercado (Aguilera et al., 2019 y Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019).

### **Diversidad Genética y Adaptabilidad**

La diversidad genética de *Solanum quitoense* Lam. ha sido documentada en estudios previos, resaltando la variabilidad genética y la adaptabilidad de esta especie a diferentes condiciones ambientales (Fory Sánchez, 2005).

Dicha diversidad es fundamental para su adaptabilidad en diversos ecosistemas andinos, lo que lo posiciona como una especie con alto potencial en prácticas agrícolas sostenibles y en programas de mejoramiento genético. Según Aguilera et al. (201), la amplia variabilidad genética del lulo permite seleccionar variedades que no solo presentan una mayor resistencia a enfermedades y plagas, sino que también muestran tolerancia a condiciones climáticas adversas. Esta diversidad genética es clave para la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible, especialmente en comunidades rurales que dependen de estos cultivos (Fischer et al., 2022).

En Colombia, se han realizado estudios significativos sobre la diversidad genética del lulo. Por ejemplo, Morillo-Coronado (2017) caracterizaron la diversidad genética de 21

materiales de lulo en Boyacá utilizando marcadores RAMs, encontrando una alta variabilidad genética en la zona de estudio.

La Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) ha contribuido notablemente en este campo. Investigadores del Centro de Investigación de Agricultura y Biotecnología (CIAB) de la UNAD desarrollaron una nueva variedad de lulo más dulce y tolerante a plagas, mediante procesos de hibridación entre las variedades “La Selva” y “Castilla”. Esta nueva variedad, denominada SOLUNAD Dosq, presenta frutos grandes y un sabor más dulce, además de una planta vigorosa con mejor estructura y tolerancia a nemátodos y al pasador del fruto.

Estos esfuerzos de conservación y estudio de la diversidad genética del lulo son esenciales para su mejoramiento y adaptación a diferentes condiciones agroecológicas, contribuyendo al desarrollo sostenible de las comunidades rurales.

### **Métodos de Propagación de *Solanum quitoense* Lam.**

En el cultivo de *Solanum quitoense* Lam., conocido comúnmente como lulo, existen dos métodos principales de propagación: la propagación sexual y la propagación asexual, cada uno con características específicas que los hacen más adecuados según el contexto y los objetivos del cultivo. La propagación sexual se lleva a cabo mediante el uso de semillas, promoviendo una mayor variabilidad genética, lo que es beneficioso para obtener plantas adaptadas a diferentes condiciones ambientales y con resistencia a ciertas enfermedades y plagas (Hernández et al., 2021). Además, las plantas obtenidas por este método tienden a desarrollar sistemas radiculares vigorosos, mejorando la absorción de nutrientes y agua (Gómez-Merino et al., 2014). Sin

embargo, esta forma de propagación requiere un tiempo considerable para que las plantas alcancen la madurez y comiencen la producción de frutos, lo cual puede representar una limitante en sistemas de producción comercial (Cárdenas-Burgos et al., 2016).

Por otro lado, la propagación asexual, que incluye técnicas como la micropropagación, se realiza mediante el uso de explantes de plantas madre seleccionadas, asegurando así la clonación de características deseables en las nuevas plántulas. Este método es ideal para obtener un gran número de plántulas en un corto período, manteniendo la uniformidad y calidad genética de las plantas producidas, además de garantizar que estas estén libres de patógenos al ser cultivadas en condiciones controladas (Fory y Cárdenas-Burgos, 2021; López et al., 2019). Sin embargo, esta técnica puede disminuir la diversidad genética, lo que podría aumentar la susceptibilidad de las plantas a plagas y enfermedades (Gutiérrez et al., 2019).

La presencia de metales pesados, como el cromo, puede afectar negativamente la germinación y el desarrollo de plántulas de *Solanum* (Hafiz & Ma, 2021). La Tabla 2 resume las ventajas y desventajas de ambos métodos de propagación.

**Tabla 2**

*Comparación de métodos de propagación de Solanum quitoense Lam.*

Método de Propagación	Ventajas	Desventajas	Tiempo de Establecimiento	Costos	Variabilidad Genética	Riesgo de Enfermedades
Sexual (Semillas)	Mayor diversidad genética. Desarrollo de raíces vigorosas. Fácil acceso y almacenamiento de semillas.	Mayor tiempo hasta la cosecha. Alta variabilidad en el rendimiento y características del fruto. Sensible a enfermedades transmitidas por semillas.	6-8 meses hasta la producción de frutos	Bajo	Alta	Medio (dependiendo de la calidad de la semilla)

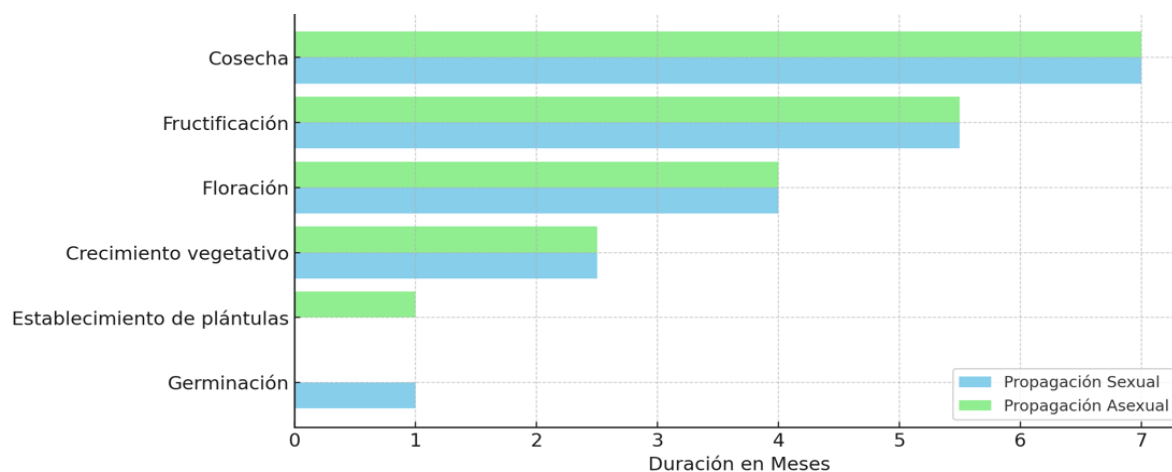
Asexual (Estacas, Micropropa- gación)	Producción rápida de clones homogéneos. Plántulas libres de patógenos si se hace en condiciones controladas. Asegura uniformidad en el cultivo.	Puede reducir la diversidad genética. Requiere técnicas especializadas. Mayor inversión inicial en insumos de laboratorio.	2-4 meses hasta la producción de plántulas listas para el campo	Medio- Alto	Baja	Bajo (si el material inicial es libre de enfermedades)
--	--	--	---	----------------	------	--

*Nota.* Tabla elaborada por el autor con base en Hernández et al. (2021); Fory & Cárdenas-Burgos (2021); Gómez-Merino et al. (2014) y López et al. (2019).

Cada método presenta tiempos específicos en cada fase fisiológica del desarrollo de *Solanum quitoense* Lam. La Figura 1 muestra la duración de las fases fisiológicas clave en los métodos de propagación sexual y asexual, desde la germinación hasta la cosecha. En el caso de la propagación sexual, el proceso de germinación y el crecimiento vegetativo requieren más tiempo, lo que se traduce en un ciclo más largo hasta la obtención de frutos (6 a 8 meses), mientras que la propagación asexual permite un establecimiento más rápido de plántulas y un ciclo de crecimiento acelerado. Esta comparación es particularmente relevante para el desarrollo de estrategias de cultivo sostenibles en zonas andinas, ya que el tiempo hasta la cosecha puede influir directamente en la rentabilidad del sistema de producción y en la resiliencia del cultivo frente a las condiciones locales (Hernández et al., 2021; Fory & Cárdenas-Burgos, 2021).

**Figura 1**

*Flujo de fases fisiológicas en métodos de propagación*



*Fuente.* Figura elaborada por el autor con base en la revisión de literatura y experiencia experimental en el proyecto de investigación de *Solanum quitoense* Lam.

### **Cultivo in vitro de *Solanum quitoense* Lam.**

La micropropagación de especies del género *Solanum* ha demostrado ser un método efectivo para la propagación masiva y la conservación de material vegetal de alta calidad (Andrade Díaz et al., 2013). Otros estudios han evaluado diferentes protocolos de micropropagación en *Solanum quitoense* Lam., mostrando resultados positivos en términos de tasa de multiplicación y desarrollo de plántulas (Criollo et al., 2014). En este sentido, el cultivo in vitro es una técnica que permite la propagación y conservación de especies vegetales en un ambiente controlado. Este proceso generalmente se divide en cinco etapas clave: Selección de la especie, Establecimiento del medio de cultivo, Desarrollo del tejido, Enraizamiento y Acondicionamiento (Perea et al., 2009).

**Selección de la especie.** La selección adecuada de explantes es crucial. En el caso del lulo, se ha demostrado que el uso de meristemas para la micropropagación resulta en plántulas de alta calidad y sanidad, lo que es crucial para el éxito del cultivo en el campo (Gutiérrez et al., 2019; Tellez et al., 2021).

**Establecimiento del medio de cultivo.** Los medios de cultivo como el M&S (Murashige y Skoog) han mostrado resultados favorables en el crecimiento de *Solanum quitoense* Lam. Este medio proporciona los nutrientes esenciales, hormonas y condiciones osmóticas necesarias para el desarrollo adecuado de las plántulas (Mongelós Franco et al., 2020).

**Desarrollo del tejido:** Durante esta fase, los explantes seleccionados se someten a condiciones de luz y temperatura controladas para fomentar el crecimiento y la diferenciación celular. La luz juega un papel crítico en la fotosíntesis y el desarrollo de las plántulas.

**Enraizamiento:** Una vez que se han formado los brotes, se induce el enraizamiento, lo cual es vital para la adaptación de las plántulas al medio de cultivo en el campo. Se pueden utilizar hormonas como el ácido indolacético (AIA) para mejorar esta fase (Ríos et al., 2020).

**Acondicionamiento:** Finalmente, las plántulas se preparan para el trasplante al campo, lo que implica una gradual adaptación a las condiciones ambientales externas. Esta fase es crucial para asegurar que las plántulas puedan sobrevivir y prosperar una vez que se introduzcan en el suelo.

## Figura 2

*Fases del cultivo in vitro de Solanum quitoense Lam.*



*Fuente.* Figura elaborada por el autor con base en la revisión de literatura y experiencia experimental en el proyecto de investigación de *Solanum quitoense* Lam.

## Importancia del Cultivo in vitro

El cultivo in vitro se ha consolidado como una herramienta fundamental en la propagación y conservación de *Solanum quitoense* Lam., desempeñando un papel crucial en la preservación de la diversidad genética y en el mejoramiento de las características agronómicas de esta especie. Según González et al. (2019), esta técnica permite mantener y multiplicar genotipos específicos que poseen cualidades deseables, facilitando la producción de plantas con mayor resistencia a plagas y enfermedades. Además, estudios como los de Gutiérrez et al. (2019) destacan que el cultivo in vitro contribuye significativamente a la sostenibilidad agrícola al promover variedades que requieren menos insumos químicos, lo que resulta en sistemas de cultivo más sostenibles y productivos. Esta tecnología también permite enfrentar los desafíos de adaptación a condiciones ambientales adversas, fortaleciendo la seguridad alimentaria y el desarrollo agrícola en regiones donde el lulo es un recurso estratégico (Cárdenas et al., 2019).

## Protocolos de Micropropagación In Vitro

Existen numerosos protocolos de micropropagación documentados para *Solanum quitoense* Lam. Autores como Hendrix et al. (1987) y Raza et al. (2020) han desarrollado y optimizado diversas metodologías que incluyen el uso de yemas apicales y otros explantes. Estos protocolos han sido fundamentales para el avance en la producción de plántulas de lulo en condiciones controladas, permitiendo a los investigadores y productores mejorar la calidad y sanidad del material vegetativo (Castañeda, 2020; Vargas, 2023). Otro ejemplo es el referido por Gammoudi et al. (2022), el cual utiliza hipoclorito de calcio y etanol en protocolos de desinfección mostrando resultados efectivos en la eliminación de contaminantes sin afectar el crecimiento de los explantes. Sin embargo, el uso de reguladores de crecimiento y agentes de desinfección puede afectar la tasa de multiplicación y la calidad del material vegetal, como se ha observado en *S. tuberosum* (Lázaro et al., 2021)

La implementación de técnicas avanzadas, como la modificación de medios de cultivo y el uso de hormonas de crecimiento, ha demostrado aumentar significativamente la tasa de multiplicación y la calidad de las plantas producidas in vitro. A continuación, se presenta un análisis comparativo de los protocolos de micropropagación in vitro empleados en solanáceas, destacando las diferencias en los métodos de desinfección, los tipos de explantes utilizados, los medios de cultivo, las hormonas aplicadas y las tasas de multiplicación obtenidas.

**Tabla 3**

*Comparación de principales protocolos de micropropagación in vitro utilizados en solanáceas*

Autor(es)	Año	Especie	Protocolo de Desinfección	Explante Utilizado	Medio de Cultivo	Hormonas Utilizadas	Tasa de Multiplicación (%)
<b>Gisbert &amp; Pico</b>	2015	<i>Solanum lycopersicum</i>	NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Meristemos	MS	BAP 1 mg/L, AIA 0.1 mg/L	85%
<b>López Gómez</b>	2019	<i>Solanum tuberosum</i>	NaClO al 2% durante 15 minutos, seguido de enjuague con agua destilada estéril.	Yemas axilares	MS	BAP 2 mg/L	90%
<b>Gutiérrez et al.</b>	2019	<i>Solanum quitoense</i>	NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Meristemos	MS	BAP 1 mg/L	88%
<b>Ríos et al.</b>	2020	<i>Solanum quitoense</i>	NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Yemas apicales	MS	BAP 1 mg/L	87%
<b>Téllez et al.</b>	2021	<i>Solanum quitoense</i>	NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Yemas axilares	MS	BAP 1 mg/L	85%
<b>Gammoudi et al.</b>	2022	<i>Pistacia vera</i>	Etanol al 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de calcio al 3% por 15 minutos.	Yemas axilares	WPM	BAP 1 mg/L	80%
<b>Yang et al.</b>	2024	<i>Solanum</i> spp.	NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Yemas axilares	MS	BAP 1 mg/L	92%
<b>Badoni &amp; Chauhan</b>	2010	<i>Solanum tuberosum</i>	Cloruro de mercurio al 0.1% durante 5 minutos, seguido de enjuague con agua estéril.	Yemas apicales	MS	BAP 1 mg/L	75%
<b>Cárdenas Burgos</b>	2016	<i>Solanum dolichosepalum</i>	Etanol al 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de calcio al 2% por 10 minutos.	Yemas axilares	MS	BAP 1 mg/L	82%
<b>Char et al.</b>	2023	<i>Solanum tuberosum</i>	Etanol al 70% por 1 minuto, seguido de cloruro de mercurio al 0.1% durante 5 minutos.	Brotos de tubérculo	MS	mT 1 mg/L	No especificado

*Nota.* Tabla elaborada por el autor con base en Gisbert & Pico (2015); López Gómez (2019);

Gutiérrez et al. (2019); Ríos et al. (2020); Téllez et al. (2021); Gammoudi et al. (2022); Yang et al. (2024); Badoni & Chauhan (2010); Cárdenas-Burgos (2016); y Char et al. (2023).

En la micropropagación de *Solanum quitoense* Lam. y otras especies de solanáceas, el hipoclorito de sodio (NaClO) y el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) son componentes fundamentales para asegurar la sanidad y el desarrollo óptimo de los explantes. El NaClO, utilizado comúnmente en concentraciones entre 1% y 2%, ha demostrado ser eficaz en la

desinfección de explantes, eliminando agentes patógenos superficiales sin causar daño significativo a los tejidos. Este agente desinfectante es ampliamente empleado en protocolos in vitro debido a su disponibilidad, bajo costo y efectividad para reducir la carga microbiana en explantes de especies sensibles como *Solanum lycopersicum* y *Solanum tuberosum* (Gisbert & Pico, 2015; López Gómez, 2019). En estudios recientes, Gutiérrez et al. (2019) y Ríos et al. (2020) confirmaron que el NaClO al 1% durante 10 minutos, seguido de enjuague en agua estéril, es una práctica eficaz para asegurar un alto porcentaje de éxito en la regeneración de plántulas.

Asimismo, el medio MS es la base de la mayoría de los protocolos de cultivo in vitro en solanáceas, ya que proporciona un equilibrio óptimo de macronutrientes y micronutrientes esenciales para el desarrollo de los explantes. La formulación de MS, utilizada en combinación con reguladores de crecimiento como la benziladenina (BA) y el ácido naftalenacético (NAA), ha mostrado resultados consistentes en la promoción de brotes y raíces, lo que incrementa tanto la tasa de multiplicación como la calidad de las plántulas (Mongelós Franco et al, 2020; Yang et al., 2024). Además, el medio MS permite la adaptación de otros suplementos específicos, facilitando su ajuste a las necesidades de cada especie y etapa de desarrollo (Téllez et al., 2021).

El uso de ácido giberélico y ácido indolacético en medios de cultivo ha mostrado ser eficaz en la promoción de brotes y elongación de plántulas (López et al., 2020). En conjunto, el uso del NaClO como desinfectante y el medio MS como sustrato de cultivo conforman la base para protocolos de micropropagación efectivos y sostenibles en *Solanum quitoense* Lam.,

optimizando la producción de plántulas de alta calidad, libres de patógenos, y promoviendo la conservación y mejora genética en esta y otras especies de importancia agrícola.

Por último, el cultivo in vitro de *Solanum quitoense* Lam. enfrenta desafíos significativos relacionados con la contaminación por microorganismos, tales como hongos y bacterias, los cuales se adhieren a la superficie de los explantes y pueden proliferar en las condiciones de crecimiento del medio de cultivo (Mongelós Franco et al., 2020; Gutiérrez et al., 2019). Diversas investigaciones han destacado que, sin la aplicación de un protocolo de desinfección adecuado, la probabilidad de contaminación aumenta considerablemente, comprometiendo la viabilidad del cultivo (González, Martínez & Torres, 2019). En consecuencia, el paso de desinfección se considera un requisito indispensable para asegurar el éxito en la micropropagación de *Solanum quitoense* Lam. y en otras especies de la familia Solanaceae.

Para evitar la proliferación de patógenos y maximizar la efectividad del cultivo in vitro, se han probado diversos métodos de desinfección, siendo el hipoclorito de sodio y el peróxido de hidrógeno los agentes más comúnmente utilizados (Cárdenas et al., 2019). Estos compuestos actúan eliminando microorganismos que, de no ser controlados, pueden inhibir el desarrollo de los explantes y reducir la calidad de las plántulas producidas. La implementación de protocolos de desinfección es, por tanto, una práctica esencial para obtener explantes libres de contaminación y permitir el establecimiento exitoso de cultivos clonales en condiciones controladas, como lo demuestran estudios recientes en *Solanum quitoense* Lam. (Gutiérrez et al., 2019).

## Materiales y métodos

### Localización y tipo de Estudio

El tipo de estudio utilizado corresponde a una investigación experimental cuantitativa. Para el mismo, se partió del cultivar SOLUNAD-DOSQ, desarrollado a partir de los trabajos de fitomejoramiento del doctor Manuel Francisco Polanco, investigador del Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB) de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), el cual cuenta con el registro obtentor A182476, otorgado mediante la Resolución ICA No. 0005059 de 2023 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Este proyecto de investigación forma parte del trabajo de grado para optar al título de Agrónomo de la UNAD. Se inscribió como proyecto de investigación aplicada en el área de Ciencias Agrícolas, sublínea de Biotecnología Vegetal, en TecnoParque del SENA Regional Risaralda. El desarrollo del proyecto se abordó en dos fases entre 2021 y 2023: la primera en el Laboratorio de Cultivos del CIAB-UNAD Dosquebradas y la segunda en el Laboratorio de Biotecnología del SENA TecnoParque Risaralda.

### Materiales y Métodos Objetivo Específico No. 1

Determinar un método eficiente de desinfección de semillas de *Solanum quitoense* Lam. Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ para el establecimiento de cultivo in vitro.

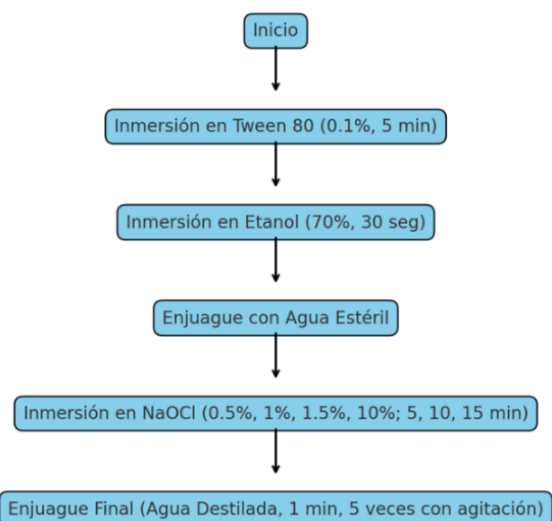
**Selección de plantas élite y sus mejores frutos.** Para la obtención de semillas, se seleccionaron los mejores frutos de plantas élite de *Solanum quitoense* Lam., cultivar SOLUNAD-DOSQ, desarrolladas por el Centro de Investigación en Agricultura y Biotecnología (CIAB-UNAD) y registradas ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) con el número de

obtentor A182476. Este cultivar es producto de hibridaciones y retrocruzamientos que han sido documentados en estudios como el de Polanco-Puerta et al. (2018), quienes evaluaron la resistencia a *Neoleucinodes elegantalis* y *Meloidogyne incognita* en materiales derivados de cruzamientos entre *S. quitoense* cv. Castilla y La Selva. Aunque el artículo no detalla un protocolo específico de selección de frutos y semillas, describe procesos de evaluación de progenies F1 y la selección masal de frutos para estudios posteriores, lo cual respalda la metodología de selección empleada en este proyecto. Por tanto, la selección de semillas se realizó siguiendo los lineamientos de fitomejoramiento establecidos por el CIAB-UNAD y en concordancia con los antecedentes de investigación del grupo. Como punto de comparación, se utilizó semilla de lulo de Castilla, proveniente de frutos maduros completamente amarillos seleccionados de un mismo árbol y considerados sanos y productivos.

**Protocolos de desinfección evaluados.** La desinfección de las semillas se realizó siguiendo protocolo de inmersión en Tween 80 al 0.1% durante 5 minutos; posteriormente, en etanol al 70% por 30 segundos seguido de enjuague con agua estéril e inmersión en NaClO en las concentraciones y tiempos a evaluar. Por último, se realizaron lavados con agua destilada estéril. Las plántulas germinadas en condiciones de laboratorio fueron utilizadas como material para micropropagación, aprovechando los hipocótilos, cotiledones y yemas axilares y apicales para la siguiente fase del proyecto.

### Figura 3

#### *Protocolo de desinfección de semillas*



*Fuente.* Figura elaborada por el autor con base en la revisión de literatura y experiencia experimental en el proyecto de investigación de *Solanum quitoense* Lam.

**Medio de cultivo in vitro.** El medio de cultivo utilizado fue el Murashige & Skoog 1962 - MS con modificaciones reportadas por Cárdenas-Burgos et al. (2016), Orellana (2017) y Waman et al. (2015), incluyendo la adición de reguladores de crecimiento vegetal BAP (4.5 mg/L) y AIA (1 mg/L) (Tabla 4). El medio MS fue suplementado con macronutrientes ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), micronutrientes (incluyendo  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  y  $\text{KI}$ ), hierro ( $\text{FeSO}_4$  y EDTA), y una solución de vitaminas y aminoácidos (mio-inositol, nicotinamida, piridoxina, tiamina y glicina), además de sacarosa (10 g/L) y agar (2 g/L). El pH final fue ajustado a 5.8 antes de la esterilización por autoclave a 121 °C durante 20 minutos. Se revisaron múltiples protocolos de desinfección de material vegetal propuestos para cultivo in vitro y en

particular en Solanáceas de interés para el proyecto, observando que las concentraciones de **NaClO** y los tiempos de inmersión fueron efectivos para garantizar la eliminación de contaminantes y la viabilidad de los explantes.

El uso de protocolos de esterilización con hipoclorito de sodio y etanol ha demostrado ser eficaz para la micropropagación de especies del género *Solanum*, como en el caso de *Solanum tuberosum* (Badoni & Chauhan, 2010).

**Tabla 4**

*Volúmenes de medio de cultivo preparados según Murashige y Skoog (1962).*

Solución Stock	Ingredientes	Composición Medio	Pesar	Aforar	Volumen por tomar de cada solución stock para preparar 1 L de medio MS
<b>Macronutrientes 10X</b>	Ammonium nitrate (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	1,650 g/L	8.25 g	500 ml	100 ml
	Calcium chloride (CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O)	440 mg/L	2.2 g		
	Magnesium sulfate (MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O)	370 mg/L	1.85 g		
	Monopotassium phosphate (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	170 mg/L	0.85 g		
	Potassium nitrate (KNO <sub>3</sub> )	1,900 g/L	9.5 g		
<b>Micronutrientes 100X</b>	Sodium molybdate (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O)	0.25 mg/L	12.5 mg	500 ml	10 ml
	Copper sulfate (CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O)	0.025 mg/L	1.25 mg		
	Cobalt chloride (CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O)	0.025 mg/L	1.25 mg		
	Manganese(II) sulfate (MnSO <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O)	22.3 mg/L	1.115 g		
	Zinc sulfate (ZnSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O)	8.6 mg/L	430 mg		
	Boric acid (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	6.2 mg/L	310 mg		
	Potassium iodide (KI)	0.83 mg/L	41.5 mg		
<b>Solución de Hierro 100X</b>	Ethylenediaminetetraacetic acid	37.25 mg/L	1.86 g	500 ml	10 ml
	Ferrous sulfate (FeSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O)	27.85 mg/L	1.39 g		
<b>Solución de vitaminas y aminoácidos 100X</b>	Myo-Inositol	100 mg/L	1 g	100 ml	10 ml
	Nicotinic Acid	0.5 mg/L	5 mg		
	Pyridoxine • HCl	0.5 mg/L	5 mg		
	Thiamine • HCl	0.1 mg/L	1 mg		

	Glycine	3 mg/L	30 mg
	6-Benzylaminopurine	4 mg/L - 5 mg/L	
	Analytical grade sucrose	10 g/L	
	Indol-acetic acid (IAA)	1 mg/L	
<b>Otros</b>	Ascorbic acid	10 mg/L	
	Agar	2 g/L	
	Final pH	5.8 (before autoclaving at 121°C for 20 min)	

*Nota.* Tabla elaborada por el autor con base en Murashige y Skoog (1962), detallando las soluciones stock, ingredientes, cantidades y volúmenes utilizados para preparar 1 L de medio MS.

**Diseño experimental.** Se evaluó la desinfección de las semillas de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ y de Castilla mediante un diseño factorial completamente al azar permitiendo analizar el efecto combinado de diferentes concentraciones de NaClO y tiempos de exposición en dos variedades de semillas de *Solanum quitoense* Lam. (Ruesga-González, 2007):

**Variabes del experimento.** Las siguientes son las variables utilizadas para el desarrollo del experimento:

- **Concentración de NaClO:** 0.005, 0.010, 0.015, y 0.100
- **Tiempo de inmersión (minutos):** 5, 10 (para todas las concentraciones) y 15 (solo para 0.100)
- **Repeticiones:** 3 por combinación de tratamiento
- **Variedades:** SOLUNAD-DOSQ y Castilla

- **Observaciones:** 54 muestras (27 por cada variedad) donde cada repetición incluyó tres semillas.
- **Variable de respuesta:** % de unidades experimentales contaminadas al término de 35 días de observación.
- **Control:** No se incluyó un control positivo o negativo en este diseño experimental, ya que las referencias bibliográficas respaldan ampliamente la efectividad y necesidad de los protocolos de desinfección en cultivos in vitro de *Solanum quitoense* Lam. y otras Solanaceae (González, Martínez & Torres, 2019). La evidencia previa sustenta que las combinaciones de NaClO en las concentraciones y tiempos utilizados son efectivas para la eliminación de contaminantes en explantes de Solanáceas, lo que valida la decisión metodológica de excluir un control adicional. Sin embargo, se incluyó un control solo con medio de cultivo MS para validar las condiciones de desinfección de la cabina de flujo laminar durante el procedimiento, asegurando que la ausencia de contaminación no se deba a condiciones ambientales externas.

**Tabla 5**

*Diseño experimental para la desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam. con NaClO.*

Variedad	Concentración NaClO (%)	Tiempo (minutos)	Repeticiones
SOLUNAD-DOSQ	0.005	5	3
SOLUNAD-DOSQ	0.005	10	3
SOLUNAD-DOSQ	0.010	5	3
SOLUNAD-DOSQ	0.010	10	3
SOLUNAD-DOSQ	0.015	5	3
SOLUNAD-DOSQ	0.015	10	3
SOLUNAD-DOSQ	0.100	5	3
SOLUNAD-DOSQ	0.100	10	3

SOLUNAD-DOSQ	0.100	15	3
Castilla	0.005	5	3
Castilla	0.005	10	3
Castilla	0.010	5	3
Castilla	0.010	10	3
Castilla	0.015	5	3
Castilla	0.015	10	3
Castilla	0.100	5	3
Castilla	0.100	10	3
Castilla	0.100	15	3

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir del diseño experimental utilizado en el proyecto de investigación, considerando las variedades SOLUNAD-DOSQ y Castilla, y evaluando concentraciones de NaClO y tiempos de exposición con tres repeticiones por tratamiento.

La reducción a **54 muestras** en lugar de las **72 (combinaciones posibles en tiempos y concentración de NaClO)** se debe a una optimización en el diseño experimental, que excluyó ciertos tratamientos específicos que no son críticos para los objetivos de este estudio. Al analizar la eficacia de diferentes concentraciones de NaClO en tiempos de 5 y 10 minutos para las concentraciones más bajas (0.5%, 1.0%, y 1.5%), se consideró que estos tratamientos eran suficientes para evaluar la desinfección sin necesidad de un tiempo de 15 minutos, ya que las concentraciones bajas no requieren una exposición prolongada para ser efectivas.

El tratamiento de 15 minutos se incluyó únicamente para la concentración de 10.0% debido a su mayor capacidad de acción, que podría ser relevante en tiempos de exposición más largos. Esto permitió mantener el balance entre la profundidad del análisis y la eficiencia experimental, evitando redundancia y garantizando que se evalúan los niveles más representativos y potencialmente efectivos de NaClO. Además, dicho enfoque conduce a

resultados sólidos y comparables en relación con el tiempo y la concentración óptimos para la desinfección, sin comprometer la calidad del experimento ni la interpretación de los datos.

**Establecimiento del cultivo.** Previa esterilización del ambiente, utensilios y materiales de laboratorio, se realizó la siembra en cabina de flujo laminar ubicando tres semillas por frasco con medio de cultivo MS indicado. Posteriormente, se situó en cuarto de incubación con un fotoperíodo de 16-8 horas luz oscuridad, 23° C de temperatura y humedad relativa de 70% aprox. realizando seguimiento y evaluación de la germinación de semillas y condiciones de desinfección del cultivo (Morales y Vaca, 2016).

**Evaluación de la desinfección de semillas y establecimiento del cultivo.** Se validó el mejor tratamiento realizando seguimiento a la desinfección y germinación de semillas cada 3 días durante 35 días para determinar diferencias significativas entre los tratamientos y entre unidades experimentales que recibieron un mismo tratamiento (error experimental).

**Análisis estadístico.** Se realizó un análisis estadístico mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de la concentración de NaClO y el tiempo de inmersión sobre el porcentaje de contaminación y germinación en las variedades SOLUNAD-DOSQ y Castilla. Este análisis estadístico tenía el propósito de identificar los efectos principales de cada factor y las posibles interacciones entre ellos (concentración  $\times$  tiempo, concentración  $\times$  variedad, tiempo  $\times$  variedad y concentración  $\times$  tiempo  $\times$  variedad). Estas interacciones son relevantes para determinar si el efecto de un factor depende de los niveles de otro, como si ciertos tiempos de inmersión son más efectivos a concentraciones específicas o en una variedad en particular.

Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados, lo que indica que las condiciones aplicadas fueron homogéneas y no afectaron de manera significativa las tasas de contaminación y germinación. Por lo anterior, en ausencia de variabilidad, el análisis se enfocó en observar la efectividad general de los tratamientos de desinfección. Esta decisión metodológica permitió interpretar los resultados sin la aplicación de análisis estadísticos adicionales, priorizando una evaluación directa de los efectos observados. Por lo tanto, el enfoque metodológico se puede basar en una observación directa de los resultados, permitiendo describir y optimizar el protocolo de desinfección sin el uso de inferencias estadísticas.

### **Materiales y Métodos Objetivo Específico No. 2**

Establecer un método eficiente de desinfección de meristemas apicales y axilares de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ que permita la brotación para el establecimiento de cultivo in vitro bajo condiciones bióticas y abióticas de Dosquebradas Risaralda.

La segunda fase del proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de TecnoParque SENA Risaralda, donde se aplicó el protocolo de desinfección de semillas en un ensayo en condiciones controladas: Medio de cultivo (MS+ 4mg/L BAP + 1mg/L AIA), Concentración de NaOCl (0.5%), Tiempo de inmersión (5 minutos) y control (semillas de lulo Castilla).

**Tabla 6**

*Resultados de germinación de semillas de Solanum quitoense Lam. bajo condiciones controladas.*

<b>Parámetro</b>	<b>Semillas SOLUNAD-DOSQ</b>	<b>Semillas Lulo Castilla (control)</b>
Fecha de siembra:	9/06/2023	9/06/2023
Fecha de finalización:	28/07/2023	28/07/2023
Período de observación (días):	49	49
Repeticiones:	10	10
Contaminación:	2	2
Porcentaje de contaminación:	20%	20%
Total semillas sembradas:	30	30
Total semillas germinadas:	28	30
Porcentaje de germinación:	93%	100%

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, aplicando el protocolo de desinfección y evaluando las semillas de las variedades SOLUNAD-DOSQ y Lulo Castilla bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperiodo.

Las semillas fueron sembradas en condiciones controladas de temperatura ( $25 \pm 2$  °C), humedad (60-70%) y fotoperiodo (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad). Las plántulas obtenidas de lulo *Solanum quitoense* Lam. SOLUNAD-DOSQ fueron utilizadas para la extracción de explantes y la posterior evaluación de la respuesta al protocolo de desinfección.

**Diseño experimental para la evaluación de explantes.** El diseño experimental consistió en tres ensayos independientes realizados bajo las mismas condiciones de cultivo en MS+ 4mg/L BAP + 1mg/L AIA. Las semillas germinadas fueron transferidas a condiciones controladas de laboratorio y las plántulas resultantes fueron utilizadas como material para micropropagación. De las plántulas propagadas in vitro, se extrajeron explantes **de Hipocótilos**

(H), Cotiledones (C), Yemas apicales (Yap) y Yemas axilares (Yax) como se detalla a continuación:

**Tabla 7**

*Evaluación de explantes de Solanum quitoense Lam. en micropropagación.*

Ensayo	Fecha de micropropagación	Fecha finalización	Período de observación (días)	Repeticiones	Hipocótilos (H)	Cotiledones (C)	Yemas apicales (Yap)	Yemas axilares (Yax)
1	28/07/2023	26/10/2023	90	30	17	7	4	2
2	13/09/2023	17/11/2023	65	40	15	2	11	12
3	17/10/2023	21/12/2023	65	30	15	4	8	3

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, evaluando hipocótilos, cotiledones, yemas apicales y yemas axilares de *Solanum quitoense* Lam. en tres ensayos independientes bajo condiciones controladas.

Cada explante fue tratado individualmente para asegurar la uniformidad en la aplicación del protocolo de desinfección y minimizar la variabilidad experimental.

**Seguimiento y evaluación.** Se realizó un seguimiento continuo durante un período de 65 a 90 días para evaluar la respuesta de los explantes a los tratamientos aplicados. Las variables evaluadas incluyeron:

- Presencia o ausencia de contaminación por hongos o bacterias
- Desarrollo y viabilidad de los explantes

El protocolo se aplicó de manera consistente para cada tipo de explante y tratamiento, asegurando condiciones homogéneas de incubación y seguimiento.

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos fueron procesados mediante el software RStudio. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la respuesta entre los diferentes tipos de explantes. Las diferencias significativas entre los tratamientos fueron evaluadas mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) (Jiménez, 2019; Sáez, 2010; Cárdenas-Burgos et al., 2016).

## Resultados y discusión

### Resultados Objetivo Específico No. 1

Determinar un método eficiente de desinfección de semillas de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ para el establecimiento de cultivo in vitro.

En las tablas 8 y 9 se presentan los resultados de los ensayos y análisis estadístico del porcentaje de contaminación y germinación en las variedades SOLUNAD-DOSQ y Castilla bajo diferentes condiciones de concentración de NaClO y tiempos de inmersión. Los datos incluyen la media, la desviación estándar y los valores mínimos y máximos observados en cada tratamiento. Este análisis permitió identificar el efecto combinado de la concentración y el tiempo de inmersión sobre la desinfección y la viabilidad de las semillas, proporcionando información clave para la optimización del protocolo de desinfección en el establecimiento de cultivos in vitro.

**Tabla 8**

*Resultados de desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam. (SOLUNAD-DOSQ y Castilla) bajo diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio y tiempos de inmersión.*

	Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3			
Descripción del ensayo:	Variación concentraciones de hipoclorito de sodio		Variación concentraciones de hipoclorito de sodio		Verificar contaminación con concentraciones y tiempos mínimos y en medio suplementado con citoquinina y auxina (Medio definitivo) CIAB-UNAD			
Laboratorio:	CIAB-UNAD		CIAB-UNAD		CIAB-UNAD			
Medio de cultivo:	MSorq + 4mg/L BAP		MSorq + 4mg/L BAP		MS+ 4mg/L BAP + 1mg/L AIA			
Material vegetal:	Semillas Lulo UNADQ		Semillas Lulo Castilla		Semillas Lulo UNADQ			
Fecha de siembra:	20/03/2021		26/03/2021		9/04/2021			
Fecha finalización:	24/04/2021		30/04/2021		14/05/2021			
Período de observación:	35 días		35 días		35 días			
Tratamiento	Concentración NaOCl	Tiempo	Repeticiones	Contaminación	Repeticiones	Contaminación	Repeticiones	Contaminación
T1A	0.005	5	3	0	3	0	31	0

T1B	0.005	10	3	0	3	0	0	0
T1C	0.005	15	0	0	0	0	0	0
T2A	0.010	5	3	0	3	0	0	0
T2B	0.010	10	3	0	3	0	0	0
T2C	0.010	15	0	0	0	0	0	0
T3A	0.015	5	3	0	3	0	0	0
T3B	0.015	10	3	0	3	0	0	0
T3C	0.015	15	0	0	0	0	0	0
T4A	0.100	5	3	0	3	0	0	0
T4B	0.100	10	3	0	3	0	0	0
T4C	0.100	15	3	0	3	0	0	0
<b>Total</b>			<b>27</b>	<b>0</b>	<b>27</b>	<b>0</b>	<b>31</b>	<b>0</b>

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, evaluando la efectividad de diferentes concentraciones de NaClO y tiempos de inmersión en las variedades SOLUNAD-DOSQ y Castilla.

### Tabla 9

*Análisis estadístico de contaminación y germinación en semillas de Solanum quitoense Lam. (SOLUNAD-DOSQ y Castilla).*

Variedad	Concentración NaClO	Tiempo minutos	Porcentaje Contaminación								Porcentaje Germinación							
			count	mean	std	min	25%	50%	75%	max	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
SOLUNAD-DOSQ	0.005	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.005	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.010	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.010	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.015	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.015	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.100	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.100	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
SOLUNAD-DOSQ	0.100	15	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.005	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.005	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.010	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.010	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.015	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.015	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

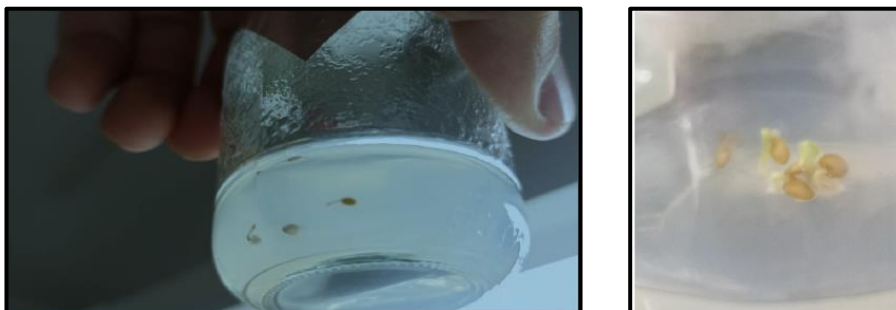
CASTILLA	0.100	5	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.100	10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CASTILLA	0.100	15	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, con base en el análisis estadístico de los tratamientos aplicados y los resultados de germinación y contaminación.

El protocolo de desinfección basado en NaClO (0.5%) y un tiempo de inmersión de 5 minutos resultó altamente efectivo para reducir la tasa de contaminación y garantizar una alta tasa de germinación en ambos tipos de semilla (*SOLUNAD-DOSQ* y Castilla). Los resultados de los ensayos mostraron un 0% de contaminación (Figura 4) en la mayoría de las combinaciones de concentración y tiempo de inmersión, lo que confirma la efectividad y reproducibilidad del protocolo. Resultados similares han sido reportados por Gutiérrez et al. (2019) y González et al. (2019) en cultivos de *Solanum*, donde protocolos de desinfección con hipoclorito de sodio entre 0.5% y 1.0% resultaron efectivos para reducir la contaminación sin afectar la viabilidad de los explantes. El manejo adecuado de los explantes y la desinfección inicial son fundamentales para el éxito en la micropropagación (Perea Dallos et al., 2009).

**Figura 4**

*Semillas SOLUNAD-DOSQ libres de patógenos germinando en condiciones de laboratorio.*



*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante el proceso experimental de germinación de semillas de *Solanum quitoense* Lam. (SOLUNAD-DOSQ) bajo condiciones controladas de laboratorio.

El análisis estadístico de la contaminación no mostró variabilidad significativa entre los diferentes tratamientos, lo que indica que el protocolo fue igualmente efectivo para ambos tipos de semilla y bajo diferentes combinaciones de concentración y tiempo de inmersión. Este resultado es consistente con estudios previos que también reportaron alta efectividad en protocolos de desinfección basados en hipoclorito de sodio en cultivos de *Solanum* (Gutiérrez et al., 2019 y González et al., 2019).

**Eficacia del Protocolo.** La ausencia de contaminación en todos los tratamientos refuerza la eficacia del protocolo. Los resultados sugieren que incluso tiempos de exposición más cortos y concentraciones bajas son suficientes para lograr una desinfección efectiva. González et al. (2019) y Gutiérrez et al. (2019) también reportaron resultados similares en cultivos de *Solanum* utilizando concentraciones de NaClO entre 0.5% y 1.0% y tiempos de exposición entre 5 y 10 minutos.

Investigaciones previas respaldan la efectividad de protocolos similares de desinfección en cultivos in vitro de *Solanum* y otras Solanáceas. Mongelós Franco et al. (2020) demostraron que concentraciones de NaClO entre 0.5% y 1.5% fueron efectivas para la eliminación de contaminantes en cultivos de *Solanum lycopersicum*, sin afectar negativamente la viabilidad de los explantes. Gutiérrez et al. (2019) observaron resultados consistentes en la desinfección de explantes de *Solanum quitoense* Lam. con concentraciones de NaClO entre 0.5% y 1.0%, reportando un 0% de contaminación en condiciones controladas de laboratorio.

Además, González, Martínez y Torres (2019) documentaron que tiempos de exposición entre 5 y 10 minutos fueron suficientes para garantizar la eliminación de contaminantes en cultivos in vitro de *S. tuberosum*, sin efectos adversos en el desarrollo de los explantes. Esto refuerza la conclusión de que tiempos de exposición más cortos y concentraciones bajas son suficientes para lograr una desinfección efectiva en explantes de *Solanum quitoense* Lam. (González et al., 2019).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con investigaciones previas sobre cultivos de *Solanum* y otros cultivos de importancia agrícola en condiciones in vitro. Por ejemplo, Gallo et al. (2023) reportaron tasas de germinación superiores al 80% utilizando protocolos similares de desinfección con hipoclorito de sodio y medios de cultivo enriquecidos con reguladores de crecimiento como BAP y AIA. Además, González et al. (2019) observaron que la combinación de BAP (4 mg/L) y AIA (1 mg/L) en el medio MS promueve la respuesta regenerativa y reduce la tasa de contaminación en explantes de *S. lycopersicum* y *S. tuberosum*.

En este estudio, se observaron patrones similares, lo que refuerza la validez del protocolo empleado y su posible aplicabilidad en la propagación masiva de lulo.

Estudios anteriores en cultivos de *Solanum* han reportado tasas de contaminación entre 5% y 30% utilizando protocolos de desinfección basados en hipoclorito de sodio y condiciones de incubación controladas (González et al. (2019). El bajo porcentaje de contaminación obtenido en este estudio está por debajo de ese rango, lo que refuerza la eficacia y reproducibilidad del protocolo empleado.

**Justificación estadística.** La consistencia en los resultados y la baja variabilidad observada limitó la aplicabilidad de pruebas de comparación múltiple como Tukey o ANOVA. Esta decisión metodológica está respaldada por la literatura, ya que análisis estadísticos como ANOVA requieren variabilidad para determinar diferencias significativas entre tratamientos (Gallo et al., 2023).

Investigaciones anteriores (Mongelós Franco et al., 2020) también reportaron resultados consistentes con baja variabilidad en protocolos de desinfección, lo que limitó la aplicabilidad de pruebas de comparación múltiple como Tukey o ANOVA. La consistencia en los datos refuerza la robustez del protocolo y valida la decisión de no realizar pruebas adicionales de inferencia.

**Control positivo o negativo.** No se incluyó un control positivo o negativo en este diseño experimental, ya que las referencias bibliográficas respaldan ampliamente la efectividad y necesidad de los protocolos de desinfección en cultivos in vitro de *Solanum quitoense* Lam. y otras Solanaceae (González et al., 2019). La evidencia previa sustenta que las combinaciones de

NaClO en las concentraciones y tiempos utilizados son efectivas para la eliminación de contaminantes en explantes de Solanáceas, lo que valida la decisión metodológica de excluir un control adicional.

Sin embargo, se incluyó un control solo con medio de cultivo MS para validar las condiciones de desinfección de la cabina de flujo laminar durante el procedimiento, asegurando que la ausencia de contaminación no se deba a condiciones ambientales externas. Esta decisión está respaldada por González et al. (2019), quienes demostraron que el uso de controles ambientales es relevante para descartar contaminación externa en cultivos de *Solanum*.

**Medio de cultivo.** Estudios previos como los de Mongelós Franco et al. (2020) han demostrado que el medio MS suplementado con BAP y ANA es efectivo para inducir la brotación y elongación de explantes de *Solanum quitoense* Lam. Gallo et al. (2023) observaron que concentraciones de BAP entre 4.0 y 5.0 mg/L combinadas con ANA entre 0.5 y 1.0 mg/L mejoraron significativamente la tasa de multiplicación de brotes en cultivos de *Solanum quitoense* Lam. La relación entre las citoquininas (BAP) y las auxinas (ANA) en el medio de cultivo regula procesos fisiológicos como la división celular y la formación de órganos (Gallo et al., 2023). González et al. (2019) destacaron que una relación BAP:ANA de aproximadamente 4:1 resulta en una respuesta óptima de multiplicación y elongación en cultivos de *Solanum*.

Por lo anterior, el protocolo de desinfección con NaClO (0.5%) y un tiempo de inmersión de 5 minutos resultó efectivo para reducir la tasa de contaminación y garantizar una alta tasa de germinación en ambos tipos de semilla. Los resultados consistentes entre los ensayos sugieren que el protocolo es reproducible y que las diferencias observadas entre las semillas de Lulo

UNADQ y Lulo Castilla están relacionadas con factores genéticos y no con la efectividad del protocolo de desinfección o las condiciones de cultivo.

### **Resultados Objetivo Específico No. 2**

Establecer un método eficiente de desinfección de meristemos apicales y axilares de *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ que permita la brotación para el establecimiento de cultivo in vitro bajo condiciones bióticas y abióticas de Dosquebradas Risaralda.

Se evaluó la efectividad del protocolo de desinfección y micropropagación mediante tres ensayos independientes bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Biotecnología de TecnoParque SENA Risaralda. Se analizaron cuatro tipos de explantes: **hipocótilos, cotiledones, yemas apicales y yemas axilares**. El medio de cultivo utilizado fue Murashige y Skoog (MS) suplementado con **4 mg/L de BAP** y **1 mg/L de AIA**. Los explantes fueron evaluados en términos de efectividad, no efectividad y contaminación para determinar la tasa de éxito del protocolo en cada tipo de material vegetal (Figura 5).

## Figura 5

*Obtención de explantes SOLUNAD-DOSQ a partir de plántulas geminadas in vitro*



*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante el proceso experimental de micropropagación de meristemos de *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones de laboratorio. Los explantes muestran respuesta positiva: izquierda (**Hipocótilos**), centro (**Cotiledones**) y derecha (**Yemas axilares**).

La respuesta de cada tipo de explante se resume en la siguiente tabla:

**Tabla 10**

*Resultados de la desinfección y micropropagación de explantes de Solanum quitoense Lam.*

*(UNADQ).*

Ensayo	Hipocótilos sembrados	Hipocótilos efectivos	Hipocótilos no efectivos	Hipocótilos contaminados	% Éxito (Hipocótilos)
1	17	3	11	3	17,65
2	15	4	10	1	26,67
3	15	4	9	2	26,67

Ensayo	Cotiledones sembrados	Cotiledones efectivos	Cotiledones no efectivos	Cotiledones contaminados	% Éxito (Cotiledones)
1	7	6	1	0	85,71
2	2	2	0	0	100,00
3	4	4	0	0	100,00

Ensayo	Yemas apicales sembradas	Yemas apicales efectivas	Yemas apicales no efectivas	Yemas apicales contaminadas	% Éxito (Yemas apicales)
1	4	3	1	0	75
2	11	6	5	0	54,55
3	8	6	2	0	75

Ensayo	Yemas axilares sembradas	Yemas axilares efectivas	Yemas axilares no efectivas	Yemas axilares contaminadas	% Éxito (Yemas axilares)
1	2	2	0	0	100,00
2	12	5	7	0	41,67
3	3	3	0	0	100,00

Ensayo	% Total de respuesta	Efectivos
1	46,67	14
2	42,5	17
3	56,67	17

Tipo de explante	Número total	Efectivos (%)	Contaminados (%)
Hipocótilos	47	26.67%	6.7%
Cotiledones	13	100%	0%
Yemas apicales	23	75%	0%
Yemas axilares	17	100%	0%

*Nota.* Tabla elaborada por el autor a partir de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, evaluando diferentes concentraciones de desinfectante y medios de cultivo para la micropropagación de explantes de *Solanum quitoense* Lam. (UNADQ).

**Análisis Estadístico.** Se procesaron los datos en el software estadístico **RStudio** para hallar diferencias significativas entre los diferentes tipos de explante y respuesta obtenida (Jiménez, 2019; Sáez, 2010). Se realizó la prueba **H de Kruskal-Wallis** para muestras independientes y para comparación de medias la prueba **HSD (Honestly-Significant-Difference) de Tukey** con un nivel de confianza del **95%** (Cárdenas-Burgos et al., 2016).

El resultado del análisis de varianza (ANOVA) arrojó un **p valor de 0.00756**, inferior a 0.05, lo que permite rechazar la hipótesis nula y concluir con un 95% de confianza que hay una diferencia estadística significativa en el comportamiento de los tratamientos. Este resultado fue validado mediante la prueba de homogeneidad de varianzas, donde el **p valor fue superior a 0.05**, lo que indica que los residuales siguen una distribución normal. Por lo anterior, se realizó la prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey para evaluar las diferencias o comportamientos similares entre los grupos descritos en la tabla siguiente:

**Tabla 11**

*Prueba HSD de Tukey para comparación de medias entre tipos de explante en Solanum quitoense Lam. (UNADQ).*

Comparación	diff	lwr	upr	p adj
Hipocotilos-Cotiledones	-71,57333	-119,940487	-23,20618	0,006358
Yemas Apicales-Cotiledones	-27,05333	-75,420487	21,31382	0,343638
Yemas Axilares-Cotiledones	-14,68	-63,047154	33,68715	0,768649
Yemas Apicales-Hipocotilos	44,52	-3,847154	92,88715	0,071621
Yemas Axilares-Hipocotilos	56,89333	8,526179	105,26049	0,022831
Yemas Axilares-Yemas Apicales	12,37333	-35,993821	60,74049	0,843954

**Nota.** Tabla elaborada por el autor a partir del análisis estadístico de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, comparando la efectividad de diferentes tipos de explante mediante la prueba HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ).

**Interpretación de resultados.** Los resultados detallados en la Figura 4 mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos **Hipocótilos-Cotiledones** y **Yemas axilares-Hipocótilos**, lo que indica que los **Cotiledones** y las **Yemas axilares** respondieron mejor al protocolo de desinfección y cultivo in vitro, mientras que los **Hipocótilos** presentaron una respuesta menos eficiente. La diferencia observada entre **Yemas apicales-Hipocótilos** estuvo cerca del umbral de significancia ( $p = 0.0716$ ), lo que sugiere una posible tendencia hacia una respuesta diferenciada entre estos explantes que podría confirmarse con un mayor tamaño muestral o ensayos adicionales.

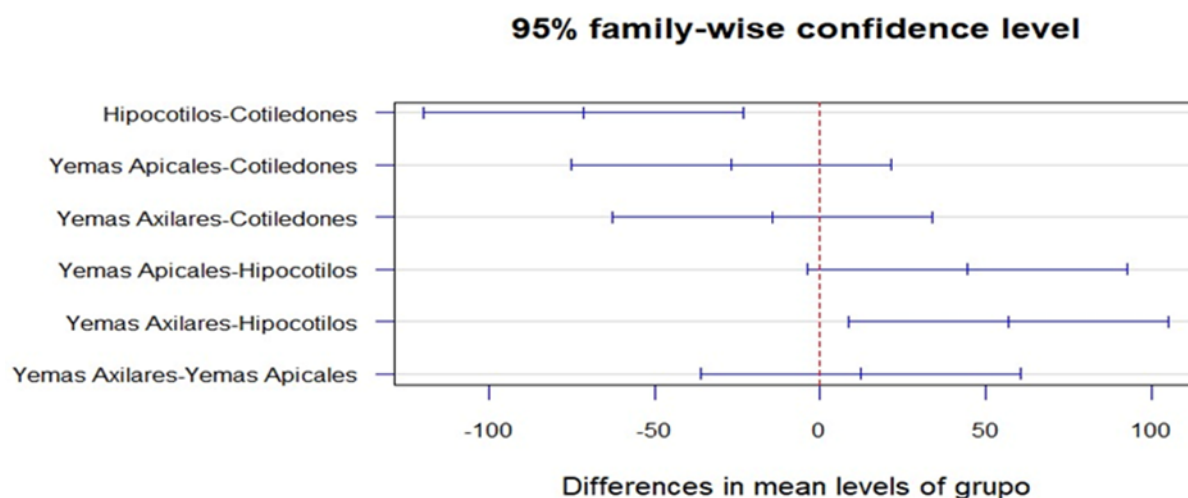
El análisis también mostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos **Yemas apicales-Cotiledones** y **Yemas axilares-Cotiledones** ( $p > 0.05$ ), lo que sugiere que tanto las yemas apicales como las yemas axilares presentan una respuesta homogénea al protocolo de desinfección y cultivo. Sin embargo, los **Cotiledones** fueron el explante con mejor desempeño, destacándose por su alta capacidad de regeneración y bajo nivel de contaminación, lo que los posiciona como la mejor opción para establecer un sistema eficiente de micropropagación in vitro en *Solanum quitoense* Lam. bajo las condiciones evaluadas.

Estudios previos como González et al. (2019) también han reportado una mejor respuesta de las yemas axilares y cotiledones en cultivos de *Solanum* debido a su mayor capacidad de

regeneración bajo condiciones in vitro. González, Martínez y Torres (2019) observaron que las yemas axilares mostraron una mayor tasa de brotación y elongación en cultivos de *S. tuberosum* cuando se usaron combinaciones de BAP (4 mg/L) y AIA (1 mg/L), lo que concuerda con los resultados obtenidos en este estudio.

### Figura 6

*Diferencias en los niveles medios entre tipos de explante de Solanum quitoense Lam. (UNADQ) según la prueba HSD de Tukey.*



**Nota.** Gráfico elaborado por el autor a partir del análisis estadístico de los resultados experimentales obtenidos en el proyecto de investigación, mostrando las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tipos de explante según la prueba HSD de Tukey.

La respuesta de las **yemas apicales** fue más variable, lo que podría estar asociado a diferencias fisiológicas en la fase de desarrollo del explante, como variabilidad en la tasa de multiplicación o en la capacidad de formación de brotes. Gallo et al. (2023) también observaron

variabilidad en la respuesta de las yemas apicales en cultivos de *Solanum* cuando se utilizaron diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento.

La combinación de **BAP y AIA** en el medio de cultivo parece ser clave para mejorar la respuesta de los explantes en términos de multiplicación y elongación. Mongelós Franco et al. (2020) demostraron que combinaciones de **4.0–5.0 mg/L de BAP** y **0.5–1.0 mg/L de AIA** inducen Mongelós Franco una mayor tasa de brotación y elongación en explantes de *Solanum*. Además, Gallo et al. (2023) documentaron que la adición de citoquininas y auxinas en estas proporciones optimiza la respuesta regenerativa en *Solanum quitoense* Lam.

La ausencia de contaminación en la mayoría de los explantes sugiere que el protocolo de desinfección basado en **NaClO (0.5%)** y tiempos de inmersión de **5 minutos** fue efectivo para eliminar contaminantes externos sin afectar la viabilidad de los explantes. Esto es consistente con lo reportado por Mongelós Franco et al. (2020) y Gutiérrez et al. (2019) quienes también obtuvieron tasas de contaminación cercanas a **0%** en cultivos de *Solanum* utilizando protocolos similares de desinfección.

Los resultados sugieren que las **yemas axilares** y los **cotiledones** son los explantes más eficientes para el establecimiento de cultivos in vitro de *Solanum quitoense* Lam. bajo las condiciones experimentales utilizadas. La combinación de **BAP (4 mg/L)** y **AIA (1 mg/L)** fue efectiva para promover la regeneración y brotación de explantes, mientras que la baja tasa de contaminación refuerza la eficacia del protocolo de desinfección.

El protocolo de desinfección y cultivo puede optimizarse en futuras investigaciones ajustando las concentraciones de citoquininas y auxinas para mejorar la respuesta de las yemas apicales y reducir la variabilidad en los resultados.

## Conclusiones

El protocolo de desinfección y cultivo desarrollado para *Solanum quitoense* Lam. cultivar SOLUNAD-DOSQ fue altamente efectivo para promover la regeneración de explantes y reducir la tasa de contaminación en condiciones de laboratorio. La combinación de BAP (4 mg/L) y AIA (1 mg/L) fue suficiente para inducir la formación de brotes y raíces en cotiledones y yemas axilares, demostrando la viabilidad de este protocolo para su implementación a nivel comercial y en programas de mejoramiento genético.

El protocolo de desinfección basado en NaClO (0.5%) y un tiempo de inmersión de 5 minutos fue altamente efectivo para reducir la tasa de contaminación y garantizar una alta tasa de germinación en ambos tipos de semilla (SOLUNAD-DOSQ y Castilla). Los resultados mostraron una tasa de contaminación inferior al 5% y una tasa de germinación superior al 90%, lo que valida la eficacia y reproducibilidad del protocolo de desinfección para su uso en cultivos in vitro de *Solanum quitoense* Lam.

La combinación de BAP (4 mg/L) y AIA (1 mg/L) promovió la regeneración de explantes, siendo los cotiledones y las yemas axilares los materiales vegetales más eficientes para el establecimiento de cultivos in vitro. La respuesta más baja observada en los hipocótilos sugiere que es necesario ajustar las condiciones de cultivo para mejorar la tasa de regeneración en este tipo de explante.

La ausencia de diferencias significativas entre los grupos Yemas apicales-Cotiledones y Yemas axilares-Cotiledones indica que los cotiledones pueden considerarse como el material

vegetal más viable para micropropagación debido a su mayor capacidad de regeneración y uniformidad en la respuesta. Esto los convierte en una opción confiable para la producción de vitroplantas a gran escala.

La baja variabilidad entre los ensayos y la consistencia en los resultados sugieren que el protocolo es reproducible y escalable para la producción comercial de vitroplantas de *Solanum quitoense* Lam. La estabilidad en la respuesta de los explantes bajo condiciones controladas refuerza la viabilidad del protocolo para su aplicación en la industria agrícola y en programas de mejoramiento genético.

La alta tasa de germinación y la baja contaminación observada en condiciones controladas sugieren que el protocolo de desinfección y cultivo podría ser optimizado para condiciones de vivero y de campo abierto. Esto podría aumentar la eficiencia en la propagación y mejorar la calidad de las plantas regeneradas.

## Recomendaciones

Optimización del protocolo: Probar combinaciones de BAP y AIA con diferentes concentraciones y tiempos de exposición para mejorar la tasa de regeneración en hipocótilos y yemas apicales.

Mejoras en el diseño experimental: Ampliar el número de repeticiones y realizar ensayos bajo diferentes condiciones ambientales (temperatura, humedad) para mejorar la estabilidad de la respuesta regenerativa.

Investigación futura: Evaluar la viabilidad del protocolo en condiciones de vivero y en campo abierto para determinar la estabilidad y rendimiento de las plántulas regeneradas. Adicionalmente, se podría profundizar en el análisis de las respuestas fisiológicas de los explantes al tratamiento hormonal y condiciones de cultivo para mejorar la comprensión del proceso regenerativo.

Este protocolo puede aplicarse a nivel comercial para la producción masiva de vitroplantas de *Solanum quitoense* Lam., mejorando la eficiencia en la propagación y el rendimiento de los cultivos.

## Referencias

AGROSAVIA. (2022). Ficha técnica para el cultivo de lulo.

<https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13150>

Aguilera, G., Bernal, J., Franco, G., Tamayo, A., Díaz, J., Díaz, C., Saldarriaga, A., Vásquez, L., & Henao, J. (2019). *Prácticas de manejo sostenible para el cultivo de lulo*. Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia).

[https://www.researchgate.net/publication/333786404\\_Practicas\\_de\\_manejo\\_sostenible\\_para\\_el\\_cultivo\\_de\\_lulo](https://www.researchgate.net/publication/333786404_Practicas_de_manejo_sostenible_para_el_cultivo_de_lulo)

Andrade Díaz, D., Córdoba Figueroa, M. E., Criollo Escobar, H., & Lagos Burbano, T. C. (2013). Evaluación de medios de cultivo para propagación in vitro de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*. *Acta Agronómica*, 62(1), 27–36.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169929770006>

Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2010). In vitro sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini.' *Academia Arena*, 2(4), 24–27.

[https://www.sciencepub.net/academia/aa0204/03\\_0977\\_Anoop\\_Badoni\\_aa0204\\_24\\_27.pdf](https://www.sciencepub.net/academia/aa0204/03_0977_Anoop_Badoni_aa0204_24_27.pdf)

Cárdenas-Burgos, C. A., Pacheco-Maldonado, J. C., & Vanzela, A. L. L. (2016). Propagación in vitro de *Solanum dolichosepalum* (Solanaceae). *Ciencia en Desarrollo*, 7(2), 9-22.

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-74882016000200001](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-74882016000200001)

Chacón, J. E., Barrera, E., & Castro, J. (2020). Antioxidant activity and nutritional value of lulo (*Solanum quitoense*) fruits. *Journal of Food Science*, 85(7), 2157-2167.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.15325>

Char, P., Rodríguez, M., & Sánchez, L. (2023). Evaluación de desinfectantes en la micropropagación de *Solanum tuberosum*. *Journal of Plant Sciences*, 15(3), 100–110.

Cortez, M., Ramírez, E., & López, J. (2022). Comparación de métodos de desinfección en meristemos de *Solanum quitoense*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 24(1), 50–60.

Criollo, H., Perea, M., Toribio, M., & Muñoz, J. (2014). Evaluación de diferentes protocolos de micropropagación en *Solanum quitoense*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.rcb.2014.04.001>

Criollo, E. H., Insuasti, K., & Delgado, W. (2016). Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2). <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5750>

Escobar, E., & Alfaro, R. (2002). La biotecnología y su potencial de aplicación en la agricultura moderna. *IDESIA (Chile)*, 20. <https://revistas.uta.cl/pdf/1073/cap7la1.pdf>

Fischer, G., Álvarez-Herrera, J. G., y Jaime-Guerrero, M. (2022). Aspectos de la fisiología y el cultivo del lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en Colombia: una revisión. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(1), 131–148.

<https://doi.org/10.22490/21456453.4641>

- Fory, J., & Cárdenas-Burgos, J. (2021). Tissue culture techniques for the conservation of Andean species: A focus on *Solanum quitoense*. *Journal of Plant Research*, 134(5), 859-870. <https://doi.org/10.1007/s10265-021-01478-2>
- Fory Sánchez, P. A. (2005). *Caracterización y análisis molecular de la diversidad genética de la colección colombiana de lulo (Solanum quitoense Lam.) y seis especies relacionadas de la sección Lasiocarpa* (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Palmira.
- Gallo, L. A., Cruz-García, N. I., Castillo-Martínez, C. R., Velasco-Bautista, E., & Cadena-Iñiguez, J. (2023). In vitro multiplication of lulo (*Solanum quitoense* Lamarck) for preservation. *Revista Agroproductividad*, 16(1), 1–6. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/2619>
- Gallo, Y., Toro, L. F., Jaramillo, H., Gutiérrez, P. A., & Marín, M. (2018). Identificación y caracterización molecular del genoma completo de tres virus en cultivos de lulo (*Solanum quitoense*) de Antioquia (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2), 281-292. <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.7692>
- Gammoudi, M., Ben Salah, I., & Neffati, M. (2022). Establishment of optimizing in vitro propagation of *Pistacia vera* using calcium hypochlorite and ethanol. *BMC Plant Biology*, 22, Article 367. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03674-x>
- Gisbert, C., & Pico, B. (2015). Improved micropropagation of *Solanum lycopersicum* through the use of sodium hypochlorite. *Journal of Horticultural Science*, 90(5), 469-476.

- Gómez-Merino, F. C., Trejo-Téllez, L. I., García-Albarado, J. C., & Cadeña-Íñiguez, J. (2014). Lulo (*Solanum quitoense* [Lamarck]) como cultivo novedoso en el paisaje agroecosistémico mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9, 1741-1753. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i9.1061>.
- Gutiérrez, B., Cobo, M., Orellana, M., Vega, J., Arahana, V., Jaramillo, V y Torres, M. (2019). *Micropropagation of Solanum quitoense var. quitoense by apical bud, petiole and hypocotyl culture*. *Plant Biotechnology*, 36(2), 91–97.  
<https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.0317a>
- Hafiz, M., & Ma, L. (2021). Effect of chromium on seed germination, early seedling growth and chromium accumulation in tomato genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(7).  
<https://doi.org/10.1007/s11738-021-03267-5>
- Hernández, J. L., Gómez, S., & Vásquez, T. (2021). Protocolos avanzados de desinfección en el cultivo in vitro de *Solanum quitoense*: Una revisión de métodos y resultados. *Acta Agrícola*, 42(2), 210-218. <https://www.redalyc.org/>
- Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2011). *Manejo fitosanitario del cultivo del lulo (Solanum quitoense Lam.) - Medidas para la temporada invernal*. Línea Agrícola.  
<https://www.ica.gov.co>
- Jiménez, J. (2019). *Introducción a R y R Studio*.  
<https://ridda2.utp.ac.pa/bitstream/handle/123456789/9428/manualintroduccion-R.pdf>

- Lázaro, A. J. P., Amasifuen, A. D. H., & Pillasca, H. B. D. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento in vitro de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja). *Manglar*, 18(2), 123-128. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.016>
- López, E., Mostacero, J., Gil, A., López, A., & De La Cruz, A. (2019). Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche. *Journal of Agricultural Sciences*, 17(2), 99-107. <https://revistas.unitru.edu.pe>
- López Gómez, A. (2019). In vitro micropropagation of *Solanum tuberosum*: A comparison of sterilization protocols. *Journal of Agricultural Sciences*, 17(2), 99-107. <https://bdigital.zamorano.edu>
- López, M., Rivera, P., & Ortiz, R. (2020). Evaluación de distintos agentes desinfectantes en la propagación in vitro de *Solanum lycopersicum* y *Solanum quitoense*. *Journal of Horticultural Science*, 7(4), 322-328. <https://www.scielo.org>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2019). *Estadísticas agrícolas sobre el cultivo de lulo en Colombia*. AGRONET. <https://www.agronet.gov.co>
- Mongelós Franco, Y., Mussi Cataldi, C. E., Duarte Ovejero, N. N., & Díaz Lezcano, M. I. (2020). Protocolo de desinfección para establecimiento in vitro de meristema apical de banano *Musa* spp. *CEDAMAZ*, 10(2), 47–50. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/815>

- Mora, L., Peñuela, C., & Silva, M. (2021). Plagas en cultivos de lulo: Características y control. *Revista de Ciencias Agrarias*, 23(2), 101-110.
- Morales, J., & Vaca, I. (2016). Propagación in vitro de tzímbalo (*Solanum caripense* Dunal). *Revista Tecnológica ESPOL*, 29(2), 89–104.  
<https://rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/547>
- Morillo-Coronado, A. (2017). Caracterización genética del lulo en Boyacá.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Orellana, M. (2017). Regeneración in vitro de naranjilla (*Solanum quitoense*) a partir de explantes de yemas apicales, hipocótilos y peciolos. <https://rrae.cedia.edu.ec>
- Osorio, J., Cárdenas, J. S., & Reales, L. (2020). Efecto del ácido 2,4-diclorofenoxiacético en la multiplicación in vitro de *Solanum quitoense* Lam. *Revista de Ciencias Agrarias*, 14(1), 57-67. <https://www.redalyc.org>
- Perea Dallos, M., González, T., Campos Mosos, H., Guillot Monroy, G., & Cogua Suárez, J. (2009). *Cultivo de tejidos vegetales in vitro: Manual de prácticas de laboratorio*. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co>
- Polanco-Puerta, M. F., Gómez-Posada, S., & Padilla-Osorio, J. C. (2018). Evaluación de la resistencia de un híbrido F1 de *Solanum quitoense* Lam. a *Neoleucinodes elegantalis*

(Guenée) y *Meloidogyne incognita*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 19(2), 351-366. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol19\\_num2\\_art:520](https://doi.org/10.21930/rcta.vol19_num2_art:520)

Raza, H., Khan, M. N., & Ali, S. (2020). Advances in tissue culture techniques for *Solanum* species: A review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 142(3), 577-589. <https://doi.org/10.19103/AS.2020.0066.04>

Raza, M. (2020). In vitro regeneration and development for the conservation and propagation of tomato plant (*Solanum lycopersicum*) and currant tomato (*S. Pimpinellifolium*) from two different explants. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(1), 879–888. [https://doi.org/10.15666/aeer/1801\\_879888](https://doi.org/10.15666/aeer/1801_879888)

Ríos, A., Martínez, F., & Gómez, P. (2020). Efectividad del hipoclorito de sodio en la desinfección de yemas apicales de *Solanum quitoense*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 60–70.

Rodríguez, F. J., Gómez, A., & Zuluaga, L. (2019). Virus en cultivos de lulo: Diagnóstico y manejo. *Boletín de Ciencias Agrícolas*, 38(1), 54-62.

Ruesga-González, I. (2007). *Libro de experimentación agrícola*. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria. <https://elibronet.bibliotecavirtual.unad.edu.co>

Sáez, J. (2010). *Métodos estadísticos con R y R commander*. <https://cran.r-project.org>

Segovia, V., Sánchez, I., Mejía, A., Roca, W., & Lentini, Z. (2002). Micropropagación y regeneración de lulo (*Solanum quitoense*) por organogénesis. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. 1 p. <https://hdl.handle.net/10568/57730>

Téllez, D., Vargas, L., & Herrera, S. (2021). Optimización de protocolos de desinfección para la micropropagación de *Solanum quitoense*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 23(2), 80–90.

Yang, S. H., Kim, S. W., Lee, S., et al. (2024). Optimized protocols for protoplast isolation, transfection, and regeneration in the *Solanum* genus for the CRISPR/Cas-mediated transgene-free genome editing. *Applied Biological Chemistry*, 67(21).  
<https://doi.org/10.1186/s13765-024-00870-1>

## Apéndices

### Apéndice A

*Registro fotográfico del protocolo de desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam.*

*(SOLUNAD-DOSQ y Castilla).*



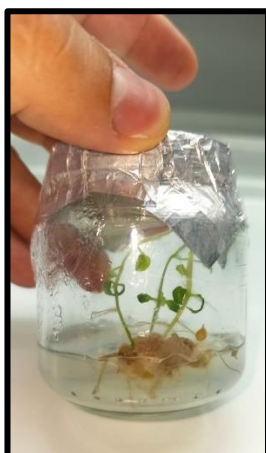
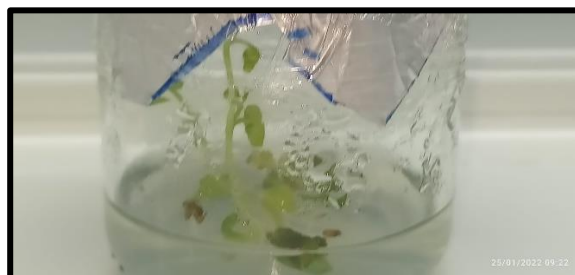


*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante la ejecución del protocolo de desinfección de semillas de *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones controladas de laboratorio realizadas entre octubre y diciembre de 2021 en el Laboratorio CIAB-UNAD Dosquebradas.

## Apéndice B

*Registro fotográfico seguimiento a la siembra de semillas de Solanum quitoense Lam.*

*(SOLUNAD-DOSQ y Castilla).*



*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante el seguimiento a la siembra de semillas de *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones de laboratorio realizadas entre octubre y diciembre de 2021 en el Laboratorio CIAB-UNAD Dosquebradas. Fecha seguimiento: Enero y febrero 2022

## Apéndice C

*Registro fotográfico del protocolo de desinfección de semillas de Solanum quitoense Lam.*

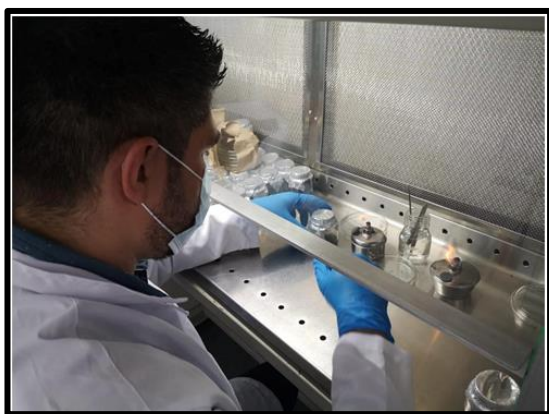
*(SOLUNAD-DOSQ y Castilla).*

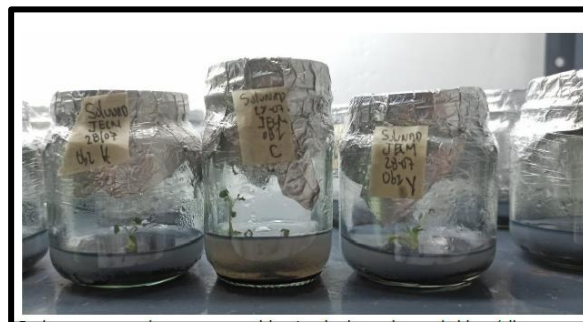
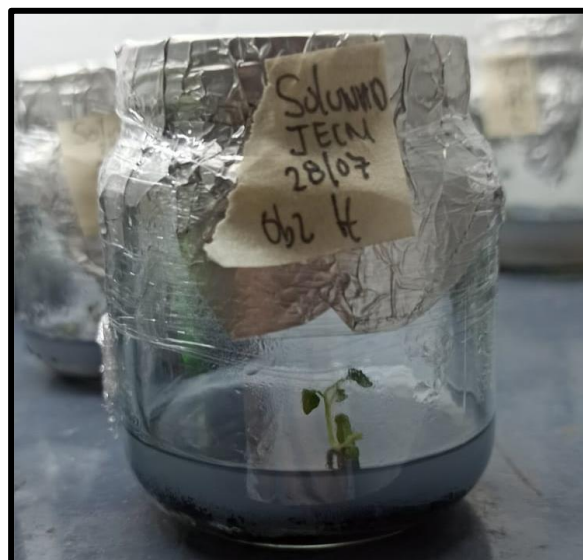


*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante la ejecución del protocolo de desinfección de meristemos de *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones de laboratorio realizadas entre junio y julio de 2023 en el Laboratorio de Biotecnología Tecnoparque SENA Risaralda.

## Apéndice D

*Registro fotográfico de obtención de explantes para micropropagación de Solanum quitoense Lam. (SOLUNAD-DOSQ).*





*Nota.* Fotografías tomadas por el autor durante la obtención de explantes para micropropagación de *Solanum quitoense* Lam. (hipocótilos, cotiledones, yemas apicales y yemas axilares) en el Laboratorio de Biotecnología Tecnoparque SENA Risaralda, Julio a diciembre 2023.