



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Estandarización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* para el suministro de material de siembra en la cadena productiva de yacón del departamento de Cundinamarca - Colombia

Laura Viviana Cardozo Niño

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de ciencias, Departamento de Biotecnología
Medellín, Colombia

2025

Estandarización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* para el suministro de material de siembra en la cadena productiva de yacón del departamento de Cundinamarca - Colombia

Laura Viviana Cardozo Niño

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en ciencias Biotecnología

Director (a):

MSc. Gustavo Buitrago Hurtado

Codirector (a):

MSc. Silvia L. Bustamante Rodríguez

Línea de Investigación:

Biotecnología vegetal

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación sobre el cultivo del Ñame

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Biotecnología

Medellín, Colombia

2025

El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad.

Víctor Marie Hugo

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Laura Viviana Cardozo Niño

C.C 1019092394

Fecha 11/12/2025

Agradecimientos

Agradezco a mi familia por permitirme cumplir mis metas propuestas, por apoyarme en el camino de la vida y siempre cuidar de mis pasos. A mi mamá por su especial cariño, por ofrecerme su escucha y cuidar de mi incluso en los momentos de dificultad. A mi padre por ayudarme en cada cosa que le pedía, a cuidar de estas planticas como si fuesen nuestras, a levantarme en las madrugadas para seguir trabajando. A mi hermano, por ser compañero en mi proceso formativo y a mi perrita Katty, por trasnochar conmigo y ser mi cobijo en las noches.

A mi psicólogo y amigo Hugo Pulido, a mi colega y mejor amiga Andrea Cartagena Gómez, a la doctora Martha Uribe por su apoyo, escucha y guía “espiritual”.

A mi amigo del gimnasio Jonathan García por su apoyo en el diseño gráfico, elaboración de imágenes y revisión del material visual derivado de este trabajo.

A mi colega Gabriela Gonzáles Girón por sus ilustraciones que fueron muy bonitas y les dieron un valor estético a todos los productos derivados de este trabajo.

Agradezco al grupo de investigación sobre el cultivo del Ñame y sus miembros, en especial a mis directores, los profesores Gustavo Buitrago Hurtado y Silvia L. Bustamante Rodríguez; por toda la guía metodológica, pero también por permitirme visualizar con mayor impacto personal la importancia de la Academia en la innovación social, de esta manera aportar mi granito de arena a nuestra sociedad colombiana.

A la profesora Ibonne Aydee García Romero por tomarse el tiempo de enseñarme y ayudarme con paciencia y amabilidad las técnicas moleculares que se usaron en este trabajo.

A mi compañero de posgrado Johan Steven Alcántara Cortés por apoyarme y ser mi profe de tardes-noches de PCR en el instituto, por darme sus “tips” y por siempre animarme a completar mis metas.

A mi amiga Angela Patricia Jiménez Mora por su compañía, por darme ánimos. También por aconsejarme en todo el proceso de aprender y mejorar mi desempeño en cada etapa de este trabajo, así como inspirarme desde el ejemplo por su pasión por “hacer ciencia”.

Al Biólogo Diego Benítez por su valiosa orientación en el análisis estadístico y a lo largo de la construcción de esta investigación.

A la Universidad Nacional de Colombia en especial al Instituto de Biotecnología por facilitar los espacios del laboratorio de cultivos de tejidos vegetales para el desarrollo de mi trabajo, especialmente a Diana Carolina Pinzón Silva y Hernando Torres, personal administrativo del laboratorio que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme con lo necesario durante mi estancia en este. En general a todos los miembros de esta dependencia de la universidad que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme. Mi paso por la Universidad Nacional de Colombia y el Instituto de Biotecnología ha sido fundamental en mi formación como profesional e investigador. Agradezco profundamente la oportunidad de haber sido parte de esta comunidad.

Este trabajo se desarrolló gracias a la financiación obtenida a través de la Convocatoria 890 del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias), en la cual el ICETEX aportó los recursos destinados al fortalecimiento de la investigación en las instituciones de educación superior. Dichos recursos hicieron posible la ejecución del macroproyecto titulado “Innovación y transferencia biotecnológica para mejorar la productividad del cultivo de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y la calidad de subproductos de interés nutricional y funcional, con enfoque de apropiación social del conocimiento en el departamento de Cundinamarca”

Resumen

Estandarización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* para el suministro de material de siembra en la cadena productiva de yacón del departamento de Cundinamarca - Colombia

El yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae: Smallanthus), representa un importante cultivo agrícola andino dotado de considerables atributos nutracéuticos y medicinales; sin embargo, su propagación convencional a través de rizomas se ve obstaculizada por diversas restricciones fitosanitarias. Este estudio tuvo como objetivo establecer un protocolo estandarizado de cultivo *in vitro* para facilitar la generación eficiente de material de siembra de calidad superior en el departamento de Cundinamarca - Colombia. Para ello, se evaluaron diferentes tratamientos a lo largo del proceso de micropropagación, desde la selección del material vegetal de origen hasta la aclimatación de las plántulas obtenidas. En la primera etapa de selección del material vegetal se desarrolló el establecimiento de un cultivo stock (*in vivo*) en invernadero donde evaluaron tres diferentes métodos de desinfección del material origen (secciones del rizoma), siendo el tratamiento hipoclorito de sodio (NaClO) al 0,5 % que permitió alcanzar una regeneración del 92,5 % en la propagación vegetativa bajo condiciones de invernadero, complementado con estrategias preventivas de manejo integrado de plagas. Durante el establecimiento a condiciones *in vitro*, se evaluó el efecto del ácido indolacético (AIA) y kinetina (KIN) en interacción con los protocolos de desinfección superficial elegidos, logrando el establecimiento *in vitro* con el protocolo modificado de Murashige y Skoog (MS), suplementado con carbón activado y libre de reguladores de crecimiento a partir de la evaluación de la combinación de tratamientos de desinfección y uso reguladores de crecimiento. En esta etapa también se evaluaron dos citoquininas: BAP (6-bencilaminopurina) y KIN, las cuales no promovieron el desarrollo adecuado de los explantes, induciendo la formación de callos sin diferenciación. En la fase de aclimatación y endurecimiento, se comparó el uso de cámara de intercambio gaseoso

bajo dos condiciones: cámara climática y en invernadero, obteniendo mejor respuesta en la primera con una supervivencia del 44,8 %, evidenciando en esta fase un punto crítico del proceso. El protocolo estandarizado alcanzó una tasa de propagación de 4.0 y permitió identificar factores limitantes para el establecimiento del cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*. Esta herramienta biotecnológica contribuye a la producción de material de siembra de alta calidad y con un estándar fitosanitario acorde con las buenas prácticas agrícolas, fortaleciendo la capacidad productiva de los pequeños agricultores de Cundinamarca.

Palabras clave: micropropagación, AIA, KIN, BAP, cultivo *in vitro*, *Smallanthus sonchifolius*.

Abstract

Standardization of an *In Vitro* Culture Protocol for *Smallanthus sonchifolius* to Supply Planting Material for the Yacón Production Chain in the Department of Cundinamarca, Colombia

Smallanthus sonchifolius (Asteraceae: Smallanthus), commonly known as yacón, is an important Andean crop valued for its nutraceutical and medicinal properties; however, its conventional propagation through rhizomes is constrained by multiple phytosanitary limitations. This study aimed to establish a standardized *in vitro* culture protocol to enable the efficient production of high-quality planting material in the department of Cundinamarca, Colombia. Several treatments were evaluated throughout the micropropagation process, from the selection of source plant material to the acclimatization of regenerated plantlets. In the initial stage, a stock culture (*in vivo*) was established in a greenhouse using rhizome sections as explants, where three surface-disinfection methods were compared. Sodium hypochlorite (NaClO) at 0.5% yielded the highest regeneration rate (92.5%) under greenhouse vegetative propagation, combined with preventive integrated pest management strategies. During *in vitro* establishment, the effects of indole-3-acetic acid (IAA) and kinetin (KIN) were assessed in combination with the selected surface-disinfection protocols. Successful *in vitro* establishment was achieved using a modified Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with activated charcoal and free of growth regulators, based on the evaluation of the combined disinfection and plant growth regulator treatments. Two cytokinins, BAP (6-benzylaminopurine) and KIN, were also tested; however, both induced non-differentiated callus formation and failed to promote adequate explant development. In the acclimatization and hardening phase, plantlets were evaluated under two gas-exchange chamber conditions—climate-controlled chamber and greenhouse—where the former resulted in higher survival (44.8%), indicating a critical limiting step in the protocol. The standardized protocol achieved a propagation rate of 4.0 and enabled the identification

of key bottlenecks in the *in vitro* establishment of *S. sonchifolius*. This biotechnological tool contributes to the production of high-quality planting material with appropriate phytosanitary standards under good agricultural practices, strengthening the productive capacity of small farmers in Cundinamarca.

Keywords: micropropagation, IAA, KIN, BAP, *in vitro* culture, *Smallanthus sonchifolius*

Antecedentes

Los antecedentes de la presente investigación se fundamentan en el trabajo realizado por el “Grupo de Investigación sobre el cultivo del ñame”, el cual data de 1.997 a partir de la creación del Programa de Biotecnología Agrícola (PBA) por el Ministerio de Cooperación de Holanda (DGIS), el cual solicitó a varios investigadores del país la presentación de propuestas de investigación en varios cultivos. El Instituto de Biotecnología presentó una propuesta para investigar en el cultivo del ñame en Colombia, reto de gran envergadura, dada la orfandad del mismo no solo en el país sino en el mundo por los limitados esfuerzos que tanto técnica, como socialmente se habían realizado en él. Desde su inicio el grupo se ha articulado con los productores de la Costa Atlántica. La articulación en mención generó el primer esquema de investigación participativa en el cultivo del ñame en Colombia. Este esquema se empieza a desarrollar en los años 40 (Lewin, 1946) y a partir de las décadas de los 70 y 80 se dio a conocer en Latinoamérica gracias a los trabajos realizados por Borda, (1973 y 1987) y en la actualidad se conoce más como innovación social, que según Murray (2008) se define como nuevas ideas que simultáneamente satisfacen necesidades sociales y crean nuevas relaciones de colaboración. Con este contexto, el grupo se planteó como objetivo, mejorar la calidad de vida de los pequeños productores de Colombia incorporando biotecnología y para hacerlo ha venido conformando una red nacional e internacional que han permitido el avance en la investigación, la transferencia de conocimiento y apropiación de tecnologías. Entre otras entidades están el IITA (International Institute for Tropical Agriculture), la Universidad de Frankfurt en Alemania, el CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement), el Instituto de Biotecnología de las Plantas de Cuba, Corpoica, la Universidad de Sucre, la Universidad de Córdoba, el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), el Instituto von Humboldt, entre otras. Como resultados principales de la experiencia de integrar la innovación tecnológica con la innovación social le ha permitido al grupo la generación de dos grandes resultados, por una lado, el fortalecimiento de la

estrategia de investigación participativa, la cual se ha convertido en soporte de las actividades de investigación y desarrollo, no sólo del grupo, sino de muchos otros como mecanismo facilitador de la transferencia de tecnología a los pequeños productores de Colombia y por otro, la creación de un modelo de investigación para pequeños productores basado en biotecnología que ha implementado en varias regiones del país y con una amplia variedad de cultivos dentro de los que se cuentan entre otros, tomate de árbol, guayaba, espinaca, arveja, alcachofa, espárrago, ajonjolí, papa, ñames andinos etc., a partir del cual el grupo gestó el programa *“Innovación Social y Biotecnología: Sumando estrategias para el desarrollo rural”* (Buitrago et al., 2017)

Con esta visión y gracias a la financiación recibida en la Convocatoria 890 del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación en la cual el ICETEX aportó los recursos necesarios para el fortalecimiento de la Investigación en las Instituciones de Educación Superior el presente trabajo se centra en el análisis de un esquema para la obtención de material de propagación mediante el cultivo in vitro como herramienta biotecnológica con el fin de ser herramienta técnica para la obtención de material semilla de alta calidad. Por lo cual, esta investigación tiene como objetivo establece un modelos estandarizado de micropropagación de *S. sonchifolius* para Cundinamarca-Colombia, buscando aportar en el aumento de la productividad y competitividad de los pequeños productores; por medio del desarrollo de diferentes sets de experimentos en cada una de las etapas de la micropropagación bajo un diseño experimental completamente al azar, orientado a evaluar la respuesta del material vegetal y determinar los problemas o puntos de control a lo largo del proceso. Esta aproximación experimental permitió adaptar las etapas de la micropropagación a las condiciones agronómicas y sanitarias locales, destacando la importancia de desarrollar protocolos ajustados a este contexto para lograr comprender los desafíos sanitarios y ambientales que se presenten a lo largo del proceso y ser línea base para poder orientar nuevas investigaciones

Contenido

| | |
|--|-----------|
| Resumen..... | III |
| Abstract..... | V |
| Antecedentes..... | VII |
| Lista de ilustraciones..... | XI |
| Lista de Figuras..... | XII |
| Lista de tablas..... | XIV |
| 1. Introducción..... | 1 |
| 2. Objetivos..... | 5 |
| 2.1 Objetivo general..... | 5 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 5 |
| 3. Marco teórico..... | 6 |
| 3.1 Generalidades del cultivo de <i>S. sonchifolius</i> | 6 |
| 3.1.1 Generalidades y descripción botánica <i>S. sonchifolius</i> | 6 |
| 3.1.2 Condiciones edafoclimáticas del cultivo de <i>S. sonchifolius</i> | 10 |
| 3.1.3 Beneficios nutracéuticos demostrados en <i>S. sonchifolius</i> | 11 |
| 3.1.4 Compuestos antioxidantes identificados en <i>S. sonchifolius</i> | 13 |
| 3.1.5 Actividad antimicrobiana y antifúngica de <i>S. sonchifolius</i> | 19 |
| 3.1.6 Datos mundiales de producción agrícola de <i>S. sonchifolius</i> y perspectivas de mercado..... | 21 |
| 3.1.7 Políticas o programas que fomentan la cadena productiva de <i>S. sonchifolius</i> a nivel nacional y regional..... | 25 |
| 3.2 Métodos de propagación <i>in vitro</i> para <i>S. sonchifolius</i> | 26 |
| 3.2.1 Metodologías usadas para la aclimatación <i>ex vitro</i> de plantas regeneradas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 34 |
| 3.2.2 Factores afectan la variabilidad genética en plantas propagadas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 36 |
| 4. Materiales y métodos..... | 38 |
| 4.1 Metodología para la construcción del marco teórico..... | 38 |
| 4.2 Establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de plantas madre para la obtención de explantes de <i>S. sonchifolius</i> | 40 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.3 | Desinfección de material vegetal para la introducción de explantes a condiciones <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 45 |
| 4.3.1 | Protocolos de desinfección de propágulos de <i>S. sonchifolius</i> | 45 |
| 4.4 | Evaluación del efecto de reguladores de crecimiento en la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 49 |
| 4.4.1 | Fase de establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 49 |
| 4.4.2 | Procedimiento de siembra e incubación de explantes de <i>S. sonchifolius</i> | 50 |
| 4.4.3 | Fase de multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 51 |
| 4.5 | Identificación de contaminantes fúngicos persistentes en el cultivo <i>in vitro</i> <i>S. sonchifolius</i> . | 53 |
| 4.6 | Implementación de agentes desinfectantes para el control de contaminación bacteriana persistente en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 54 |
| 4.7 | Estrategias de aclimatación para plántulas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 56 |
| 5. | Análisis de resultados y Discusión | 58 |
| 5.1 | Establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de plantas madre para la obtención de explantes de <i>S. sonchifolius</i> . | 58 |
| 5.1.1 | Evaluación de la desinfección de propágulos para el establecimiento <i>in vivo</i> | 58 |
| 5.1.2 | Incidencia de factores bióticos y abióticos en el invernadero | 60 |
| 5.2 | Evaluación del efecto de reguladores de crecimiento en la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 62 |
| 5.2.1 | Interacción Desinfección - Medio de Cultivo (Fase <i>in vitro</i>) | 62 |
| 5.2.2 | Fase de multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> (Evaluación de Citoquininas) | 65 |
| 5.3 | Evaluación de agentes desinfectantes en medio de cultivo para el control de contaminación persistente | 67 |
| 5.3.1 | Análisis de la contaminación microbiana y estrategias de rescate | 67 |
| 5.3.2 | Implementación de agentes antimicrobianos en el medio de cultivo | 68 |
| 5.4 | Identificación de contaminantes fúngicos persistentes en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 71 |
| 5.4.1 | Identificación molecular de hongos contaminantes recurrentes | 71 |
| 5.5 | Estrategias de aclimatación para plántulas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 74 |
| 5.5.1 | Desempeño morfométrico al finalizar la fase <i>in vitro</i> (40 días) | 74 |
| 5.5.2 | Fase de Aclimatación y Endurecimiento | 77 |
| 5.5.3 | Tasa de propagación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . | 79 |
| 6. | Conclusiones y recomendaciones | 82 |
| 6.1 | Conclusiones | 82 |
| 6.2 | Recomendaciones | 83 |
| A. | Anexo: Análisis estadístico | 84 |
| B. | Anexo: Resultado del filtrado documental de literatura científica por preguntas orientadoras (modelo PRISMA adaptado) de <i>S. sonchifolius</i> | 89 |
| C. | Anexo: Diagrama de flujo del protocolo de micropropagación de yacón (<i>S. sonchifolius</i>) | 97 |
| | Bibliografía | 98 |

Lista de ilustraciones

- Ilustración 3-1.** Ilustración científica de *S. sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.)). A: Raíces tuberosas; B: Corona; C: Hojas. *Fuente:* ilustración original realizada por (González L) (comunicación personal diciembre 2024) 7
- Ilustración 3-2.** Corte trasversal de la inflorescencia de *S. sonchifolius*. A: Flores liguladas; B: Flores estaminadas o tubulares. *Fuente:* ilustración original realizada por (González L) (comunicación personal diciembre 2024) 9

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 4-1 Establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de plantas madre para la obtención de explantes de yacón (<i>S. sonchifolius</i>) en condiciones de invernadero. | 40 |
| Figura 4-2 Diagrama de causa y efecto (Diagrama de Ishikawa) para las problemáticas asociadas al cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 42 |
| Figura 4-3 Proceso de preparación de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero, 1. Secado inicial de propágulos; 2. Selección y estandarización de propágulos; 3 Lavado con solución jabonosa; 4. Selección de material sano; 5. Métodos de desinfección de material vegetal; 6. Secado final antes de la siembra en condiciones de invernadero. | 44 |
| Figura 4-4 Esquema general de desinfección de explantes de <i>S. sonchifolius</i> (yemas apicales y axilares) para la introducción a condiciones <i>in vitro</i> . 1. Selección de yemas y lavado con solución jabonosa; 2. Lavado con solución de fungicida sistémico; 3. Lavados con agua de grifo para la eliminación de residuos de fungicida; 4. Inicio de desinfección superficial en cámara de flujo laminar | 46 |
| Figura 4-5 Sistema de agitación usado para la desinfección de explantes de <i>S. sonchifolius</i> | 48 |
| Figura 5-1. Insectos plaga asociados al cultivo en invernadero de <i>S. sonchifolius</i> ; A: Áfido (pulgón); B: Mosca o palomilla blanca; C: Cochinilla algodonosa o harinosa..... | 61 |
| Figura 5-2 Estrategias para mitigación de insectos plaga presentes en el cultivo de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero. | 62 |
| Figura 5-3. Efecto de los tratamientos con citoquininas (BAP y KIN) sobre la media de plántulas obtenidas y la incidencia de contaminación..... | 66 |
| Figura 5-4. Porcentaje de contaminación microbiana en los explantes establecidos <i>in vitro</i> (ensayo introducción a condiciones <i>in vitro</i>) de <i>S. sonchifolius</i> | 67 |
| Figura 5-5 Porcentaje de contaminación microbiana en los explantes establecidos <i>in vitro</i> (ensayo de citoquininas) de <i>S. sonchifolius</i> | 68 |
| Figura 5-6 Frecuencia de explantes libres de contaminación según el agente desinfectante en el medio..... | 69 |
| Figura 5-7 Evidencia de fitotoxicidad en plántulas de <i>S. sonchifolius</i> expuestas a agentes desinfectantes en el medio. A. Necrosis apical; B. Necrosis radicular; C. raíz de medio MS-control..... | 71 |
| Figura 5-8 Hongos aislados del cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> . A. Aislamiento del hongo identificado como <i>Fusarium cf. tricinctum</i> . B. Aislamiento del hongo <i>Nigrospora cf. oryzae</i> A.a y B.b Micrografías con tinción de azul de lactofenol correspondientes a cada morfotipo. | 72 |

| | |
|--|----|
| Figura 5-9 Distribución de los mejores alineamientos BLAST (Top Hits) obtenidos para los aislados fúngicos: A = <i>Fusarium cf. tricinctum</i> y B = <i>Nigrospora cf. oryzae</i> | 73 |
| Figura 5-10 . Suma total de brotes por tratamiento hormonal bajo condiciones de Fitotrón e Invernadero. | 78 |

Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 3-1. Emprendimientos y empresas que desarrollan productos derivados del yacón (<i>S. sonchifolius</i>) en Colombia | 24 |
| Tabla 4-1 Tratamientos usados en la desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero. 43 | |
| Tabla 4-2. Sets experimentales resultantes del arreglo factorial 3×5 para la introducción <i>in vitro</i> de explantes de <i>Smallanthus sonchifolius</i> | 50 |
| Tabla 4-3 Variables para la evaluación de sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 51 |
| Tabla 4-4 Concentraciones de Bencilaminopurina (BAP) y Kinetina (KIN) en los Tratamientos Hormonales utilizados en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 52 |
| Tabla 4-5 Agentes químicos para la prevención de contaminaciones persistentes en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 55 |
| Tabla 4-6. Tratamientos de aclimatación para plántulas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 57 |
| Tabla 5-1 Medias de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero. 58 | |
| Tabla 5-2 Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero. | 59 |
| Tabla 5-3. Prueba <i>t</i> de Student para las comparaciones múltiples del número de brotes entre tratamientos de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo <i>in vivo</i> de <i>S. sonchifolius</i> en condiciones de invernadero (ajuste Bonferroni)..... | 60 |
| Tabla 5-4 Promedios de las variables para la evaluación de sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> (Final de ciclo de baja luminosidad)..... | 63 |
| Tabla 5-5. Medios con valores superiores a las medias de los tratamientos de desinfección en combinación con los tratamientos hormonales AIA y KIN (Final de ciclo de baja luminosidad) | 63 |
| Tabla 5-6 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para las combinaciones de tratamientos de desinfección y medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de AIA y KIN para <i>S.sonchifolius</i> (Final de ciclo de baja luminosidad). 64 | |
| Tabla 5-7 Comparaciones <i>post-hoc</i> (Tukey HSD) para la interacción significativa. | 64 |
| Tabla 5-8 Análisis de varianza (ANOVA) para la fase de multiplicación. | 65 |
| Tabla 5-9 Comparación de medias según tipo de contaminación (Tukey HSD). | 66 |
| Tabla 5-10 Análisis de varianza (ANOVA) del efecto del agente desinfectante y tipo de contaminante sobre el número de brotes..... | 69 |

| | |
|--|----|
| Tabla 5-11 Comparación de medias (Tukey HSD) para la variable del número de brotes según el Tipo de contaminación. | 70 |
| Tabla 5-12 Análisis comparativo con BLASTn de los alineamientos de secuencias de la amplificación por PCR de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) de los hongos identificados como persistentes en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 73 |
| Tabla 5-13 Desempeño de diferentes esquemas de desinfección en la supervivencia y crecimiento <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 75 |
| Tabla 5-14 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para las combinaciones de tratamientos de desinfección y medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de AIA y KIN para <i>S. sonchifolius</i> (Al finalizar el ciclo de condiciones <i>in vitro</i> (40 días)). | 76 |
| Tabla 5-15 Comparaciones <i>post-hoc</i> (Tukey HSD) de los tratamientos de desinfección para la introducción de <i>S. sonchifolius</i> a condiciones <i>in vitro</i> sobre la variable del número de brotes | 77 |
| Tabla 5-16 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para la evaluación del efecto de los tratamientos de endurecimiento y los medios de propagación (BAP×KIN) sobre la variable número de brotes. | 79 |
| Tabla 5-17 Tasa de propagación final sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 80 |
| Tabla 5-18 Tasa de propagación final para los medios de propagación (BAP×KIN) <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> | 81 |

1. Introducción

En la actualidad, los hábitos de consumo en la población mundial se pueden ver influenciados por una combinación de factores como el desarrollo económico, el contexto de salud pública local y preocupaciones medioambientales, lo que evidencia un panorama alimentario complejo. Estos cambios generan uno de los mayores desafíos que enfrenta la agricultura a nivel global que es la creciente demanda de alimentos, sin embargo, no se puede desconocer el impacto en estos cambios generados por las dinámicas socioeconómicas predominantes en cada región. Por ejemplo, los países con un producto interno bruto (PIB) elevado suelen promover patrones alimentarios más diversos y un mayor consumo de productos de origen animal, así como prácticas agrícolas más sostenibles, mientras que en los países de ingresos bajos y medianos persisten limitaciones de acceso a alimentos más nutritivos y seguros (Biganzoli et al., 2025). Este espacio de oportunidad puede ser aprovechado por la investigación en alimentos funcionales o “superfoods” como lo es el yacón (Luziatelli et al., 2023).

El yacón es un producto que posee altos beneficios para la salud humana y su mercado aún es limitado frente a otros alimentos funcionales con mayor consolidación comercial, tanto a nivel local como internacional, sin embargo, en el campo de mercados alternativos orientados al bienestar y la alimentación saludable, demanda e integración de mercado representa una oportunidad estratégica para la creación de una cadena productiva a partir de una eficiente articulación de eslabones, que apalanquen el trabajo conjunto entre la academia, los productores y comercializadores de este producto para la ejecución de investigaciones sobre el yacón que a futuro permitirían fortalecer su producción, darse a conocer en el mercado ampliando su demanda y su competitividad (Calderón et al., 2017).

S. sonchifolius es considerado un alimento nutracéutico debido a su elevada concentración de fructooligosacáridos (FOS) y otros compuestos bioactivos con efectos fisiológicos demostrados. Estos beneficios han sido demostrados experimentalmente por Grancieri et al. (2023), quienes reportaron que el consumo de harina de las raíces de esta planta en un modelo murino de cáncer colorrectal promueve la reducción de la inflamación y la endotoxemia, así como el fortalecimiento de la respuesta inmunológica a nivel intestinal.

2 Estandarización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* para el suministro de material de siembra en la cadena productiva de yacón del departamento de Cundinamarca - Colombia

Adicionalmente, estudios como los de Padilla-González et al. (2020) y Pereira et al. (2025) evidenciaron efectos favorables de los jarabes derivados en la regulación de la glucosa, muy favorable en contextos metabólicos de enfermedades como la diabetes tipo II o el SOP (Síndrome de ovario poliquístico). Por otra parte, se ha evidenciado que las hojas de la planta presentan actividad biofuncional relevante, Widowati et al. (2023) demostraron propiedades antioxidantes y antifibróticas en extractos de hojas. En conjunto, la evidencia científica respalda el consumo de *S. sonchifolius* como un recurso nutracéutico estratégico y con un creciente interés en la generación de productos funcionales y aplicaciones biotecnológicas, por ejemplo, De Almeida Costa et al. (2025) desarrollaron un modelo de micropartículas probióticas empleando harina de *S. sonchifolius* rica en oligosacáridos con el propósito de microencapsular la cepa probiótica *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG. De esta manera se puede evidenciar la apertura de campos de investigación y consolidación de información primaria para la construcción de las bases técnicas y tecnológicas que promuevan a futuro el consumo de esta especie posicionándose como un alimento con potencial favorable para la salud digestiva, metabólica e inmunológica.

S. sonchifolius tradicionalmente se ha propagado de manera clonal, por medio de propágulos que se obtienen después de que las plantas han sido cosechadas. En el sistema radicular de esta planta se forma una estructura llamada la cepa o corona, esta se extrae y se secciona con un cuchillo en porciones que deben tener de 4 a más yemas o brotes; cada porción debe tener suficiente tejido de reserva que asegure su establecimiento en el campo y el brotamiento de las yemas (Valderrama et al., 2005). En Colombia la agricultura se posiciona como una de las actividades productivas más importantes, al utilizar casi el 50 % de la superficie del país, empleando mano de obra para aportar al desarrollo de las áreas rurales por la generación de empleo y permitir economías familiares (Castro, A 2017 citado en López et al., 2020), así como la apertura a “nuevos cultivos” (cómo lo es el yacón) podría fortalecer la industria y el futuro internacional del país, además de beneficiar la apropiación de elementos ancestrales; pero se evidencia una carencia en infraestructura y tecnología que potencia estas nuevas ideas de negocio (Castro, A 2017 citado en López et al., 2020).

Como se mencionó anteriormente, *S. sonchifolius* es una planta con una baja tasa de viabilidad en sus semillas sexuales, debido entre otros factores a la androesterilidad (Manrique et al., 2014). Por lo que la propagación vegetativa es más eficiente. Si bien el cultivo *in vitro* implica desafíos debidos a variación somaclonal, también constituye una herramienta importante en la generación de la variabilidad genética, aprovechable en posibles programas de fitomejoramiento, si así se desea, pues al seleccionar y utilizar cuidadosamente las variantes deseables, es posible desarrollar nuevos cultivares con mayor productividad, resistencia a enfermedades y otras características agronómicas de interés (Majumder et al., 2025).

El cultivo *in vitro* es una herramienta clave, en especial, técnicas como la micropropagación, pues permite conservar especies vegetales cuyas semillas poseen bajas tasas de viabilidad o que son difíciles de propagar por métodos clonales tradicionales, así mismo es un proceso independiente de las estaciones y ocupa mucho menos espacio físico en comparación con viveros convencionales y producción continua durante todo el año (Ragavendran and Natarajan, 2017 citado en Hasnain et al., 2022). Por otra parte, al emplear técnicas como el cultivo de tejidos vegetales *in vitro* y la criopreservación, se pueden mantener colecciones genéticas bajo condiciones controladas, reduciendo el riesgo de pérdida causado por factores ambientales como plagas o enfermedades, incluso variaciones climáticas (Reed et al., 2004). Esto es esencial en la preservación de la variabilidad genética necesaria para la conservación de la biodiversidad del recurso genético, siendo herramienta fundamental en planes de conservación *ex situ* de especies de gran importancia económica.

En respuesta a estas limitaciones, se han desarrollado investigaciones con relación a la micropropagación *in vitro*, utilizando medios de cultivo como Murashige y Skoog (MS) suplementados con reguladores de crecimiento como BAP (bencilaminopurina) y AIB (ácido indolbutírico) en los que podemos destacar los trabajos realizados por Saire S (2012), Cano M (2016), Valero A (2017), Cabrera R & Aliaga J (2019) y Kiszczak et al. (2022), quienes demostraron que el cultivo *in vitro* de yacón permite obtener plantas libres de microorganismos contaminantes (hongos y bacterias) y mejorar la eficiencia en la producción de material vegetal. El método requiere de la estandarización específica de para cultivares locales puesto que las condiciones o factores ambientales y la respuesta

4 Estandarización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* para el suministro de material de siembra en la cadena productiva de yacón del departamento de Cundinamarca - Colombia

fisiológica del material vegetal puede ser diferente, generando la necesidad de adaptaciones en los protocolos ya existentes.

Con esta visión, el presente trabajo se centra en el análisis de un esquema para la obtención de material de propagación mediante el cultivo *in vitro* como herramienta biotecnológica para la obtención de material semilla de alta calidad. Por lo cual, esta investigación tiene como objetivo establecer un modelo estandarizado de micropropagación de *S. sonchifolius* para Cundinamarca-Colombia, buscando aportar en el aumento de la productividad y competitividad de los pequeños productores; por medio del desarrollo de diferentes sets de experimentos en cada una de las etapas de la micropropagación bajo un diseño experimental completamente al azar, orientado a evaluar la respuesta del material vegetal y determinar los problemas o puntos de control a lo largo del proceso. Esta aproximación experimental permitió adaptar las etapas de la micropropagación a las condiciones agronómicas y sanitarias locales, destacando la importancia de desarrollar protocolos ajustados a este contexto para lograr comprender los desafíos sanitarios y ambientales que se presenten a lo largo del proceso y ser línea base para poder orientar nuevas investigaciones.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Proponer un protocolo para el cultivo *in vitro* de *Smallanthus sonchifolius* como herramienta para la producción de material de siembra en la cadena productiva de yacón en Cundinamarca región Centro Oriente.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la relación de dos citoquininas y una auxina en el desarrollo del cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.
- Determinar los mejores tratamientos en cada etapa del cultivo a partir de la cuantificación de la tasa de propagación *in vitro* de *S. sonchifolius*.
- Identificar los factores implicados en la adaptación de las plántulas de *S. sonchifolius* obtenidas en condiciones *in vitro* a condiciones *ex vitro*.

3. Marco teórico

3.1 Generalidades del cultivo de *S. sonchifolius*

3.1.1 Generalidades y descripción botánica *S. sonchifolius*

Smallanthus sonchifolius (Poepp.) H. Rob., (Familia: Asteraceae) comúnmente llamada “yacón”, es una planta herbácea perenne vigorosa (Ilustración 3-1), erecta, que puede llegar a medir desde 0,7 hasta 3,5 m de altura, con pocas o muchas ramas (Valderrama-Cabrera et al., 2005). Esta planta es nativa de los Andes por lo cual es común encontrarla en países como Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela, Argentina y Bolivia. Pero en los últimos años se han encontrado registros en países como Nueva Zelanda, Brasil, Australia y Tailandia gracias a su alta resistencia a diferentes condiciones ambientales facilitando el cultivo en diferentes zonas, esto debido al alto interés por sus grandes propiedades nutraceuticas ampliando su distribución a otros ambientes (GBIF Secretariat, 2023)

La característica más llamativa de esta especie son sus órganos subterráneos (Ilustración 3-1, A), conformados por un tronco engrosado y ramificado denominado corona (Ilustración 3-1, B), que presenta brotes cortos conocidos como propágulos o rizomas, a los rizomas también están unidas las raíces, las cuales son de dos tipos: las fibrosas, delgadas y absorbentes que pueden alcanzar en promedio 60 cm de profundidad, y las raíces tuberosas, almacenadoras y de gran tamaño, con dimensiones que pueden sobrepasar los 25 cm largo y 10 cm de espesor, por último, la coloración de la epidermis varia del rojizo a blanco y la pulpa puede ser blanca, cremosa a morada (Seminario et al., 2003 citado en Polanco M, 2011).

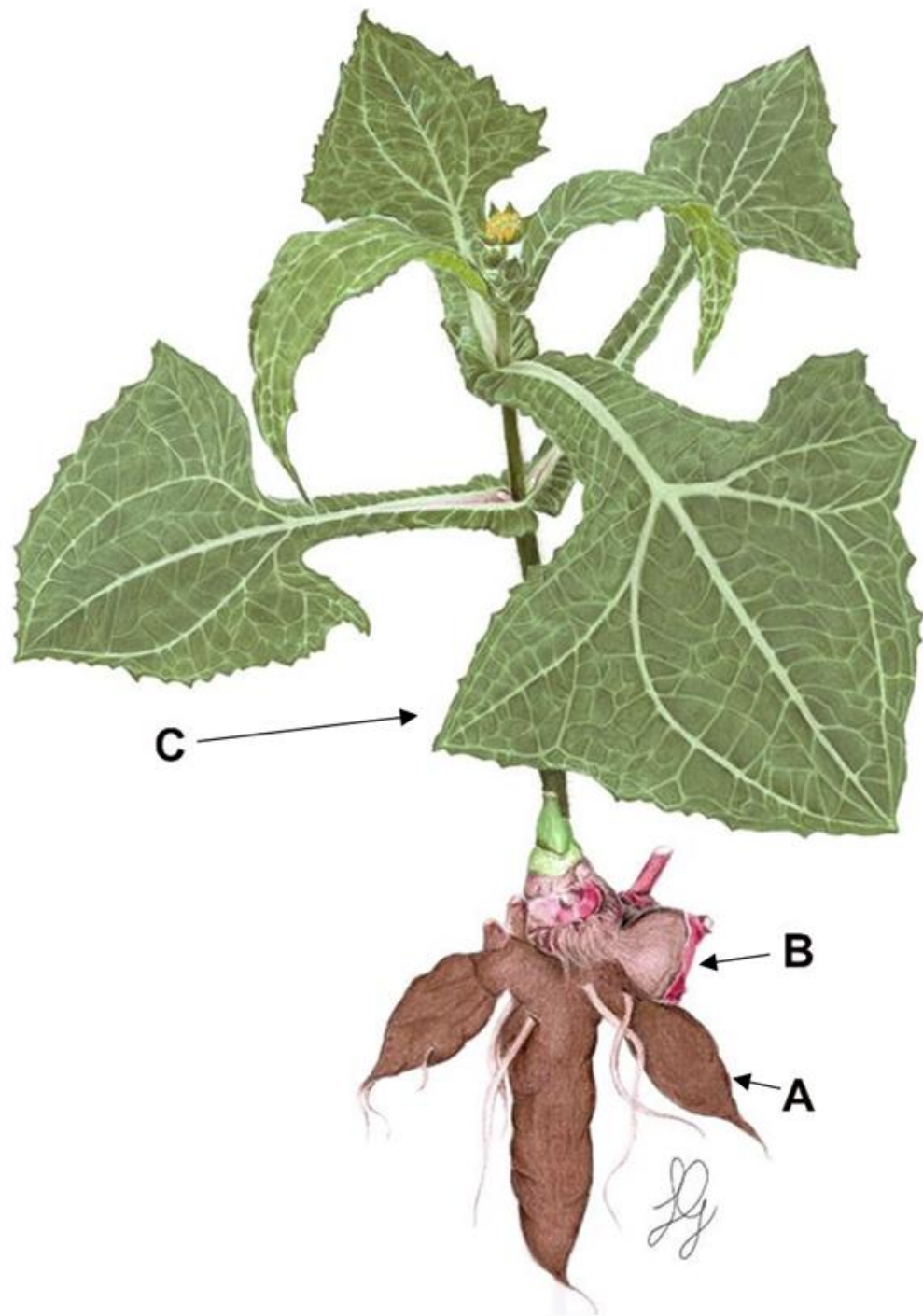


Ilustración 3-1. Ilustración científica de *S. sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.). A: Raíces tuberosas; B: Corona; C: Hojas. *Fuente:* ilustración original realizada por (González L) (comunicación personal diciembre 2024)

Las hojas de esta especie son enteras y con peciolo, su borde es por lo general dentado y la lámina tiene forma triangular con la base astada (como la punta de una flecha), truncada o acorazonada, está cubierta por una gran cantidad de tricomas o vellosidades encargadas de la regulación hídrica y térmica de la planta (Ilustración 3-1, C) (Valderrama-Cabrera et al., 2005). Son trinervadas o triplinervadas, con ambas superficies pubescentes. Los pecíolos son alados, con alas de ancho uniforme y poseen aurículas en la base, las cuales son discontinuas respecto a la hoja opuesta. Las hojas inferiores suelen medir entre 17 y 30 cm de largo, con láminas foliares subtriangulares de 10 a 23 cm de ancho y base truncada, y pecíolos de 6 a 13 cm de longitud. En contraste, las hojas superiores son más pequeñas, de 9 a 25 cm de largo, con láminas ovadas o elípticas de 4,5 a 11 cm de ancho y base obtusa, cuyos pecíolos miden entre 1,5 y 4 cm (Vitali et al., 2015).

Las flores (inflorescencia) del yacón se organizan en capítulos heterógamos que combinan dos tipos de flores (Ilustración 3-2). Es decir, posee flores liguladas que son pistiladas (femeninas) (Ilustración 3-2, A) y se encuentran en la periferia del capítulo. Estas poseen un estigma seco bilobulado que, a pesar de que el ovario desarrolla un óvulo maduro, no ocurre fertilización debido a problemas en el desarrollo del saco embrionario y degeneración temprana. Por otra parte, las flores tubulares o flores estaminadas (masculinas) (Ilustración 3-2, B), están ubicadas en el centro del capítulo. Estas presentan baja viabilidad del polen, con solo un 15% de granos viables, además de anomalías morfológicas como tamaños irregulares y reducción de espinas en los granos (Ibañez et al., 2017). Los capítulos miden entre 5 y 12 mm de largo y entre 8 y 19 mm de ancho, dispuestos en cimas racemiformes o paniculiformes, con aproximadamente 20 capítulos por inflorescencia (Vitali et al., 2015).

**Flor tubular
masculina****Flor ligulada
femenina**

Ilustración 3-2. Corte transversal de la inflorescencia de *S. sonchifolius*. A: Flores liguladas; B: Flores estaminadas o tubulares. *Fuente:* ilustración original realizada por (González L (comunicación personal diciembre 2024))

En relación con la semilla, en *S. sonchifolius* son técnicamente aquenios de entre 2.2 mm y 3.7 mm de longitud, un tipo de fruto seco característico de la familia Asteraceae. Sin embargo, estas semillas presentan características que limitan su viabilidad y funcionalidad en la reproducción sexual. Esto se debe, a que el saco embrionario, aunque inicialmente se desarrolla, se degenera en etapas avanzadas debido a anomalías en el proceso de fertilización. Esto está asociado con una proliferación anormal del endotelio que rodea al embrión formando aquenios aparentemente normales, pero estos suelen carecer de contenido embrionario funcional (Ibañez et al., 2017).

3.1.2 Condiciones edafoclimáticas del cultivo de *S. sonchifolius*

S. sonchifolius es una planta cultivada a lo largo de la cordillera de los Andes, comprendiendo países de Suramérica como, Colombia, Ecuador, Perú, Chile y Argentina, en general es un cultivo bastante resistente adaptable a diferentes condiciones por ejemplo es fácil de encontrar en un rango altitudinal bastante amplio usualmente entre 1.100 a 2.500 msnm (Dorset et al. 2009 citado en Cano, 2016). Desde la década de los 80's comenzó a ser más popular tanto su consumo como el cultivo para diferentes países de América del Sur (Brasil y Paraguay), y también para países de otros continentes, como Nueva Zelanda (Oceanía), Japón y Corea (Asia), República Checa (Europa), Estados Unidos (América del Norte) (Seminario et al. 2003 citado en Teixeira et al., 2020).

Se desarrolla en diferentes ecosistemas interandinos; con temperaturas medias anuales entre 14 a 20 °C. Las temperaturas menores a 10 °C retardan su crecimiento y alargan el periodo vegetativo, reduciendo los rendimientos. Si la temperatura excede los 26°C, y la humedad del suelo es insuficiente, la planta se estresa y se marchita excesivamente, afectando su desarrollo (Cabrera et al., 2019).

En la actualidad, el cultivo de *S. sonchifolius* está en expansión debido a su capacidad para adaptarse fácilmente a climas templados y subtropicales. Países como Nueva Zelanda han logrado cultivar variedades mejoradas para soportar heladas leves. Por otra parte, Asia (Japón y Corea del Sur) se ha integrado como un cultivo medicinal debido a sus diversas aplicaciones medicinales a nivel metabólico en pacientes con diabetes y altos niveles de colesterol LDL en sangre (M. F. Pereira et al., 2025), como se ha mencionado anteriormente. Recientemente, se ha estudiado el metabolismo del yacón (*S. sonchifolius*) en la que se han identificado variaciones en el metabolismo secundario, asociadas tanto al desarrollo fenológico como a factores ambientales; en particular, se ha observado que las condiciones externas, como la radiación solar, la temperatura y la humedad, influyen en la acumulación diferencial de compuestos fenólicos, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas, lo que sugiere una regulación metabólica adaptativa (Padilla-González et al., 2019).

El cultivo del yacón depende en gran medida del manejo adecuado del suelo en relación con la biodisponibilidad de nutrientes. Un equilibrio entre nitrógeno moderado, fósforo bajo y potasio alto, junto con un suelo rico en materia orgánica y bien drenado, asegura un crecimiento vigoroso y una alta producción de raíces tuberosas saludables (de Vargas et al., 2022). Teniendo en cuenta la importancia del manejo del suelo en este cultivo, se ha encontrado algunas aplicaciones sostenibles que combina beneficios agronómicos y ecológicos como la co-inoculación con *Azospirillum brasilense* y hongos micorrízicos nativos que ha mostrado una actividad efectiva en maximizar el rendimiento del cultivo, mejorar la salud del suelo y reducir la dependencia de insumos químicos (Di Barbaro et al., 2021).

3.1.3 Beneficios nutraceuticos demostrados en *S. sonchifolius*

S. sonchifolius ha ganado atención científica por sus propiedades nutricionales, particularmente por su riqueza en fructooligosacáridos (FOS), compuestos fenólicos y fibras dietarias con potencial prebiótico, lo que hizo posible identificar beneficios reportados tanto en humanos como en animales, con respaldo experimental riguroso. Se identificaron 6 artículos que resaltan de forma detallada los hallazgos relevantes:

Genta et al. (2009) condujo un estudio clínico doble ciego controlado con placebo en mujeres premenopáusicas con obesidad, donde se administró jarabe de *S. sonchifolius* durante 120 días. Los resultados mostraron una disminución significativa del peso corporal, el índice de masa corporal y la circunferencia de cintura, acompañada por una reducción en los niveles plasmáticos de insulina y una mejora en la resistencia a la insulina medida por HOMA-IR. Estos hallazgos apuntan a un rol metabólicamente activo del yacón como suplemento dietario, particularmente en contextos de obesidad e insulinoresistencia, con buena tolerancia gastrointestinal en la mayoría de los participantes.

Campos et al. (2012) evaluó los efectos prebióticos del yacón en cobayos, considerando no solo su contenido de FOS sino también la presencia de compuestos fenólicos con actividad antioxidante. La inclusión de yacón en la dieta favoreció el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos en la porción intestinal correspondiente al ciego, aumentó la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), redujo el pH colónico y mejoró la

integridad histológica del tejido intestinal. Estas variables confirman el efecto prebiótico y protector intestinal de *S. sonchifolius*, con implicaciones en la prevención de enfermedades gastrointestinales y en la modulación de la microbiota en especies no humanas.

Silva et al. (2024) compiló los resultados de algunos estudios clínicos humanos que buscaron evaluar el impacto del consumo de harina de yacón sobre diversos parámetros metabólicos. En la mayoría de los estudios, la suplementación con productos derivados de *S. sonchifolius* (en forma de harina, cápsulas o jarabe) condujo a la reducción de la glicemia en ayunas, de la hemoglobina glicosilada (HbA1c), lípidos plasmáticos y masa grasa corporal, además de contribuir positivamente en la composición de la microbiota intestinal. La revisión también destacó que estos efectos dependen de la dosis, la duración del tratamiento y la presentación del alimento funcional, lo cual subraya la necesidad de estandarización para su aplicación clínica o comercial.

En la actualidad, estudios más recientes han tratado de entender mejor los efectos de consumo de productos derivados como la harina y jarabes (syrops) de *S. sonchifolius* en el manejo de algunas enfermedades. Por ejemplo, Grancieri et al. (2025), evidenciaron algunos efectos positivos del consumo de harina de yacón sobre el manejo de cáncer colorrectal en un modelo *in vivo* sobre ratas Wistar. En este estudio se encontró que los grupos de ratas Wistar con cáncer colorrectal inducido (CCR) presentaron los valores más altos de endotoxemia. La endotoxemia es una afección caracterizada por la presencia sistémica de lipopolisacáridos (LPS) bacterianos, los cuales pueden desencadenar una respuesta inflamatoria severa y contribuir a la disfunción de la barrera intestinal y activar células inmunitarias que liberan citocinas proinflamatorias, exacerbando así diversos procesos patológicos. Sin embargo, el grupo de ratas Wistar con CCR que recibió harina de yacón mostró niveles de endotoxemia similares a los de los grupos de control sanos. El mecanismo propuesto para esta interacción sugiere que el consumo de harina de yacón, como fuente rica en fructooligosacáridos (FOS), incrementa la inmunoglobulina A secretora fecal (IgAs) y que este aumento favorece la integridad de la barrera intestinal y evita la translocación de bacterias patógenas a través del epitelio, contribuyendo así a la reducción de la endotoxemia. En conclusión, demostraron que el consumo de la harina de *S. sonchifolius* reduce la inflamación, pero sus hallazgos no confirman la hipótesis de que

pueda afectar el estrés oxidativo, si bien la harina de yacón redujo la inflamación y la endotoxemia no demostró ningún efecto sobre el estrés oxidativo.

Por último, Pereira et al. (2025) evaluaron el efecto del jarabe de yacón sobre la respuesta glucémica postprandial en 20 mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) con sobrepeso y obesidad, de entre 18 a 40 años. En un ensayo clínico cruzado aleatorizado de 15 días, se observó que el consumo de jarabe de yacón durante las comidas redujo de forma significativa la glucemia inmediata postprandial, particularmente en el desayuno y la cena. Estos resultados sugieren que el yacón puede modular la respuesta glucémica postprandial, lo que podría ser beneficioso para prevenir fluctuaciones bruscas de glucosa en mujeres con alteraciones metabólicas asociadas al SOP.

En conjunto, los estudios revisados refuerzan el potencial de *S. sonchifolius* como alimento funcional y fuente de compuestos bioactivos con implicaciones en la regulación metabólica, la salud intestinal y la prevención de enfermedades crónicas. A pesar de la diversidad metodológica entre investigaciones, la evidencia converge en su capacidad para modular procesos como la regulación glucémica y, consolidándolo como un recurso prometedor para aplicaciones nutricionales y biotecnológicas orientadas a la salud humana.

3.1.4 Compuestos antioxidantes identificados en *S. sonchifolius*

S. sonchifolius (yacón) ha sido objeto de investigación por su potencial antioxidante, asociado a la presencia de compuestos fenólicos y su aplicabilidad en modelos experimentales tanto *in vitro* como *in vivo*. A partir de la evidencia recopilada, se destacan los siguientes trabajos a continuación, que evalúan esta actividad biológica de manera directa.

Valentová et al. (2003) evaluó la capacidad antioxidante de los extractos de hojas de yacón (*S. sonchifolius*), mediante ensayos en los que se midió la capacidad de los extractos para eliminar los radicales como 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), la inhibición de los radicales superóxido generados por el sistema xantina/xantina oxidasa, se analizó la capacidad de los extractos para inhibir la peroxidación lipídica en las membranas subcelulares del hígado de ratas (microsomas y mitocondrias) inducida por el hidroperóxido de terbutilo (tBH), el

efecto citoprotector sobre los hepatocitos de rata en el que se utilizaron cultivos primarios de hepatocitos de rata para evaluar el efecto protector de los extractos contra el daño oxidativo inducido por la tBH. Adicionalmente, la viabilidad celular se evaluó mediante la prueba MTT y la exclusión del azul tripano. En estos ensayos se evidenció una significativa capacidad antioxidante en la fracción de SOX, esta fracción se obtuvo mediante un proceso de extracción de Soxhlet con metanol (MeOH) en la que los resultados de la HP-TLC, confirmados mediante análisis por HPLC, mostraron la presencia de ácidos protocatecuico, clorogénico, cafeico y ferúlico. En relación con las pruebas en el modelo celular trabajado, que dicha fracción obtuvo resultados en los que se comprueba una alta actividad antioxidante también mostró una mejor inhibición de la lipoperoxidación tanto en los microsomas hepáticos de rata como en las mitocondrias. Con relación a los efectos sobre la viabilidad celular, esta fracción mostró un comportamiento relativamente estable en concentraciones no mayores a 100 µg/ml, pero el comportamiento fue inversamente proporcional tanto a la concentración como el tiempo de exposición a este extracto, es decir que a mayor tiempo y mayor concentración la viabilidad celular era disminuía.

Otro estudio pertinente, es el de Arnao et al. (2011) que también evaluó el potencial antioxidante, pero en este caso de diez accesiones de yacón (*S sonchifolius*) procedentes de diversas regiones de Cajamarca, Perú, empleando un modelo de estudio de tipo descriptivo, transversal y prospectivo, establecido por el Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la UNMSM junto con la Universidad Nacional de Cajamarca. Para lograr este modelo de estudio, utilizaron hojas y raíces de plantas cultivadas en el campo experimental del Programa de Raíces y Tubérculos Andinos de Cajamarca, con material vegetal originario de áreas como Yanamango, Chuquibamba, Yanac, Cumbico, Bambamarca, Sapuc, Can Can, José Gálvez, Contumazá y San Ignacio. La capacidad antioxidante fue evaluada mediante el ensayo DPPH, con el ácido ascórbico como referencia estándar, mientras que las concentraciones totales de compuestos fenólicos y flavonoides se cuantificaron utilizando el método colorimétrico de Singleton y Rossi (1965) usando ácido gálico y quercetina, respectivamente. Los hallazgos revelaron una variabilidad significativa entre las accesiones: los extractos de raíces mostraron valores de IC50 que oscilaron entre 1,92 y 6,32 µL/ml y concentraciones fenólicas de 217,5 a 352,4 µg de EAG/ml, mientras que los extractos de hojas mostraron valores de IC50 en reducción

del radical DPPH entre 44,2 y 110,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con un contenido fenólico total de 7,7 a 22,7 mg de EAG/g y niveles de flavonoides que oscilaron entre 2,2 y 4,4 mg de EAG/g. La accesión de la región de Chuquibamba mostró la capacidad antioxidante más pronunciada, indicada por valores de IC50 más bajos y niveles elevados de compuestos fenólicos y flavonoides. Estos hallazgos implican que las variaciones observadas podrían ser causadas a factores geográficos y ambientales que afectan directamente a la biosíntesis de los metabolitos secundarios. En conclusión, el estudio hace hincapié en la importancia del origen geográfico como criterio de selección fundamental para la aplicación nutracéutica del yacón y subraya el mayor potencial de las accesiones localizadas en regiones específicas de Cajamarca.

Por su parte, Campos et al. (2012) condujo un estudio *in vivo* en cobayos, evaluando el efecto de 35 accesiones de raíces de yacón sobre la microbiota intestinal y parámetros colónicos. Además de cuantificar fructooligosacáridos (FOS) y compuestos fenólicos totales, aplicaron el método ABTS para medir la capacidad antioxidante. El estudio reveló una amplia variabilidad en los niveles de compuestos bioactivos y su efecto funcional, encontrando que las dietas con yacón promovían el crecimiento de bacterias beneficiosas como bifidobacterias y lactobacilos, además de reducir el pH colónico. Adicionalmente, se identificó un incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta y una mejor integridad histológica del tejido intestinal. Aunque el mecanismo molecular exacto no se abordó, los autores sugieren que el efecto antioxidante observado se debe a la acción combinada de FOS y fenoles sobre el ambiente intestinal.

Broetto et al. (2016) también evaluaron el potencial antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos derivados de las hojas y raíces del *S. sonchifolius* junto con sus efectos antioxidantes hepáticos *in vivo* en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina. Para lograr esto, prepararon extractos de hojas secas y raíces frescas utilizando una suspensión al 10% en etanol al 70%, que posteriormente se administró por vía oral durante 14 días a ratas Wistar clasificadas en grupos de control y diabéticos, con y sin tratamiento. El análisis comparativo de los extractos incluyó una evaluación del contenido fenólico total y la capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH, junto con la cuantificación de las ROS mitocondriales; las evaluaciones *in vivo* incluyeron el monitoreo de la glucemia, los marcadores de estrés oxidativo hepático (carbonilos proteicos y ROS) y las actividades de las enzimas antioxidantes. Los investigadores observaron que, si bien el extracto de hoja mostró una capacidad antioxidante significativamente superior *in vitro*, el extracto de raíz

demonstró una mayor eficacia *in vivo*, lo que llevó a una reducción de los niveles de ROS hepáticos y a una restauración más eficiente de las actividades de las enzimas antioxidantes, como la glutatión peroxidasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Esta investigación reveló una discrepancia entre la actividad medida en el laboratorio y la respuesta biológica real, que podría atribuirse a las variaciones en la biodisponibilidad, lo que subraya que la eficacia antioxidante *in vitro* no predice de manera consistente los resultados fisiológicos.

Un aspecto esencial de la formulación de estrategias para evaluar la actividad antioxidante implica el establecimiento de metodologías estandarizadas que faciliten la extracción eficaz y eficiente de los compuestos que muestran dicha actividad. Al mismo tiempo, es crucial mejorar la comprensión de los mecanismos que rigen las interacciones entre estos compuestos y su respectiva actividad biológica. La investigación realizada por Yan X et al. (2022) estandarizó una metodología sencilla y confiable para la detección rápida de los componentes activos de las hojas de *S. sonchifolius*. Esta innovadora técnica usa un marco estadístico conocido como selección de variables mediante análisis de peso, combinado con datos cromatográficos y ensayos de eliminación de radicales del DPPH.

El desarrollo de este método consistió en someter el material vegetal (hojas) seco a una extracción con etanol al 70%, seguido de un fraccionamiento líquido-líquido del extracto crudo, lo que dio como resultado cuatro fracciones primarias (PE, EA, NB y acuosa). La fracción de acetato de etilo (EA), identificada por su actividad antioxidante superior, se separó mediante cromatografía HPLC utilizando una columna de gel de sílice, con un proceso de elución gradual empleando mezclas de disolventes (PE, PE/EA, EA, EA/MeOH y MeOH), produciendo 17 subfracciones (muestras 1-17) junto con la muestra inicial (muestra 0). Posteriormente, las 18 muestras se examinaron mediante HPLC-DAD, generando así sus perfiles cromatográficos y cuantificando las concentraciones relativas de los compuestos.

Para la evaluación de la eficacia antioxidante mediante el ensayo DPPH, se calcularon los valores del SC_{50} , clasificando las muestras en un grupo altamente activo y un grupo menos activo. Posteriormente, se empleó un análisis de peso para evaluar las variaciones dentro de los grupos y entre los grupos correspondientes a cada punto cromatográfico,

atribuyendo pesos que reflejaran el grado de contribución de cada compuesto a la actividad antioxidante. Esta metodología permitió identificar los compuestos asociados a valores de peso elevados como importantes candidatos antioxidantes, lo que permitió priorizar rápidamente las moléculas bioactivas sin necesidad de los exhaustivos procesos de purificación típicos del fraccionamiento fitoquímico convencional basado en bioensayos.

Además, la eficacia del método se evaluó utilizando variables derivadas directamente de los datos cromatográficos obtenidos mediante HPLC (en español Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia). Cada cromatograma produjo aproximadamente 12.500 puntos temporales variables, con valores de intensidad indicativos de las concentraciones relativas de los componentes presentes. Mediante la aplicación de un análisis estadístico de ponderación, se comparó la varianza entre los grupos de muestras altamente activas y menos activas y dentro de ellos, asignando ponderaciones a cada variable para determinar su capacidad selectiva con respecto a la actividad antioxidante. Los puntos cromatográficos que presentaban valores de peso elevados se interpretaron como candidatos idóneos y se situaron predominantemente dentro de intervalos específicos de tiempo de retención (RT), en particular entre 2 y 12 minutos y entre 53 y 64 minutos, y se identificaron como regiones críticas asociadas a compuestos con un potencial antioxidante significativo. Esta metodología facilitó la identificación rápida de los componentes bioactivos responsables de la actividad antioxidante, lo que evitó la necesidad de una purificación exhaustiva.

En Colombia, Tabarez et al. (2025) cuantificaron los polifenoles y flavonoides de la pulpa de *S. sonchifolius* blanco colombiano de la región de Caldas y evaluaron su actividad antioxidante, para lo cual, emplearon métodos de extracción de diferente duración (24 y 144 horas), determinación espectrofotométrica del contenido fenólico y pruebas de eliminación de radicales libres (DPPH). Los resultados demostraron que la extracción de 24 horas obtuvo un mayor contenido de polifenoles totales, mientras que la extracción prolongada favoreció los flavonoides; sin embargo, la actividad antioxidante mostró una variación menor al 2% entre ambos tiempos, lo que evidencia estabilidad funcional.

Adicionalmente, los estudios *in vivo* realizados en ratas alimentadas con dietas altas en fructosa y colesterol se pudo evidenciar un efecto favorable sobre los marcadores metabólicos que se evaluaron. Entre los principales indicadores analizados se encuentran

los marcadores de perfiles lipídicos, como colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LDL), triglicéridos (TGC) y ácidos grasos libres (FFA), así como parámetros relacionados con el metabolismo de la glucosa, incluyendo concentraciones de glucosa, secreción de insulina, niveles plasmáticos de glucosa y respuesta posprandial. Adicionalmente, para determinar su potencial antioxidante, se han medido biomarcadores de estrés oxidativo, tales como glutatión, malondialdehído, superóxido dismutasa, catalasa y la actividad de eliminación de radicales mediante el ensayo DPPH. Otros indicadores evaluados incluyen urea y la excreción de amoníaco y aminos, asociados con la función renal y el equilibrio metabólico. Según los análisis, se reportaron mejoras en perfiles lipídicos y marcadores metabólicos, incremento de la actividad antioxidante y antiinflamatoria, reducción de colesterol total, LDL y triglicéridos, así como disminución del estrés oxidativo, respaldando el potencial terapéutico del yacón. No obstante, los autores enfatizan la necesidad de ampliar las investigaciones *in vitro* e *in vivo* para optimizar los procesos de extracción y comprender completamente sus aplicaciones clínicas y biotecnológicas, considerando que posee una actividad comprobada antioxidante estable en el tiempo debido a sus compuestos antioxidantes y FOS (Fructooligosacáridos).

Conforme a los estudios mencionados en esta sección, todos los casos evidenciaron efectos favorables en la actividad antioxidante de *S. sonchifolius* en distintos modelos biológicos. Sin embargo, como mencionan los autores, resulta necesario desarrollar métodos de extracción y purificación más eficientes que permitan obtener y caracterizar con precisión las moléculas con dicha actividad. Esta optimización tecnológica posibilitaría su aplicación en diversos campos, como la industria cosmética, debido a la estabilidad oxidativa de estos compuestos y en modelos terapéuticos orientados al tratamiento de enfermedades de alta prevalencia, como la obesidad, así como patologías más complejas como el cáncer colorrectal, entre otras. Por otra parte, establecer correlaciones directas entre las condiciones agronómicas del cultivo y la producción eficiente de estos compuestos bioactivos. Asimismo, es necesario incorporar análisis comparativos que consideren la variabilidad entre posibles cultivares, con el fin de identificar aquellos con mayor rendimiento y estabilidad fitoquímica.

3.1.5 Actividad antimicrobiana y antifúngica de *S. sonchifolius*

S. sonchifolius también ha sido evaluado en diversos estudios por su capacidad para inhibir el crecimiento de microorganismos, tanto bacterias como hongos, atribuyéndose dicha actividad principalmente a sus lactonas sesquiterpénicas. A continuación, se sintetizan los hallazgos de trabajos clave que documentan esta actividad biológica.

Lin et al. (2003) aisló y caracterizó seis lactonas de tipo melampólido a partir de extractos foliares de *S. sonchifolius*, entre ellas fluctuanin, sonchifolin, uvedalin y enhydrin. Empleó cromatografía analítica, espectroscopía GC–MS y espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , 2D NMR) para identificar estas moléculas y evaluar su actividad antimicrobiana. La capacidad de inhibición se determinó mediante el método de microdilución en caldo contra *Bacillus subtilis* y *Pyricularia oryzae*, donde fluctuanin demostró la mayor potencia, mientras que sonchifolin y las demás mostraron actividad moderada.

Joung et al. (2010) evaluó la actividad antibacteriana de extractos metanólicos y sus fracciones (n-hexano, etil acetato, n-butanol y acuosa) de hojas de yacón contra cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (MRSA) y meticilino-susceptible (MSSA). Aplicó el ensayo de difusión en disco con y sin exposición a luz (4000 lux) y determinó la concentración inhibitoria mínima (MIC) por microdilución. En ausencia de luz no detectó inhibición; sin embargo, la fracción n-hexano tratada con luz redujo la MIC de 31,3 a 15,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y mostró sinergia con ampicilina y oxacilina, sugiriendo que compuestos fotoactivables de yacón potencian la acción antibiótica clásica.

De Andrade et al. (2017) trabajó con la mezcla natural de enhydrin y uvedalin extraída con diclorometano de hojas secas de *S. sonchifolius*. Identificó y cuantificó ambos por GC–MS y NMR, encontrando una proporción de 3,5:1. Usó ensayos de difusión en disco (10–90 $\mu\text{g}/\text{disco}$) y microdilución para MIC contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus*. No observó efecto sobre bacterias Gram-negativas a hasta 90 μg , pero sí inhibió *Staphylococcus aureus* con zona de inhibición de $8,67 \pm 0,57$ mm y MIC = 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Vieira et al. (2021) al igual que los autores anteriores evaluó la actividad antimicrobiana de extractos concentrados de lactonas sesquiterpénicas obtenidas a partir de hojas de *S. sonchifolius* frente a microorganismos clínicamente relevantes, incluyendo *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella entérica* y serotipo Typhimurium, utilizando ensayos de difusión en disco y determinación de concentración inhibitoria mínima (CMI). Los resultados mostraron una actividad antimicrobiana selectiva, dado que el extracto fue efectivo únicamente contra *S. aureus*, obteniéndose halos de inhibición dependientes de la concentración (7 mm a 25 mg/mL y 15 mm a 50 mg/mL) y una CMI de 0,09 mg/mL, mientras que no se observaron efectos inhibitorios frente a *C. albicans*, *C. tropicalis* ni *S. enterica* Typhimurium. Estos hallazgos respaldan el potencial de las lactonas sesquiterpénicas de las hojas de *S. sonchifolius* como fuente de agentes antimicrobianos frente a bacterias grampositivas.

Por último, Rismayuddin et al. (2023) evaluó el potencial sinérgico del sinbiótico conformado por extracto acuoso de *S. sonchifolius* y la cepa probiótica *Streptococcus salivarius* K12 sobre la formación de biopelículas polimicrobianas de *Candida albicans*, microorganismo relevante en infecciones orales recurrentes. Los ensayos preliminares de difusión en disco y en pocillo demostraron que diversas cepas de *C. albicans* (ATCC MYA-4901, ALC2 y ALC3) presentan susceptibilidad tanto al extracto de yacón como a *S. salivarius* K12. Posteriormente, en cultivos mixtos y tras 72 horas de incubación, el tratamiento sinbiótico produjo una reducción significativa de la biomasa del biofilm entre un 20 % y un 39,4 %, frente a los cultivos control. Dichos resultados, confirman la capacidad inhibitoria del sinbiótico sobre la biopelícula polimicrobiana, sugiriendo su potencial aplicación en formulaciones odontológicas preventivas dirigidas al control de infecciones por *C. albicans*.

Los estudios revisados proporcionan una visión sobre la actividad antimicrobiana de *S. sonchifolius*, evidenciando un efecto sobre las bacterias Gram-positivas, especialmente *Staphylococcus aureus*, este efecto se relaciona principalmente por la presencia de lactonas sesquiterpénicas. Adicionalmente, la actividad en la reducción de las biopelículas polimicrobianas en boca evidencia que no solo las lactonas sesquiterpénicas poseen interés biotecnológico por su actividad antibacteriana, sino también las interacciones sinérgicas de los compuestos (FOS) que favorecen la actividad simbiótica con especies de

microorganismos que controlan el crecimiento de otros microorganismos de importancia médica como *Candida albicans*.

3.1.6 Datos mundiales de producción agrícola de *S. sonchifolius* y perspectivas de mercado

La demanda global de *S. sonchifolius* ha experimentado un aumento significativo, impulsado por sus componentes funcionales, particularmente los FOS, altamente valorados por sus propiedades prebióticas, este fenómeno ha conllevado una rápida expansión de las áreas de cultivo y un aumento en el número de productores involucrados en la producción de yacón durante la última década (Wagner et al., 2019). La distribución geográfica del cultivo se ha extendido más allá de su región andina nativa hacia países como Japón, la República Checa, Alemania, Nueva Zelanda y Corea, esta expansión se atribuye a su adaptabilidad a diversas condiciones climáticas y a la creciente demanda de alimentos funcionales (FAO & OMS, 2012). Conforme a lo anterior, lo que se ha podido observar en relación con su dinámica de mercado, es que en los últimos años el mercado global del *S. sonchifolius* está experimentando un crecimiento significativo, proyectándose un aumento del valor de este a una tasa compuesta anual (CAGR) del 8% entre 2024 al 2032. En el 2024, el mercado del fruto de yacón fue valorado en USD 60 millones, con una proyección de alcanzar USD 111 millones para 2032 (Future Data Stats, 2024).

S. sonchifolius ofrece una oportunidad económica promisoría para pequeños agricultores y productores familiares, particularmente en regiones en desarrollo, por ejemplo, en Brasil el policultivo de yacón con café ha demostrado incrementar la productividad y el ingreso bruto de los agricultores, evidenciando su potencial como un cultivo de diversificación (Teixeira et al., 2020). Para el caso del mercado colombiano, se ve obstaculizado por la limitada conciencia del consumidor y la falta de control de calidad en el procesamiento de este (Calderón Díaz et al., 2017; Yan et al., 2019). Para abrir un nuevo panorama en relación con su potencial, es crucial invertir en investigación, desarrollo e innovación, optimizar el procesamiento, fomentar la colaboración entre productores y realizar estudios de mercado (Calderón Díaz et al., 2017). Adicionalmente, este cultivo en sistemas agroforestales ofrece beneficios ambientales y económicos, siendo un cultivo altamente beneficioso en contextos más sostenibles y amigables con el medio ambiente, abriéndose

como alternativa en otros contextos productivos (Muñoz-Rodríguez et al., 2020). Al abordar estos desafíos, Colombia puede consolidar a *S. sonchifolius* como un producto competitivo a nivel nacional e internacional.

El mercado de productos derivados del yacón, como jarabes, harinas y extractos, ha crecido significativamente en los últimos años debido a la creciente demanda de alternativas naturales y saludables en el mercado global (MarkWide Research, 2025). Uno de los factores que ha impulsado el desarrollo del mercado de los jarabes es la creciente conciencia de la sociedad sobre los riesgos del azúcar sobre la salud, lo que ha llevado a una mayor adopción de edulcorantes naturales como el jarabe de *S. sonchifolius* de manera alternativa, este producto se utiliza ampliamente en la industria alimentaria, especialmente en productos como barras energéticas, batidos y postres bajos en azúcar, también, tiene aplicaciones emergentes en cosméticos y farmacéuticos por sus propiedades hidratantes y prebióticas (Verified Market Reports, 2025).

El creciente interés global en *S. sonchifolius* se refleja en diversas patentes que exploran sus beneficios para la salud y sus múltiples aplicaciones, especialmente debido a su riqueza en fructooligosacáridos (FOS) como se ha mencionado anteriormente, pero otros compuestos bioactivos con propiedades prebióticas, antidiabéticas y antioxidantes han llamado la atención de diferentes sectores de la industria, estas patentes abarcan desde métodos innovadores para la obtención de jugo de yacón concentrado, que superan problemas de estabilidad y coloración mediante el reciclaje de jugo y la optimización enzimática (Wang et al., 2015). Otro ejemplo, es la creación de harinas funcionales que combinan el yacón con otros ingredientes para promover la salud digestiva (罗丹舟, 2015).

Este panorama de innovación ha venido en crecimiento con productos no solo en la industria nutraceútica sino también en contextos de industria farmacéutica y dermocosmética.

En los últimos años, la tendencia de incluir en los productos cosméticos las propiedades de diferentes especies botánicas ha ido en aumento, en consecuencia, existe evidencia del uso de sus hojas de yacón en aplicaciones cosméticas. Se han desarrollado patentes

de productos capilares incorporando polvo de hojas de yacón en sus formulaciones, buscando aprovechar sus propiedades antioxidantes y prebióticas de los extractos acuosos de la hojas (Seiberg Consulting LLC, 2020). Estas propiedades son de sumo interés, pues dicha actividad antioxidante ayuda a combatir el estrés oxidativo (X.-Y. Yuan et al., 2022), que es un factor clave en el envejecimiento de la piel y el cabello generando efectos en la reducción de las manchas, la producción de canas y mejoría en la hidratación de la piel (Papaemmanouil et al., 2022).

Reportes realizados por Amurrio et al. (2023) muestra que existe una tendencia en aumento en el reporte de patentes, teniendo en cuenta que la búsqueda realizada mostraba resultados con ecuaciones de búsqueda que incluían la palabra yacón. Dicha búsqueda, mostró 6704 patentes reportadas a nivel mundial, el análisis de los datos mostró una concentración de reportes de patentes proveniente de Rusia y en aumento desde el 2010 hasta 2023. Los casos más obvios, es decir casos en que el producto, como por ejemplo las bebidas alcohólicas que cambiaban entre sí solo por el sabor, fueron eliminadas reduciendo el número de patentes a 3141. Los resultados indicaron que una parte importante de las patentes (82.3%) pertenecían a 4 países: Japón, Rusia, Corea y China. La mayoría de las aplicaciones están relacionadas con alimentos (59%) bebidas alcohólicas y procesos industriales, lo que refleja el alto potencial comercial de este producto agrícola. Sin embargo, muchas patentes presentan barreras éticas al apropiarse del conocimiento tradicional sin retribución adecuada a las comunidades originarias, según Keene et al. (2023) este tipo apropiación del conocimiento funciona como microagresiones, lo que contribuye a generar sentimientos de alienación y devaluación entre las comunidades, lo que afianza aún más las desigualdades sociales.

No obstante, es crucial abordar las barreras éticas asociadas a las patentes internacionales y fomentar la investigación local para consolidar su potencial económico en regiones productoras tradicionales como Colombia. Dentro de la región de Cundinamarca, el yacón no cuenta con reportes precisos de áreas de siembra, ni tasas de producción, incluso se considera como un producto hortícola de autoconsumo (Calderón Díaz et al., 2017). Se tiene registros de que este cultivo se concentra principalmente en la ecorregión del Eje Cafetero, que es conocida por sus condiciones ideales para este, pero también se ha registrado en algunas zonas de Boyacá (Polanco Puerta & García, 2013). En Colombia, el desarrollo de productos derivados del yacón ha comenzado a consolidarse a través de

empresamientos (Tabla 3-1) que promueven su aprovechamiento y su valorización como alimento funcional.

Tabla 3-1. Empresamientos y empresas que desarrollan productos derivados del yacón (*S. sonchifolius*) en Colombia

| Empresamiento | Producto derivado de yacón | Ubicación / detalles | Enlace |
|---------------------------------|--|--|---|
| Reserva El Retoño | Producción y transformación orgánica de yacón (syrup, procesados) | Silvania, Cundinamarca finca agroforestal |  |
| Bioyacón S.A.S. | Endulzante de yacón, sirope, chips deshidratados, caramelos | Marinilla, Antioquia |  |
| 5ta SaRoCo | Sirope de yacón, Hojas de yacón | Silvania, Cundinamarca |  |
| Smart snacks | Sirope de yacón, chips deshidratados | Duitama, Boyacá |  |
| EcoOrgánicos de Colombia | Miel de yacón (jarabe concentrado) | Bogotá |  |
| Yacón Superfood | Sirope de yacón, jarabe de hojas de yacón, caramelos, yacón en almíbar, jalea de yacón, néctares endulzados con yacón, aperitivo a base de yacón | Funza, cundinamarca |  |

3.1.7 Políticas o programas que fomentan la cadena productiva de *S. sonchifolius* a nivel nacional y regional

El análisis documental realizado a través de fuentes académicas e institucionales permitió identificar diferencias importantes en el grado de avance normativo y político sobre *S. sonchifolius* (yacón) en los países andinos.

En el caso de Perú, se evidenció un marco institucional robusto para el desarrollo del yacón como cultivo de interés nacional. El Ministerio de Agricultura, junto con PROMPERÚ y el INACAL, ha promovido diversas Normas Técnicas Peruanas (NTP) aplicables a productos frescos y procesados del yacón, tales como jarabes, harinas funcionales y extractos. Estas normas establecen criterios de calidad, inocuidad, composición y buenas prácticas agrícolas y de manufactura, orientadas a facilitar la estandarización y exportación (Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias – INDECOPI, 2011).

Asimismo, Perú ha incorporado el yacón dentro del marco del Codex Alimentarius mediante la Norma Regional para Yacón (CXS 324R-2017), enmendada en 2023, que establece criterios mínimos de calidad, clasificación, tolerancias, etiquetado, envasado e inocuidad para la comercialización de raíces frescas en mercados internacionales. Esta regulación permite asegurar trazabilidad, estandarización técnica y parámetros de exportación para variedades cultivadas a partir de *S. sonchifolius* destinadas al consumo humano (Codex Alimentarius Commission, 2017/2023).

En contraste, Colombia no cuenta con una regulación específica ni normas técnicas aplicables al yacón, lo que limita seriamente su inserción en mercados especializados. Según un informe de la Universidad ECCI (2019), la falta de certificaciones sanitarias, normativas de cultivo, procesamiento y regulación de la comercialización ha restringido su desarrollo agroindustrial. El documento plantea como alternativa el diseño de políticas públicas diferenciadas que promuevan el cultivo y transformación del yacón como producto funcional.

En los casos de Bolivia y Ecuador, el cultivo es reducido, se destina mayormente al autoconsumo, y no se identificaron normativas específicas que regulen su transformación

ni comercialización. Sin embargo, algunos reportes técnicos señalan el interés creciente de agricultores por vincular el cultivo con mercados locales de alimentos funcionales, aunque sin respaldo legal ni normativo que lo sustente (Muñoz Jáuregui, 2010).

En conjunto, los documentos revisados permiten evidenciar avances significativos en algunos países como Perú, mientras que en otros contextos persisten limitaciones institucionales, regulatorias y técnicas. Se concluye que, para que *S. sonchifolius* sea aprovechado plenamente como cultivo funcional y terapéutico, se requiere una mayor articulación de esfuerzos normativos, inversión en infraestructura agroindustrial, certificaciones sanitarias y construcción de políticas públicas incluyentes que aborden su potencial económico y nutricional.

3.2 Métodos de propagación *in vitro* para *S. sonchifolius*

La propagación *in vitro* de *S. sonchifolius* ha sido objeto de diversos estudios orientados al desarrollo de protocolos eficientes para la multiplicación masiva, regeneración de plantas completas y conservación de germoplasma. Estos esfuerzos responden a la necesidad de superar las limitaciones de los métodos tradicionales de propagación, como el uso de rizomas, que presentan baja eficiencia debido al riesgo de transmisión de enfermedades, según Valderrama et al. (2005) citado por Cabrera et al. (2019), la propagación mediante esquejes del tallo es una alternativa de propagación, pero, puede incrementar la tasa de multiplicación de plantas en aproximadamente 40 %. Por otra parte, el uso de nudos individuales permite alcanzar 70–98 % de enraizamiento y mejorar la tasa de multiplicación hasta en 165 % respecto al uso de porciones de cepa (rizoma). Sin embargo, estos sistemas aún presentan limitaciones operativas, debido a que el desarrollo radicular y la regeneración completa de plantas requieren periodos prolongados, lo que desacelera los ciclos de propagación.

Corrêa et al. (2009) establecieron un protocolo eficaz de regeneración a partir de embriogénesis somática utilizando segmentos peciolares, para lo cual se desinfectaron hojas maduras sumergiéndolas en una solución comercial de hipoclorito de sodio al 20%

(v/v) (NaClO al 0,4%) durante 10 minutos, posteriormente, fueron lavadas con agua destilada estéril en condiciones asépticas antes de extirpar los segmentos del pecíolo de 5mm. El cultivo se estableció en medio basal MS (Murashige y Skoog), en el que se evaluó el efecto de distintas combinaciones de reguladores de crecimiento mezclando benciladenina (BA), kinetina (KIN) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) sobre la inducción embriogénica, mientras que la fase de conversión se realizó en un medio $\frac{1}{2}$ MS suplementado con 20 g L^{-1} de sacarosa y 2 g L^{-1} de agar. Posteriormente, la transferencia de embriones para su conversión fue en un medio $\frac{1}{2}$ MS suplementado con carbón activado (2 g L^{-1}). Adicionalmente, también se evaluó el efecto de la luz en la formación de callo, en donde se encontró que los explantes cultivados bajo condiciones contrastantes de luz (16/8) y oscuridad.

En relación con los tratamientos hormonales, la combinación más eficiente para la producción de embriones somáticos en *S. sonchifolius* fue $0,45 \mu\text{M}$ de BA y $4,5 \mu\text{M}$ de 2,4-D, mostrando la mayor respuesta embriogénica cuando los explantes fueron cultivados bajo condiciones de luz, lo que confirma el papel crítico de la iluminación en la diferenciación celular. Si bien, la auxina 2,4-D por sí sola fue capaz de inducir la formación de callos embriogénicos, la presencia simultánea de una citoquinina (BA o Kinetina) resultó indispensable para la maduración y desarrollo adecuado de los embriones, ya que los embriones inducidos únicamente con 2,4-D frecuentemente no lograron germinar. Los embriones generados bajo la combinación óptima de $0,45 \mu\text{M}$ BA + $4,5 \mu\text{M}$ 2,4-D alcanzaron el mayor porcentaje de conversión a plántulas (52%), cuando fueron transferidos a un medio de conversión $\frac{1}{2}$ MS libre de hormonas y enriquecido con carbón activado, lo que evidencia la importancia del equilibrio hormonal específico en la regeneración eficiente del cultivo.

Desde la perspectiva de conservación, Skalova et al. (2012) desarrollaron un protocolo de almacenamiento *in vitro* bajo condiciones de crecimiento lento, mediante la reducción de temperatura ($18 \text{ }^\circ\text{C}$) y la incorporación de manitol y sorbitol al medio de cultivo. Para ello, se analizó diferentes concentraciones de manitol, sorbitol, 6-bencilaminopurina (BAP) y diferentes niveles de nutrientes en el medio de cultivo. Para los experimentos se utilizó la raza autóctona de yacón «NZL I», mantenida en el Instituto de Trópicos y Subtrópicos del CULS de Praga, los parámetros que se registraron para evaluar las condiciones más eficientes fueron, altura de plántula, número de nudos, raíces y longitud radical durante 60 días. Se observó que concentraciones elevadas de manitol y sorbitol disminuyeron el

crecimiento y supervivencia, alcanzando valores mínimos del 70% y 50% respectivamente; mientras que el medio ½ MS mantuvo crecimiento reducido y mayor número de raíces (6,11 por planta), condición favorable para almacenamiento.

Por el contrario, la suplementación con 5 mg L⁻¹ de BAP indujo un crecimiento acelerado (3,98 cm de altura y 5,33 nudos), lo que resultó indeseable para la conservación y limitó la estabilidad a solo 40 días, pese a mantener una supervivencia del 100%. Las condiciones más eficientes para almacenamiento a mediano plazo correspondieron al uso de medio ½ MS y 10–20 g L⁻¹ de manitol o sorbitol, asegurando alta supervivencia, baja elongación y estabilidad morfológica sin alteraciones visibles. Estos resultados consolidan la conservación bajo crecimiento lento como una herramienta sólida para bancos de germoplasma y como complemento estratégico para programas de micropropagación comercial. En conclusión, esta investigación proporciona un método práctico y rentable para conservar el germoplasma de *S. sonchifolius*, que es esencial para mantener la biodiversidad, apoyar el cultivo comercial y garantizar la disponibilidad de un cultivo con valiosas aplicaciones industriales en los sectores.

En términos de multiplicación vegetativa por micropropagación, Kiszczak et al. (2022) reportaron un sistema exitoso estandarizando las etapas de la desinfección, selección de explantes y uso de reguladores de crecimiento. El método de desinfección más eficaz consistió en la inmersión de los explantes en una solución de etanol al 70% con de Tween 20 ® a una concentración de 0,5% (v/v) durante 2 minutos, seguido de diez lavados con agua estéril, logrando hasta 65,2% de explantes limpios en meristemas y 95% en hojas, superando significativamente otras estrategias más drásticas como el uso de cloruro de mercurio (II)(HgCl₂) al 0,1%, que provocó hasta 50% de mortalidad tisular.

Si bien, varios explantes demostraron capacidad de proliferación, las puntas de los brotes (meristemas apicales) y las yemas laterales se consideraron óptimas para la inducción inicial del cultivo. Los fragmentos nodales e internodales de los brotes demostraron ser eficaces para generar un gran número de nuevos brotes y plantas completas, pero las puntas de brote obtuvieron la tasa de regeneración más alta de 5,5 yemas por explante inicial, lo que representa un alto potencial de regeneración clonal al generar múltiples

brotos que posteriormente pueden ser enraizados y convertidos en plántulas completas. La combinación que mostró mejor respuesta fue, utilizando yemas apicales y axilares cultivadas en medio MS suplementado con 1 mg L⁻¹ de thidiazuron (TDZ) y 1 mg L⁻¹ ácido naftalenoacético (ANA). Esta combinación hormonal promovió una regeneración intensa de brotes, y las plantas regeneradas mostraron alta tasa de enraizamiento cuando se trasladaron a medios MS con ½ o ¼ de concentración de macronutrientes.

Hamada et al. (1990) desarrollaron un protocolo de propagación *in vitro* bajo la sinonimia *Polymnia sonchifolia*, actualmente reconocida como *Smallanthus sonchifolius*, razón por la cual el estudio se incluye como antecedente metodológico, aunque fue excluido formalmente del análisis PRISMA por criterios taxonómicos. Pero, su aporte es relevante ya que describe un sistema de propagación masiva a partir de nodos que supera ampliamente la reproducción tradicional por división de raíces tuberosas (≈18 plantas/año). Dando soporte con cifras el planteamiento de que la propagación clonal tradicional representa una alternativa menos eficiente comparativamente. En su metodología, las puntas del tallo (Tejido meristemático) se cultivaron en medio MS suplementado con 0,1 mg L⁻¹ de BAP (6-Bencilaminopurina) para promover la elongación inicial y, posteriormente, los tallos se dividieron repetidamente en nudos individuales cada 4–5 semanas, obteniendo un promedio de 3,1 nudos por ciclo. El enraizamiento se logró en dos semanas, incluso sin hormonas, aunque 0,1 mg L⁻¹ de IBA (Ácido Indolbutírico) permitió un éxito del 100% sin formación de callo. Este sistema permitió generar entre 26.440 y 81.963 plántulas/año a partir de una sola punta de brote, consolidando el cultivo repetido de nodos como el método más eficiente reportado para la propagación clonal del yacón (*Polymnia sonchifolia*).

Niwa et al. (2002), desarrollaron un protocolo de regeneración de plantas completas de *S. sonchifolius* mediante embriogénesis somática a partir de explantes foliares, cultivados en medio MS suplementado con 0,1 mg·L⁻¹ de 2,4-D (2,4-ácido diclorofenoxiacético) y 0,1 mg·L⁻¹ de BAP permitieron una inducción eficiente de callos y generando masas callogénicas suaves de color verde-amarillento en prácticamente la totalidad de los explantes. Posteriormente, la conversión de los embriones se desarrolló en medio HaR (Medio basal Heller) suplementado con 1,0 mg·L⁻¹ de BAP y 0,1 mg·L⁻¹ de GA₃ (ácido giberélico) que indujo con éxito la regeneración de brotes, manteniéndose la capacidad regenerativa hasta el décimo subcultivo mediante reposiciones mensuales.

Los brotes obtenidos se enraizaron adecuadamente en medio $\frac{1}{2}$ MS suplementado con $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NAA y fueron aclimatados con éxito, aunque algunas plantas presentaron transitoriamente hojas anormales y entrenudos cortos, normalizándose tras el trasplante al campo. Sin embargo, el análisis AFLP (en español: Polimorfismo de Longitud de Fragmentos Amplificados) reveló la presencia de variación somaclonal, ya que 12 de 13 plantas regeneradas mostraron perfiles moleculares distintos respecto a la planta madre, correspondiendo al 1,9% de los fragmentos amplificados. Estos resultados demuestran que, aunque el cultivo de tejidos basado en embriogénesis somática es altamente efectivo para la propagación *in vitro* de *S. sonchifolius*, la evaluación genética posterior es esencial cuando se requiere homogeneidad clonal, especialmente para programas de mejoramiento y bancos de germoplasma. Adicionalmente, el tiempo de regeneración en este método se reporta que la formación de callos se observó a las tres semanas del inicio del cultivo, y la regeneración de los brotes se hizo visible después de aproximadamente nueve semanas con los medios de regeneración anteriormente mencionados.

Por último, otro aporte relevante dentro de los estudios de cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius* corresponde a la evaluación de la variación somaclonal en plantas regeneradas mediante embriogénesis somática realizada por Viehmannova et al. (2014). En esta investigación se utilizaron segmentos peciolares provenientes de un clon octoploide de *S. sonchifolius* ($2n = 8x = 58$), cultivados en medio MS suplementado con combinaciones de 2,4-D y citoquininas, induciendo la formación de callos proembriogénicos hacia la tercera semana de cultivo y permitiendo la regeneración de plántulas completas al transferir los embriones a un medio libre de reguladores. Aunque el objetivo central del estudio no fue la optimización de la micropropagación, sino la evaluación genética de los embriones regenerados, su aporte resulta significativo dentro del contexto del cultivo *in vitro* ya que confirma la estabilidad genética y citológica del material regenerado. Mediante análisis ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) se detectó un polimorfismo medio del 7,19% en seis de sesenta plantas regeneradas, mientras que la citometría de flujo mostró estabilidad del nivel de ploidía (1,708–1,722), sin alteraciones nucleares relevantes. Estos resultados sugieren que la embriogénesis somática constituye una alternativa viable para la regeneración *in vitro* del yacón, con riesgos controlados de variación somaclonal,

especialmente valiosa para bancos de germoplasma y programas de mejoramiento genético.

Es importante mencionar que, al no encontrar más información indexada, se presentan tesis y documentos técnicos identificados como literatura gris que, si bien no fueron incluidos en el análisis PRISMA por no cumplir con los criterios de definidos por el método, resultan relevantes para comprender el estado del arte del cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*. La tesis de Saire (2012) evaluó los efectos del ácido indolacético (AIA) y la bencilaminopurina (BAP) en la propagación *in vitro* a partir de yemas apicales y axilares, con el objetivo de establecer un protocolo eficiente de multiplicación. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado de arreglo bifactorial con tres concentraciones de BAP (0,5; 1,0 y 2,0 mg L⁻¹) y tres de AIA (0,5; 1,0 y 2,0 mg L⁻¹), más un control reguladores de crecimiento, evaluando variables como enraizamiento, número y longitud de brotes y desarrollo radicular. El material seleccionado para el cultivo *in vivo* para la obtención de explantes fue recolectado y aclimatado en suelo franco arenoso, una vez las plantas alcanzaran una altura de 20–30 cm se usaban para extraer esquejes de 15 cm destinados a la introducción *in vitro*. Posteriormente para el método de desinfección superficial de los explantes, los esquejes fueron lavados en agua corriente y desinfectados con etanol al 70% y NaClO al 3% antes de su siembra en medio MS. La combinación 0,5 mg L⁻¹ de BAP + 0,5 mg L⁻¹ de AIA obtuvo los mejores resultados (88,28% de enraizamiento, 5,27 brotes por explante y raíces de 79,52 mm), mientras que concentraciones altas (2 mg L⁻¹) indujeron formación de callo. El proceso registró contaminación fúngica del 18,9%, principalmente por *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Es importante aclarar que esta investigación no excluyó la aclimatación de las plántulas obtenidas al final del proceso.

En la tesis de Cano (2016) se estableció un protocolo eficiente de propagación clonal *in vitro* de *S. sonchifolius*, con el objetivo adicional de evaluar el contenido de inulina en distintos órganos vegetales. Para el establecimiento *in vitro*, el protocolo inició con la desinfección y aislamiento de yemas y meristemos apicales, cultivados en medio MS suplementado con reguladores de crecimiento. Para la obtención de explantes, se recolectaron segmentos de tallo con tres o más entrenudos, los cuales se lavaron con jabón neutro y cepillado superficial. Posteriormente, se realizó un protocolo de desinfección en varias etapas: inmersión en Benomyl (1 g L⁻¹, 15 min), seguido por tratamiento con nitrato de plata (0,5 g L⁻¹, 1 min). Los meristemos apicales y laterales seleccionados como explantes fueron finalmente esterilizados con hipoclorito de sodio al 1% (v/v) por 15

minutos con agitación continua, realizando luego tres lavados con agua destilada estéril antes de su siembra. Durante el establecimiento en medio de cultivo, se eliminó tejido oxidado y se ajustó el tamaño de los meristemas a aproximadamente 3 mm para asegurar un crecimiento adecuado.

Para la multiplicación de brotes encontró que mediante la incorporación de 5 mg L⁻¹ de BAP, obteniendo 3,1 brotes por explante en 30 días, lo que representa una siendo el tratamiento más eficiente. Adicionalmente, otro resultado relevante del estudio fue la inducción de microrrizomas *in vitro*, alcanzada con 2 mg L⁻¹ de BAP y 6% (p/v) de sacarosa, obteniendo 2,4 microrrizomas en 60 días en oscuridad completa, lo que representa una alternativa a los largos tiempos requeridos para la producción de tubérculos en campo (≈ 7 meses). Además, la autora demostró la presencia de inulina en tejidos *in vitro*, especialmente en hojas en una concentración de 3,99 mg g⁻¹ y en microrrizomas (0,84 mg g⁻¹), mientras que en plantas madre sólo se detectó en los tubérculos (4,70 mg/g).

En la tesis desarrollada por Valero (2017) se estableció un protocolo de propagación para *S. sonchifolius en condiciones in vitro* y la evaluación de un perfil fitoquímico, para esto evaluó el efecto de dos reguladores de crecimiento, BAP (6-Bencilaminopurina) y AIA (Ácido Indolacético) en la multiplicación y análisis fitoquímico. El tratamiento de desinfección que se usó incluía 4 soluciones desinfectantes como agua destilada con 2 mL de Tween 20®, Isodine® al 3,5%, hipoclorito de sodio al 1,5% y etanol al 70%, permitiendo un establecimiento adecuado de los explantes con baja contaminación. Para la fase de multiplicación, los explantes se cultivaron en medio MS suplementado con reguladores del crecimiento, encontrando que la combinación 2,5 mg L⁻¹ de BAP + 0,5 mg L⁻¹ de AIA promovieron el mayor crecimiento longitudinal (número de entrenudos), mientras que la combinación 5,0 mg L⁻¹ de BAP + 1,0 mg L⁻¹ de AIA favoreció la formación de brotes. Sin embargo, el enraizamiento sólo ocurrió en el tratamiento control (sin reguladores), obteniéndose raíces primarias y secundarias, mientras que los demás tratamientos indujeron formación de callos friables. El análisis fitoquímico mediante cromatografía en capa fina (TLC) reveló la presencia de flavonoides, terpenoides, antraquinonas, esteroides y fructooligosacáridos (incluida la inulina) tanto en plantas *in vitro* como en campo, con

mayor abundancia de flavonoides en hojas y de terpenoides en tubérculos *in vitro*. No se detectaron alcaloides ni cumarinas.

Cabrera et al (2019) desarrollaron un protocolo estructurado en cinco fases para la micropropagación de *S. sonchifolius*. En la Fase 0, las plantas madre se acondicionan en macetas con sustrato Premix N°8 y se aplica un fungicida sistémico (Benomyl) una semana antes de la obtención de explantes. En la Fase 1, se extraen tanto yemas apicales como axilares y se someten a un tratamiento de desinfección que incluye lavado con agua y jabón, inmersión en alcohol al 70 % durante 1 min y posterior tratamiento en hipoclorito de sodio al 1 % con dos gotas de Tween 20 durante 15 min, seguido de tres enjuagues con agua destilada estéril; la disección de meristemas se realiza bajo microscopio estereoscópico para el caso de las yemas apicales viables. Los explantes se cultivan en medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con carbón activado y agar a pH 5,7, incubándose primero en penumbra durante 2 semanas a una temperatura de 21 °C y luego bajo fotoperíodo de 16 h durante dos semanas adicionales. En la Fase 2, los brotes se subcultivan cada 30 días en medio MS con carbón activado para inducir multiplicación, alcanzando una tasa media de 3,1 microesquejes por ciclo. En la Fase 3, el enraizamiento se realiza en medio MS libre de hormonas, utilizando esquejes de al menos 2 cm, logrando raíces funcionales en 30 días. Finalmente, en la Fase 4, las plántulas se lavan para retirar agar y se transfieren a pastillas o discos jiffys prehidratados, sometiéndolas gradualmente a reducción de humedad relativa e incremento de luminosidad en fitotrón a 21 ± 2 °C hasta completar la aclimatación en aproximadamente 3 semanas, momento en el que se trasplantan a vivero para crecimiento hasta 15 cm y posterior establecimiento en campo. En conjunto, estos estudios evidencian avances significativos en el desarrollo de protocolos biotecnológicos para la propagación *in vitro* de *S. sonchifolius*, tanto en su multiplicación como en su conservación. Sin embargo, aún se requieren estudios adicionales que exploren la respuesta de diferentes genotipos, así como la estabilidad genética de las plantas regeneradas.

3.2.1 Metodologías usadas para la aclimatación *ex vitro* de plantas regeneradas *in vitro* de *S. sonchifolius*

La aclimatación *ex vitro* representa una etapa crítica en los protocolos de propagación *in vitro* de *S. sonchifolius*, ya que determina la capacidad de las plántulas *in vitro* para sobrevivir y desarrollarse fuera de las condiciones controladas del laboratorio. En esta fase, las plantas deben ajustar sus mecanismos fisiológicos y morfológicos para adaptarse a un ambiente con fluctuaciones de luz, temperatura y humedad relativa.

El estudio de Corrêa et al. (2009) reportó una tasa de supervivencia del 100% en plantas regeneradas mediante embriogénesis somática. Las plántulas que fueron cultivadas previamente en un medio MS reducido, con carbón activado, tuvieron un desarrollo radicular robusto. Las plántulas que presentaran raíces bien conformadas fueron extraídas del medio y lavadas para eliminar residuos del agar. Posteriormente, se transfirieron a un sustrato compuesto por tierra y vermiculita (2:1) dentro de bolsas plásticas transparentes, colocadas en una cámara de crecimiento a 26 ± 2 °C, con fotoperiodo de 16/8 h, durante 7 días. La humedad relativa se redujo gradualmente mediante la remoción progresiva de la cubierta plástica durante 5 días adicionales en invernadero, con el fin de favorecer la adaptación estomática. Al finalizar el periodo de aclimatación, las plantas se trasladaron a invernadero, registrándose una supervivencia del 100%, sin anomalías morfológicas visibles. Este éxito se atribuyó al desarrollo radicular vigoroso previo, obtenido en medio MS reducido con carbón activado, el cual favoreció la formación de raíces funcionales y sin formación de callos, condición determinante para el establecimiento *ex vitro*.

Como se mencionó anteriormente, Cabrera et al. (2019) usan los discos jiffys en el proceso de aclimatación de las plántulas obtenidas en el proceso de micropropagación *in vitro*. Este sustrato, son comprimidos y deshidratados que, al hidratarse, se expanden para ofrecer un medio aireado y uniforme, están hechos de turba de *sphagnum* o fibra de coco certificada RHP, esterilizados térmicamente para reducir patógenos, y permiten un desarrollo radicular óptimo y un trasplante directo sin dañar las raíces (Jiffy Products International B.V., s. f.).

Para el caso de Kiszczak et al. (2022) quienes desarrollaron un protocolo de micropropagación logrando una supervivencia del 95%, llevaron a cabo el proceso de aclimatación en invernadero con temperatura constante de 24 ± 2 °C y luz difusa. Se utilizó una mezcla de sustrato peat moss y vermiculita en proporción 1:1, sin necesidad de cámaras especializadas para aclimatación.

Hamada et al. (1990) indican que las plántulas enraizadas se transfirieron a bandejas de plástico llenas de tierra porosa específicamente, tierra de Kanuma. La tierra de Kanuma es un sustrato granulado de origen japonés, conocido por su alta capacidad de retención de agua y su pH ácido, ideal para plantas acidófilas como azaleas y camelias, es ligero, poroso y semiduro, lo que permite una excelente aireación de las raíces y un crecimiento saludable de las plantas, es inerte, lo que significa que no aporta nutrientes a las plantas y debe abonarse regularmente para un crecimiento vigoroso (Sánchez, 2025). Luego, estas bandejas se cubrieron con plástico para mantener la humedad. Las plántulas se mantuvieron bajo iluminación continua con luces fluorescentes a 20 °C y una intensidad de $52 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}$ y se fueron descubriendo gradualmente para promover el vigor estomático.

En el trabajo de Valero (2017) menciona que en la fase de endurecimiento (aclimatación) de las plántulas de *S. sonchifolius*, se utilizó el sustrato BM2®. Después de aproximadamente siete semanas de crecimiento estas se transfirieron de recipientes de vidrio al sustrato dentro de recipientes de plástico durante dos semanas para ser luego ser llevadas a campo. El sustrato BM2® es una mezcla de turba, perlita y vermiculita que facilita una germinación uniforme gracias a su adecuada relación aire-agua, alta retención de humedad y bajo nivel inicial de fertilización que permite un control preciso del crecimiento (Berger, 2025).

Los estudios coinciden en que un sistema radicular bien establecido, a pesar de que no hay descripciones detalladas en los trabajos anteriormente mencionados, todos coinciden en una mayor longitud y presencia de raíces adventicias. Estudios de la morfo anatomía de *S. sonchifolius* mencionan que poseen una red de raíces adventicias que optimiza la absorción de nutrientes, pero también una serie de raíces tuberosas que son las que acumulan los carbohidratos anteriormente mencionados (Machado et al., 2004). Por lo que

se puede deducir que, un sistema radicular que podrá exponerse a la aclimatación debe mostrar las características descritas para el cultivo, relacionadas con una naturaleza adventicia creciendo de un tronco desarrollado y ramificado formado por rizomas cortos y gruesos simpódicos, que le permitirán las dos funciones, de almacenamiento y de propagación. Antes de la aclimatación, así como el uso de sustratos con buena retención de humedad y estructura aireada, son claves para el éxito. Además, la transición gradual al ambiente *ex vitro* y la ausencia de estrés hídrico severo favorecen una adaptación eficaz. Por lo que se puede deducir que, las metodologías más eficaces de aclimatación *ex vitro* para *S. sonchifolius* combinan un manejo adecuado del medio previo a la salida del laboratorio, selección de sustrato balanceado y control ambiental progresivo. Estas estrategias permiten altas tasas de supervivencia, reduciendo pérdidas y mejorando la viabilidad de programas de propagación a mayor escala.

3.2.2 Factores afectan la variabilidad genética en plantas propagadas *in vitro* de *S. sonchifolius*

El análisis de variabilidad genética en plantas propagadas *in vitro* de *S. sonchifolius* es fundamental para garantizar la estabilidad de los protocolos de micropropagación y su aplicación en programas de mejoramiento. A pesar de la limitada disponibilidad de literatura científica sobre este tema en yacón, se identificó un estudio que aborda directamente la evaluación de somaclonalidad en regenerantes derivados de embriogénesis somática.

Viehmannová et al. (2014) desarrollaron un protocolo de regeneración a partir de segmentos de pecíolo utilizando medios de cultivo suplementados con reguladores de crecimiento (2,4-D y BA o zeatina). El estudio evaluó la variación genética mediante dos metodologías complementarias: análisis con marcadores ISSR y citometría de flujo para el contenido de ADN nuclear. Se emplearon 20 primers ISSR, generando un total de 7848 bandas. De estas, 10 bandas fueron polimórficas, con un nivel de polimorfismo del 7.19%. Se detectaron diferencias genéticas en seis de las 60 plantas analizadas, con distancias

genéticas (índice de Jaccard) que oscilaron entre 0.020 y 0.163 con respecto a la planta control.

El análisis de citometría de flujo indicó que no hubo alteraciones en el nivel de ploidía entre los regenerantes y las plantas madre, lo que sugiere que, aunque puede presentarse variación somaclonal, el nivel de organización cromosómica se mantuvo estable. Estos resultados permiten concluir que la embriogénesis somática, bajo condiciones controladas y monitoreadas molecularmente, puede ser utilizada como herramienta de propagación y mejoramiento genético en *S. sonchifolius*, con riesgo moderado de inestabilidad genómica.

4. Materiales y métodos

4.1 Metodología para la construcción del marco teórico

Debido a los pocos estudios sobre *S. sonchifolius* en contextos científicos, la construcción de este marco teórico requirió un método sistemático y estructurado del análisis de la literatura científica bajo un enfoque sistemático, superando las limitaciones ofrecidas por parte de las revisiones narrativas tradicionales. Si bien son beneficiosas para una síntesis integral del conocimiento, presentan limitaciones significativas: a menudo carecen de criterios transparentes para la inclusión y exclusión de fuentes, no garantizan la reproducibilidad de los hallazgos y pueden introducir sesgos de autor en la selección y organización de la información, dado que se basan principalmente en la experiencia subjetiva del investigador (Grant & Booth, 2009; Snyder, 2019).

En este sentido, se optó por emplear elementos metodológicos propios de las revisiones sistemáticas de la literatura como el establecimiento de criterios de inclusión y exclusión, una estrategia de búsqueda documentada y un proceso estructurado orientado a aumentar la transparencia, trazabilidad y consistencia del análisis. Esta adaptación metodológica permitió abordar las áreas temáticas relevantes para la comprensión integral del cultivo *in vitro*, los procesos de aprovechamiento asociados a *S. sonchifolius*, así como aspectos de la fisiología vegetal, bioquímica, actividad biológica, aplicación industrial y propagación *in vitro* de la especie. Cada bloque temático se estructuró a partir de una pregunta orientadora adaptando el modelo PRISMA 2020 (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) que comprendió los siguientes aspectos:

1. La formulación de estrategias de búsqueda reproducibles en bases de datos académicas (Anexo B).
2. Cribado y selección mediante criterios de elegibilidad (identificación ► cribado ► elegibilidad ► inclusión).

3. La extracción y síntesis de hallazgos relevantes.

El proceso de búsqueda y análisis documental fue realizado manualmente en bases de datos indexadas y recursos electrónicos disponibles a través del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Nacional de Colombia, tales como Scopus, Web of Science, PubMed, ScienceDirect, Springerlink, Google Scholar y Scielo.

De manera complementaria, se integraron herramientas de inteligencia artificial bajo un esquema de "humano en el bucle" (human-in-the-loop). Se empleó ChatGPT (modelos GPT-4-turbo y GPT-5.1, OpenAI, 2024-2025) exclusivamente para la asistencia en la estructuración gramatical, refinamiento de ecuaciones de búsqueda y verificación de coherencia estilística. Adicionalmente, se usaron motores de búsqueda semántica como Perplexity Pro y SciSpace Premium como auxiliares para la localización exploratoria de textos. Es fundamental declarar que estas herramientas no intervinieron en la toma de decisiones metodológicas ni en la evaluación de la calidad de los estudios; no se realizaron inferencias automatizadas y la investigadora supervisó, validó y aprobó cada fuente incluida, mitigando los riesgos de alucinación o sesgo algorítmico conforme a las recomendaciones éticas recientes (Limongi, 2025; Resnik & Hosseini, 2024).

Los resultados consolidan un marco teórico sustentado mayoritariamente en literatura científica revisada por pares. No obstante, dada la baja densidad de producción científica indexada para *S. sonchifolius*, se incluyó "literatura gris" seleccionada bajo estrictos criterios de pertinencia y respaldo institucional. Esto abarcó tesis de posgrado, manuales técnicos de entidades agrarias y normativa especializada. Aunque estas fuentes no poseen indexación en bases de datos principales (tipo Scopus), constituyen evidencia válida y necesaria para comprender el estado del arte agronómico y los protocolos operativos locales, aportando una perspectiva integral del objeto de estudio.

4.2 Establecimiento de un cultivo *in vivo* de plantas madre para la obtención de explantes de *S. sonchifolius*

Para el establecimiento del cultivo de plantas madre de *S. sonchifolius* se seleccionó material vegetal de propagación compuesto por el rizoma (Cepa) proveniente de la finca la Rosita (Orquídeas La Poma) ubicada en las coordenadas 4°51'42.092" N - 74°19'45.103" W en el municipio de Facatativá, departamento de Cundinamarca, Colombia (Figura 4-1, etapa 1).

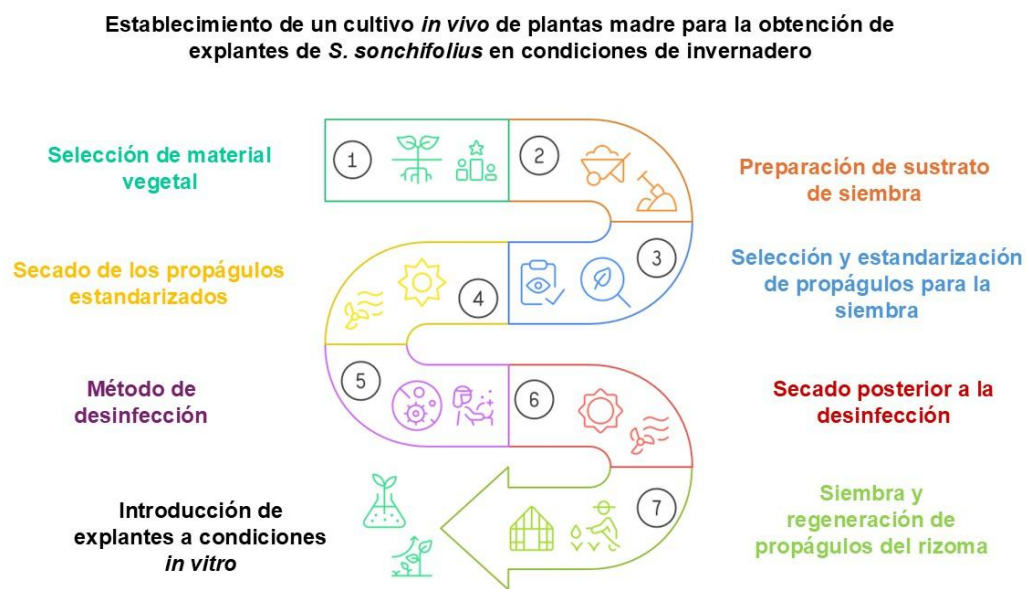


Figura 4-1 Establecimiento de un cultivo *in vivo* de plantas madre para la obtención de explantes de yacón (*S. sonchifolius*) en condiciones de invernadero.

A partir de plantas madre adultas en campo, de entre 8 a 10 meses de edad, que exhibieron un vigoroso crecimiento y alta producción de raíces tuberosas, se realizó la extracción de los rizomas de los cuales se obtuvieron los propágulos para la regeneración. Además, se inspeccionaron cuidadosamente las plantas madre para descartar cualquier signo de

enfermedad o infestación por plagas, asegurando que el material de partida tuviera el mejor estado sanitario posible.

Dicho material fue llevado a las instalaciones del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá (IBUN), para ser fraccionado en secciones y ser sembrado en condiciones de invernadero. Previo a la siembra se elaboró una mezcla de sustrato muy similar a los sustratos BM2 ® o Premix #8 ® teniendo en cuenta la composición (Figura 4-1, etapa 2), para lo cual se preparó una mezcla de perlita fina con una proporción del 18%, vermiculita con una proporción del 7% y de Turba Canadiense sin humectantes con una proporción del 75%. Es importante aclarar, que los sustratos minerales (perlita y vermiculita) se esterilizaron a una temperatura de 160°C durante 2 horas y posteriormente se agregó la turba a la mezcla teniendo en cuenta que mantuviera una densidad aparente de 160.2 g L⁻¹ para ser sembrado los propágulos del rizoma (modificado de Valero, 2017).

Antes de la siembra los propágulos del rizoma se sometieron a un secado previo al sol para reducir la humedad residual del suelo tras su extracción en campo. En el laboratorio, se seleccionaron 200 secciones del rizoma (en adelante propágulos), descartando aquellas con signos de daño fúngico o herbivoría (Figura 4-1, etapa 3). Posteriormente, los propágulos se lavaron con una solución jabonosa de jabón Dersa ® y agua de grifo y se enjuagaron eliminando todos los residuos de jabón con abundante agua a chorro directo, exponiendo el tejido de la epidermis por completo y eliminando todos los residuos de suelo por completo. Los propágulos ya lavados fueron secados al sol en el invernadero durante 24 horas (Figura 4-2; etapa 4), manteniendo la precaución de no exponer excesivamente a la radiación solar y que se cuente con una adecuada ventilación para ser sembradas en el sustrato (Perea, 2009).

Durante este periodo de regeneración de los propágulos del rizoma se realizó un primer ensayo en el que se sembraron 100 propágulos estandarizados, pero dicho ensayo presentó problemas en la obtención de plantas madre, pues solo el 47% sobrevivieron y el resto se pudrieron o fueron consumidas por insectos. Con las plantas que sobrevivieron se hicieron las respectivas introducciones a condiciones in vitro, pero se obtuvo un 98% de contaminación de un total de 150 explantes que se introdujeron. Por lo cual, se consideró aplicar una metodología que permitiera un análisis de las posibles causas.

Teniendo en cuenta esta problemáticas, se elaboró una evaluación para la identificación de los problemas que se generaron, por lo cual, se presentan de manera visual por medio de un diagrama de Ishikawa (o de causa y efecto) (Figura 4.2), siendo este una herramienta que posibilita la visualización y categorización de los factores que podrían estar contribuyendo a las pérdidas de material vegetal en las primeras etapas del proceso de micropropagación (Selección de material vegetal e introducción a condiciones *in vitro*) (Hayes, 2023; Yue & Takács-György, 2023). Este diagrama facilita la identificación de las posibles causas raíz de los problemas, lo que a su vez permitió definir las acciones correctivas pertinentes para prevenir o abordar estos problemas. Es importante aclarar que estas acciones correctivas fueron desarrolladas para toda las unidades experimentales, con el fin de reducir la variación estándar generada por estos agentes medioambientales.

Debido a que parte de los problemas recurrentes eran la aparición de insectos plagas en los propágulos de rizoma y una alta frecuencia de pudrición, se decidió incluir a la preparación de este material un paso adicional antes de la siembra. Para lo cual se limpiaron los rizomas y se seccionaron manteniendo un patrón estándar de peso y número de brotes como lo propone Cabrera et al. 2019 (3 a 4 yemas y pesar entre 50 - 80 gramos aproximadamente), se secaron al sol, luego se quitaron los residuos de suelo y se lavaron con la solución jabonosa para terminar de retirar, con abundante agua, los residuos de suelo (Figura 4-3).

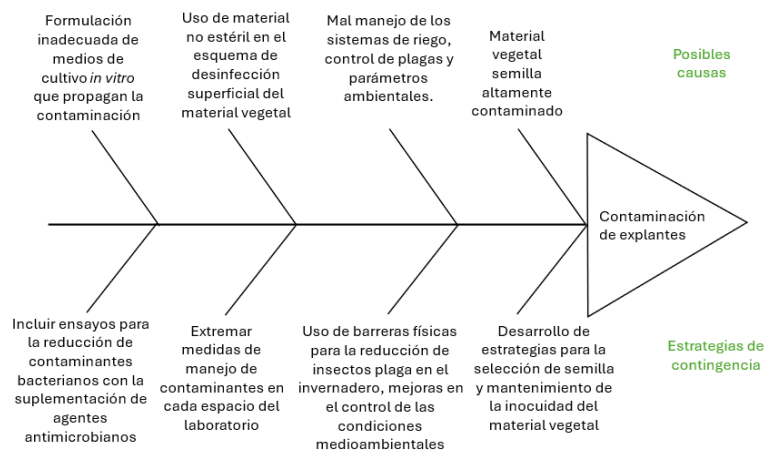


Figura 4-2 Diagrama de causa y efecto (Diagrama de Ishikawa) para las problemáticas asociadas al cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.

Para evaluar esta estrategia se estableció un ensayo en el cual se desarrolló un diseño experimental completamente al azar, con 5 tratamientos, (Tabla 4-1) incluyendo el lavado con jabón como el control negativo del experimento. Para cada tratamiento se dispuso de 40 unidades experimentales, lo que cubre una población de propágulos del rizoma de 200. Durante la etapa de crecimiento, se midió la tasa de regeneración, adicionalmente el número de brotes y el número de explantes posibles que se podían obtener en cada planta regenerada tras un mes (30 días) posterior a la siembra.

Tabla 4-1 Tratamientos usados en la desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo *in vivo* de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero.

| Descripción del tratamiento | Autor | Unidades Experimentales |
|---|---|-------------------------|
| Benomyl al 0,1 % p/v 60 minutos | Modificado de: (Cabrera & Aliaga, 2019) | 40 |
| Benomyl al 0,2 % p/v x 25 minutos | Propuesto | 40 |
| Benomyl al 0,2 % p/v x 60 minutos | Propuesto | 40 |
| Hipoclorito de sodio (NaClO) al 0,5% x 8 minutos | (Parra & Rojas, 2018) | 40 |
| Jabón y Agua | Propuesto | 40 |

Después de la desinfección del material semilla, se secó en bandejas al aire libre durante 24 horas (Figura 4-3). Posteriormente, los propágulos fueron sembrado en el sustrato, durante el proceso de regeneración, se evaluó el porcentaje de regeneración de propágulos tras un mes posterior a la siembra en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de $18^{\circ}\text{C} \pm 6^{\circ}\text{C}$ y humedad ambiental de $40\% \pm 10$ (Figura 4-1, etapa 7). Para asegurar el desarrollo adecuado de la etapa de establecimiento del cultivo *in vivo* y resaltar la importancia de mantener un cultivo de plantas madre saludables, cumpliendo con plantas completamente sanas, se implementaron estrategias de manejo integrado de plagas (IPM, por sus siglas en inglés), las cuales sugieren una evaluación constante de la presencia de plagas para determinar si representan un riesgo significativo para los cultivos (Deguine et al., 2021). Adicionalmente, incluir métodos de mitigación o prevención de estas afectaciones, garantizando un material que cumpla con un estado fitosanitario adecuado,

que se verá reflejado en el desarrollo de la introducción del material vegetal a condiciones *in vitro*.



Figura 4-3 Proceso de preparación de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo *in vivo* de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero, 1. Secado inicial de propágulos; 2. Selección y estandarización de propágulos; 3 Lavado con solución jabonosa; 4. Selección de material sano; 5. Métodos de desinfección de material vegetal; 6. Secado final antes de la siembra en condiciones de invernadero.

Para evaluar el efecto de los tratamientos en cada una de las vías para la regeneración de propágulos del rizoma de *S. sonchifolius*, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía. Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Por último, en caso de que los datos no cumplieran con los supuestos se le aplicará una transformación logarítmica a la variable dependiente del modelo con el fin de reescalar las variables. Las comparaciones *post-hoc* se realizaron mediante la prueba honesta de Tukey (HSD). Todos los análisis se realizaron con el lenguaje de programación R (R Core Team, 2024)

4.3 Desinfección de material vegetal para la introducción de explantes a condiciones *in vitro* de *S. sonchifolius*.

Una vez las plantas madre alcanzaran una estatura entre 15 a 20 cm en un tiempo de crecimiento de máximo un mes bajo condiciones de invernadero con una temperatura promedio de $18^{\circ}\text{C} \pm 6^{\circ}\text{C}$ y humedad ambiental de $40\% \pm 10$, se obtienen los explantes para la desinfección e iniciar con la introducción del material a condiciones *in vitro*. Para minimizar la carga microbiana inicial, se mantuvo el riego directo del sustrato (evitando el follaje) cada 3-4 días y se aplicó el tratamiento preventivo de hipoclorito de sodio al 0.5% previamente descrito.

Se seleccionaron yemas apicales y axilares viables debido a su alta competencia morfogénica (Cano, 2016; Valero, 2017; R. M. Cabrera & Aliaga, 2019; Kiszczak et al., 2022). Para la introducción *in vitro* se evaluaron tres métodos de desinfección bajo un diseño completamente al azar.

4.3.1 Protocolos de desinfección de propágulos de *S. sonchifolius*

Todos los protocolos iniciaron con una fase de lavado general (zona no estéril) consistente en un lavado con una solución de detergente comercial (Dersa® [50g - 60g] L⁻¹) y enjuague con agua corriente, seguido de una inmersión en fungicida Benomyl (Zellus®) (1-(butilcarbamoil) benzimidazol-2-ilcarbamato de metilo - C₁₄H₁₈N₄O₃). Posteriormente, se procedió a la desinfección superficial en cámara de flujo laminar (Figura 4-4).



Figura 4-4 Esquema general de desinfección de explantes de *S. sonchifolius* (yemas apicales y axilares) para la introducción a condiciones *in vitro*. 1. Selección de yemas y lavado con solución jabonosa; 2. Lavado con solución de fungicida sistémico; 3. Lavados con agua de grifo para la eliminación de residuos de fungicida; 4. Inicio de desinfección superficial en cámara de flujo laminar

Este protocolo se adaptó siguiendo los pasos a continuación:

- **Protocolo de Desinfección adaptado de Cabrera y Aliaga (2019):**
 1. **Fase Externa:** Inmersión en Benomyl al 0.1% (P/V) durante 60 minutos, seguido de cuatro enjuagues con agua corriente con agitación manual para la correcta disposición de residuos.
 2. **Fase Estéril (Cabina de flujo):** Inmersión en etanol al 70% durante 1 minuto, para posteriormente tener una siguiente inmersión en hipoclorito de sodio al 1% con 2 gotas de Tween 20® (Polisorbato 20. Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate - $C_{58}H_{114}O_{26}$) durante 15 minutos, y finalmente tres enjuagues con agua destilada estéril y agitación manual.
- **Protocolo de Desinfección adaptado de Araque et al. (2018):**
 1. **Fase Externa:** Inmersión en Benomyl al 0.2% (P/V) durante 30 minutos, y finalmente tres enjuagues con agua corriente (Figura 4-4; paso 1 y 2).

2. **Fase Intermedia (Agitación):** Lavado con agua destilada no estéril con 10 gotas de Tween 20® en agitación constante (155 RPM) durante 5 minutos (Figura 4-5).
3. **Fase Estéril (Cabina de flujo):** Inmersión en Etanol al 70% durante 30 segundos, seguido de un enjuague con NaClO al 2.5% con 5 gotas de Tween 20® durante 20 minutos, y finalmente tres enjuagues con agua destilada estéril y agitación manual (Figura 4-4; paso 4).

- **Protocolo de Desinfección reportado por Araque et al. (2018):**

Al igual que el protocolo de Cabrera y Aliaga (2019) se agregó como paso inicial el lavado con solución jabonosa (Figura 4-4; paso 1) y un lavado con Zellus® (BenomyI) al 0,2% p/v durante 30 minutos (Figura 4-4; paso 2), seguido de tres enjuagues con agua de grifo (Figura 4-4; paso 3).

Este protocolo se adaptó siguiendo los pasos a continuación:

1. Durante cinco minutos en agua destilada estéril más Tween 20® en agitación a 155 RPM (Figura 4-5). En esta parte del protocolo se modificó el uso de agua destilada estéril por agua destilada sin esterilizar y se agregó la agitación constante adicionalmente se usaron 10 gotas de Tween 20® pues los autores no especifican cual es la concentración o cantidad usada.
2. Luego, durante 30 segundos en etanol al 70% se agregó un enjuague adicional con agua destilada.
3. Finalmente se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2.5% más 5 gotas de Tween 20® durante 20 minutos y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril (Figura 4-4; paso 4).



Figura 4-5 Sistema de agitación usado para la desinfección de explantes de *S. sonchifolius*

- **Protocolo Propuesto (Doble Desinfección)** Este protocolo combinó desinfección química y mecánica:
 1. **Fase Externa:** Lavado vigoroso con detergente comercial (Dersa® [50g - 60g] L⁻¹) durante 30 segundos, y posteriormente inmersión en Benomyl al 0.2% (P/V) durante 20 minutos, seguido de tres enjuagues con agua corriente (Figura 4-4; paso 1 y 2).
 2. **Fase Intermedia (Agitación):** Inmersión en NaClO al 1.5% con 5 gotas de Tween 20® en agitación constante (155 RPM) durante 5 minutos, seguido de lavado vigoroso con agua destilada no estéril.
 3. **Fase Estéril (Cabina de flujo):** Inmersión en NaClO al 1% durante 10 minutos, y finalmente tres enjuagues con agua destilada estéril y agitación manual (Figura 4-4; paso 4).

Trazabilidad y Siembra: Se mantuvo la trazabilidad del explante respecto a su planta madre de origen mediante rotulado codificado en todas las etapas. Los explantes que no presentaron necrosis oxidativa inmediata fueron sembrados en el

medio de establecimiento. Para garantizar que se cumplen las buenas prácticas de laboratorio (BPL) en cuanto al manejo de residuos tóxicos y peligrosos, se realizaron los enjuagues en recipientes rotulados con el consecutivo de cada planta para poder disponer los residuos de cada enjuague acorde al tipo de protocolo que fuera seguido.

4.4 Evaluación del efecto de reguladores de crecimiento en la multiplicación *in vitro* de *S. sonchifolius*

4.4.1 Fase de establecimiento del cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*

Para la etapa del establecimiento, se implementó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial de 3×5. Los factores evaluados fueron:

- **Factor A:** Protocolo de desinfección (3 niveles: Adaptado de Cabrera & Aliaga, Adaptado de Araque et al., y Propuesto).
- **Factor B:** Balance hormonal en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) 100 mg L⁻¹ de carbón activado (Cabrera & Aliaga, 2019), para 5 niveles de interacción AIA/KIN (AIA: Ácido Indolacético y KIN: Kinetina).

Esto generó 15 tratamientos experimentales (Tabla 4-2). Se estableció un tamaño de muestra objetivo de 30 unidades experimentales (explantes) por tratamiento, sujeto a la disponibilidad de material vegetal viable.

Tabla 4-2. Sets experimentales resultantes del arreglo factorial 3×5 para la introducción *in vitro* de explantes de *Smallanthus sonchifolius*.

| Factor A: Desinfección | Factor B: Reguladores de crecimiento (MS + CA 100 mg L ⁻¹) | AIA (mg L ⁻¹) | KIN (mg L ⁻¹) | Código del set de tratamientos |
|--|---|------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| DI Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-I | 0.0 | 0.0 | DI-I |
| | MS-II | 0.5 | 1.0 | DI-II |
| | MS-III | 0.5 | 2.0 | DI-III |
| | MS-IV | 1.0 | 1.0 | DI-IV |
| | MS-V | 1.0 | 2.0 | DI-V |
| DII Adaptado de Araque et al. (2018) | MS-I | 0.0 | 0.0 | DII-I |
| | MS-II | 0.5 | 1.0 | DII-II |
| | MS-III | 0.5 | 2.0 | DII-III |
| | MS-IV | 1.0 | 1.0 | DII-IV |
| | MS-V | 1.0 | 2.0 | DII-V |
| DIII Propuesto | MS-I | 0.0 | 0.0 | DIII-I |
| | MS-II | 0.5 | 1.0 | DIII-II |
| | MS-III | 0.5 | 2.0 | DIII-III |
| | MS-IV | 1.0 | 1.0 | DIII-IV |
| | MS-V | 1.0 | 2.0 | DIII-V |

4.4.2 Procedimiento de siembra e incubación de explantes de *S.sonchifolius*

Se seleccionaron aleatoriamente 4-5 plantas madre de cultivo *in vivo*. Tras la desinfección y disección de tejidos necróticos, se obtuvieron explantes viables (yemas axilares y apicales) de aproximadamente 1.0 cm de longitud. La siembra se realizó en condiciones de asepsia (cámara de flujo laminar), utilizando instrumental estéril.

Los explantes se incubaron inicialmente a 22±1°C y 50% de humedad relativa. Siguiendo a Cabrera & Aliaga (2019), se mantuvo un periodo de baja intensidad lumínica durante los primeros 12-15 días para mitigar la oxidación. Posteriormente, las explantes viables (sin contaminación ni necrosis letal) fueron transferidos a una cámara climática (Fitotrón) a

20±1°C, con un fotoperiodo de 16/8h, una irradiancia de 30 μmol m⁻² s⁻¹ y 70% de humedad relativa (Kiszczak et al., 2022).

Tabla 4-3 Variables para la evaluación de sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción *in vitro* de *S. sonchifolius*

| Variable | símbolo | Característica |
|------------------------------|---------|---|
| Porcentaje de prendimiento | PP | Se realizó el conteo de plántulas que inician el proceso de formación de partes nuevas partes vegetativas (brotes y/o raíces). Se usó la siguiente formula: $PP = \frac{\text{Número de explantes prendidos por tratamiento}}{\text{Total de explantes sembrados por tratamiento}} \times 100 \%$ |
| Porcentaje de contaminación | PC | Se calculó el porcentaje de explantes que presentaron contaminación visible por hongos o bacterias. La fórmula usada es: $PC = \frac{\text{Número de explantes contaminados por tratamiento}}{\text{Total de explantes sembrados por tratamiento}} \times 100 \%$ |
| Porcentaje de oxidación | PO | Se calculó el porcentaje de explantes que mostraron signos evidentes de oxidación (oscurecimiento o necrosis) y que no presentaron signos de prendimiento. La fórmula que se usó: $PO = \frac{\text{Número de explantes oxidados por tratamiento}}{\text{Total de explantes sembrados por tratamiento}} \times 100 \%$ |
| Número de brotes por esqueje | NB | Se contabilizó el número total de brotes desarrollados en cada uno de los explantes que fueron considerados como "prendidos". Se calculó la media de brotes por explante prendido para cada tratamiento. |
| Número de hojas | NH | Se contabilizó el número total de hojas completamente expandidas presentes en los brotes desarrollados. Se calculó la media de hojas por brote para cada tratamiento. |
| Altura de la plántula | AP | Se midió la longitud vertical (en cm) desde la base del tallo hasta el punto de crecimiento apical de cada plántula al finalizar el ciclo de crecimiento. Se tomó una única medición por plántula. |

Por último, los datos se analizaron mediante un ANOVA de dos vías para determinar el efecto de los factores y su interacción. Previo al análisis, se verificaron los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). En caso de incumplimiento, se aplicó transformación logarítmica (Log(x+1)). Las diferencias entre medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey HSD (p < 0.05) utilizando el software R (R Core Team, 2024).

4.4.3 Fase de multiplicación *in vitro* de *S.sonchifolius*

Para evaluar el efecto de las citoquininas Bencilaminopurina (BAP) y Kinetina (KIN) en la multiplicación de brotes, se utilizó el protocolo de desinfección más eficiente identificado

en la fase previa y se mantuvieron las mismas condiciones de cultivo. La toma de datos se realizó en dos momentos: al finalizar el periodo de iluminación reducida y después de 40 días en cámara climática. Un tamaño de muestra de 30 unidades experimentales (explantes) por tratamiento, sujeto a la disponibilidad de material vegetal viable.

Se empleó un diseño factorial 2×3 completamente al azar con dos factores:

- **Factor A:** concentración de BAP (Bencilaminopurina) en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) 100 mg L⁻¹ de carbón activado (Cabrera & Aliaga, 2019), con 3 concentraciones (0.5, 2.0 y 5.0 mg·L⁻¹).
- **Factor B:** concentración de KIN (Kinetina) en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) 100 mg L⁻¹ de carbón activado (Cabrera & Aliaga, 2019), para 3 concentraciones (1.0, 2.0 y 3.0 mg·L⁻¹).

Tabla 4-4 Concentraciones de Bencilaminopurina (BAP) y Kinetina (KIN) en los Tratamientos Hormonales utilizados en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.

| Combinación | Medio Base | BAP (mg L-1) | KIN (mg L-1) | Código del tratamiento |
|-------------|------------|--------------|--------------|------------------------|
| Control | MS | 0 | 0 | MS-CONTROL |
| 1 | MS | 0.5 | 1 | MS-H1 |
| 2 | MS | 0.5 | 2 | MS-H2 |
| 3 | MS | 0.5 | 3 | MS-H3 |
| 4 | MS | 2 | 1 | MS-H4 |
| 5 | MS | 2 | 2 | MS-H5 |
| 6 | MS | 2 | 3 | MS-H6 |
| 7 | MS | 5 | 1 | MS-H7 |
| 8 | MS | 5 | 2 | MS-H8 |
| 9 | MS | 5 | 3 | MS-H9 |

La combinación de niveles en el diseño experimental generó nueve tratamientos con reguladores de crecimiento, más un tratamiento control sin reguladores, para un total de 10 tratamientos (Tabla 4-4). Cada tratamiento contó con al menos 30 unidades experimentales, según la disponibilidad de explantes.

El efecto de los factores se analizó mediante un ANOVA de dos vías (BAP, KIN e interacción BAP×KIN). Cuando se detectaron diferencias significativas, las comparaciones múltiples se realizaron con la prueba Tukey HSD. Los análisis se efectuaron en R (R Core Team, 2024).

4.5 Identificación de contaminantes fúngicos persistentes en el cultivo *in vitro* *S. sonchifolius*

Aun utilizando el Benomyl como agente antifúngico durante la fase de desinfección, varios explantes presentaron contaminación persistente asociada a dos morfotipos fúngicos más frecuentes en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*. Ngone et al. (2021) sugiere que la contaminación por hongos es una de las principales causas de pérdida en el cultivo de tejidos vegetales, la identificación de las especies fúngicas específicas permite realizar intervenciones específicas para prevenir y controlar la contaminación, lo que reduce la pérdida de cultivos y mejora la eficiencia de la propagación *in vitro*. Por otra parte, algunos hongos pueden no ser susceptibles o presentar resistencia a los benzimidazoles que es al grupo de compuesto químico al que pertenece el Benomyl (Yin et al., 2023), por lo que es pertinente identificar a un nivel taxonómico cercano a la especie que permita tomar las decisiones adecuadas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se realiza la identificación de los caminantes fúngicos y poder tomar decisiones sobre el uso del Benomyl en el manejo de estos contaminantes persistentes. Para su identificación, se aislaron en medios de cultivo sólidos en placas Petri en medio papa dextrosa agar (PDA) y se incubaron a temperatura ambiente (25 °C) hasta que cubriera al menos el 50 % de la placa (modificado de Oza et al., 2020; Pérez Pazos, 2022). El tiempo de incubación dependió de cada morfotipo, ya que fue necesario crear estados de estrés como aumentar la penumbra y disminuir la temperatura para lograr estimular el crecimiento. El tiempo promedio fue entre 7 días para el morfotipo con mayor velocidad de crecimiento y 20 días de incubación para el morfotipo con crecimiento lento.

Para la identificación de los morfotipos se usaron técnicas de biología molecular, a partir del ADN obtenido de los aislamientos puros. La extracción de ADN se llevó a cabo por la metodología propuesta por García Romero I et al. (2012). Para el tamizaje de las muestras

se realizó la amplificación por PCR de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) completa, utilizando los primers ITS1/ITS4 (White et al., 1990) y las condiciones de PCR propuestas por Pérez-Vera et al. (2005)(García Romero et al., 2020). Los fragmentos amplificados fueron secuenciados por el método de Sanger, en el instituto de genética de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y posteriormente se analizaron usando BLASTn® contra la base de datos del Genbank del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Para el análisis y ensamblaje de las secuencias se utilizó el software EMBOSS Merger ®.

4.6 Implementación de agentes desinfectantes para el control de contaminación bacteriana persistente en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.

Para controlar la contaminación fúngica y bacteriana durante el establecimiento *in vitro*, como parte del manejo integrado del proceso, se evaluó el efecto y la eficacia de diferentes agentes desinfectantes sobre el desarrollo de las plántulas *in vitro* de *S. sonchifolius*. Para ello, se comparó el efecto del hipoclorito de sodio (NaClO) en dos concentraciones y también un antibiótico de amplio espectro como la estreptomina sulfato (C₄₂H₈₄N₁₄O₃₆S₃) en tres concentraciones (Tabla 4-5) (Atala et al., 2022). Además, se incluyó un tratamiento control con el medio MS sin agentes desinfectantes.

La estreptomina sulfato es un antibiótico de amplio espectro y se utiliza en cultivo *in vitro* por su eficacia frente a bacterias Gram negativas comúnmente asociadas a contaminaciones persistentes, incluyendo *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Proteus* y *Enterobacter*, además de algunas Gram positivas sensibles como *Corynebacterium* y ciertos *Bacillus*. Estas bacterias suelen actuar como contaminantes endófitos difíciles de eliminar con desinfección superficial, por lo que la estreptomina ayuda a reducir su proliferación durante el establecimiento del cultivo (citado de (Wakil & Mbah, 2012 en Permadi et al.2025). Adicionalmente, el hipoclorito de sodio (NaClO) se puede usar en medios de cultivo, principalmente como agente esterilizante químico, ofreciendo una alternativa a los métodos tradicionales de autoclave, su aplicación ha sido estudiada en cultivos de especies altamente sensibles a contaminantes como *Ananas*

comosus, la Cayena suave, *Eucalyptus pellita*, *Sequoia sempervirens* y *Saccharum officinarum*, que logran una asepsia completa del medio de cultivo (Oliveira et al., 2022). Conforme a lo anterior, se desarrolló este ensayo para identificar el compuesto que mejor controlara esta contaminación y adicionalmente no mostrara efectos fitotóxicos sobre los explantes de *S. sonchifolius*.

Tabla 4-5 Agentes químicos para la prevención de contaminaciones persistentes en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.

| Tratamiento | Concentración | Código del tratamiento |
|----------------------|---------------|------------------------|
| Control + | MS | Ms- control |
| Hipoclorito de sodio | [0.001 %] | Ms_NaClO_1 |
| Hipoclorito de sodio | [0.003 %] | Ms_NaClO_2 |
| Estreptomina sulfato | 25mg /L | Ms-E1 |
| Estreptomina sulfato | 50mg/L | Ms-E1 |
| Estreptomina sulfato | 100mg /L | Ms-E1 |

Es importante tener en cuenta que estos medios tienen un método de preparación específico, pues este tipo de sustancias sufren procesos de degradación ya que no son termoestables y no se pueden esterilizar a altas temperaturas, para lo cual se preparó la solución del medio MS (Murashige y Skoog, 1962) con 100 mg L⁻¹ de carbón activado en frascos shock y poder agregar tanto el hipoclorito de sodio (NaClO) como la estreptomina sulfato en la cabina de flujo laminar a la solución. Previamente se esterilizaron las soluciones antibacterianas durante 15 minutos en radiación UV.

Para evaluar el efecto de distintos agentes químicos sobre la prevención de contaminaciones persistentes en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*, se implementó un diseño factorial completamente al azar (DCA) con dos factores experimentales.

Factor A: Medio de cultivo + agente desinfectante.

Se evaluaron cinco formulaciones del medio MS suplementado con hipoclorito de

sodio (0.001 % y 0.003 %) y estreptomicina sulfato (25, 50 y 100 mg·L⁻¹), junto con un tratamiento control sin agentes desinfectantes (Tabla 4-5).

Factor B: Tipo de contaminación registrada.

Los explantes se clasificaron en tres categorías según la contaminación observada durante el establecimiento:

- sin contaminación,
- contaminación bacteriana,
- contaminación fúngica.

Cada explante es considerado una unidad experimental independiente. La asignación a los tratamientos se efectuó de manera aleatoria, garantizando el cumplimiento de los principios del DCA y minimizando el sesgo asociado a la variabilidad entre plantas madre, manteniendo la trazabilidad en el proceso.

Para determinar si los agentes desinfectantes incorporados al medio influían en la regeneración y en la reducción de la contaminación persistente, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, evaluando el efecto principal de cada factor y su interacción. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se verificaron mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene, respectivamente. se aplicó una prueba de comparaciones múltiples Tukey HSD (Honestly Significant Difference).

4.7 Estrategias de aclimatación para plántulas *in vitro* de *S. sonchifolius*

Las plántulas que sobrevivieron a los tratamientos de micropropagación y que presentaban raíces bien desarrolladas y hojas verdaderas (no primordios foliares) se lavaron suavemente con agua destilada ligeramente tibia para eliminar los residuos del medio de cultivo *in vitro* y ser transferidas al sustrato en vasos de cartón para su establecimiento *ex vitro*. Finalmente, los vasos con las plántulas trasplantadas se cubrieron con vasos transparentes para mantener la humedad durante las primeras etapas de la aclimatación

y se dispusieron de manera aleatoria en los dos tratamientos evaluados (Tabla 4-6) para esta etapa del proceso.

Es importante aclarar que las plántulas sobrevivientes del primer experimento (fase de introducción) fueron trasladadas a la aclimatación una vez completados los 40 días de cultivo *in vitro*, bajo las condiciones de invernadero previamente descritas.

Tabla 4-6. Tratamientos de aclimatación para plántulas *in vitro* de *S. sonchifolius*.

| Tratamiento | Condiciones de trasplante | Condiciones ambientales | Endurecimiento (retiro de cobertura) | Referencias |
|---------------------------------|--|---|--|--|
| T1. Invernadero | - Trasplante individual a vasos de cartón. - Sustrato igual al de cultivo <i>in vivo</i> , - Cubierta con vaso transparente. | Invernadero (18°C ± 6°C y humedad ambiental de 40% ±10) | Semana 1: 15 min/día. Semana 2: 30 min/día (2 × 15 min). Semana 3: retiro nocturno. Semana 4: sin cobertura. | Perea (2009); Víquez Pancho (2018); Cabrera Pintado & Aliaga Córdor (2019) |
| T2. Fitotrón Invernadero | - Trasplante individual a vasos de cartón. - Sustrato igual al de cultivo <i>in vivo</i> , - Cubierta con vaso transparente | Semanas 1–2: fitotrón (20 °C; fotoperiodo 16/8; 30 μmol m ⁻² s ⁻¹ , 70% humedad). Semana 3: invernadero sin cubierta. | Semana 1: 15 min/día. Semana 2: 30 min/día (2 × 15 min). Semana 3: retiro nocturno. Semana 4: sin cobertura. | Modificado de Kiszczak et al. (2022) |

Para evaluar el efecto del tratamiento de desinfección y del tratamiento de propagación sobre el desempeño de las plántulas durante el endurecimiento, se aplicó un análisis de varianza de dos vías (ANOVA). El modelo incluyó ambos factores y su interacción, usando como variable de respuesta el número de brotes formados durante la fase *ex vitro*. La normalidad y homogeneidad de varianzas fueron verificadas previamente. Todos los análisis se realizaron en R (R Core Team, 2024).

5. Análisis de resultados y Discusión

5.1 Establecimiento de un cultivo *in vivo* de plantas madre para la obtención de explantes de *S. sonchifolius*

5.1.1 Evaluación de la desinfección de propágulos para el establecimiento *in vivo*

En la fase de establecimiento en invernadero, el análisis estadístico evidenció un efecto altamente significativo del protocolo de desinfección sobre la capacidad regenerativa de los rizomas ($F_{4,195} = 63.7$; $p - valor < 0.05$) (**Tabla 5-2**). Como se observa en la **Tabla 5-1**, el tratamiento con NaClO al 0.8% durante 5 minutos registró mejor desempeño agronómico, alcanzando una tasa de regeneración del 92.5% y un promedio de 2.8 brotes por propágulo. Este desempeño fue estadísticamente mayor ($p - valor < 0.001$) al control de lavado con jabón y a los tratamientos fungicidas (**Tabla 5-3**).

Tabla 5-1 Medias de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo *in vivo* de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero.

| Tratamiento | Número de brotes | Número de explantes | Tasa de regeneración |
|-----------------------|------------------|---------------------|----------------------|
| Hipoclorito de sodio | 2.8 | 7.7 | 0.925 |
| Agua + jabón | 1.4 | 3.7 | 0.6 |
| Benomyl 0,1% x 60 min | 0 | 0 | 0 |
| Benomyl 0,2% x 25 min | 0 | 0 | 0 |
| Benomyl 0,2% x 60 min | 0 | 0 | 0 |

Tabla 5-2 Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo *in vivo* de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero.

| Fuente de variación | Grados de libertad (GL) | Suma de cuadrados (SC) | Cuadrado medio (CM) | Valor F | Valor P |
|---------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|---------|---------|
| Tratamiento | 4 | 250.9 | 62.72 | 63.7 | < 2e-16 |
| Residuales | 195 | 192.0 | 0.98 | | |

El éxito del NaClO coincide con su amplio uso en la propagación vegetal debido a su efectividad microbiana y bajo costo (Hernández Montesinos et al., 2023). En contraste, los tratamientos que incluyeron Benomyl (0.1% y 0.2%) resultaron en una inhibición total de la respuesta (0% de regeneración), un hallazgo que difiere de los protocolos exitosos reportados previamente para la especie (Cabrera & Aliaga, 2019). Esta discrepancia sugiere una alta sensibilidad fitotóxica del material vegetal utilizado en este estudio. Se ha documentado que el Benomyl puede generar estrés oxidativo severo y efectos citotóxicos irreversibles; por ejemplo, Dane et al. (2005) demostraron en *Allium cepa* que este fungicida causa anomalías mitóticas en tejidos radicales, incluso a bajas concentraciones. Es probable que mecanismos similares de toxicidad celular hayan inhibido la activación de las yemas en los rizomas de *S. sonchifolius* expuestos a este agente sistémico.

Por otro lado, el tratamiento con solución jabonosa (Dersa®) permitió la regeneración (60%), pero con una eficiencia significativamente menor a la del NaClO. Si bien los surfactantes aniónicos presentes en detergentes mejoran la humectación y reducen la tensión superficial (Gilbert & Moore, 2005), la carga microbiana endógena del rizoma – rico en carbohidratos de reserva y altamente susceptible a patógenos bacterianos como *Ralstonia solanacearum* y hongos como *Alternaria alternata* y *Sclerotinia sclerotiorum* (Manrique et al., 2005; Saire, 2012; Cano, 2016) – parece requerir la acción oxidante fuerte del hipoclorito para garantizar tasas de supervivencia viables. Además, concentraciones excesivas de surfactantes pueden alterar el equilibrio osmótico celular, limitando el vigor del brote (Yang & Pal, 2020).

Tabla 5-3. Prueba *t* de Student para las comparaciones múltiples del número de brotes entre tratamientos de los tratamientos desinfección de propágulos del rizoma para el establecimiento de un cultivo *in vivo* de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero (ajuste Bonferroni).

| Comparación | Valor P (ajuste de Bonferroni) | Significancia |
|---|--------------------------------------|---------------|
| Hipoclorito de sodio al 0,5% x 8 minutos Vs Solución jabonosa de jabón Dersa® | 0.00015 | *** |

Nota: ** $p < 0.001$; * $p < 0.01$; $p < 0.05$. Método de ajuste: HSD Tukey.

5.1.2 Incidencia de factores bióticos y abióticos en el invernadero

El monitoreo fitosanitario durante el establecimiento permitió identificar tres insectos plaga afectando el cultivo *stock*: la cochinilla harinosa (Pseudococcidae), áfidos (Aphididae), y la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) (**Figura 5-1**).

La presencia de *T. vaporariorum* (Figura 5-1B) resultó crítica. Aunque no se observó el amarillamiento típico asociado a virus como el PYVV, del cual este insecto es vector (Salazar et al., 2005), si se registró una marcada deformación foliar y defoliación en las plantas madre. Esto obligó al descarte de material vegetal, dado que el estado fisiológico de la planta donante es determinante para el éxito de la fase *in vitro*. Asimismo, la presencia de cochinillas (**Figura 5-1C**) y áfidos (**Figura 5-1A**) requirió la implementación de barreras físicas y trampas cromáticas (**Figura 5-2**), las cuales demostraron la efectividad en la contención poblacional sin afectar el crecimiento, aunque no lograron erradicar el riesgo

de transmisión viral o fúngica (fumagina) asociado a las excreciones de estos hemípteros (León & Kondo, 2017).

Adicionalmente, se evidenciaron signos de estrés hídrico y térmico (pérdida de turgencia, plegamiento foliar). Las condiciones ambientales registradas en el invernadero (18 ± 6 °C; $40\pm 10\%$ HR) presentaron fluctuaciones subóptimas para la especie. Según Taiz & Zeiger (2018), el estrés hídrico reduce la actividad meristemática y la movilidad de auxinas, lo cual explicaría parcialmente la variabilidad en la emisión de brotes observada en los tratamientos control, subrayando la necesidad de estabilizar las condiciones microclimáticas para la obtención de explantes de alta calidad.

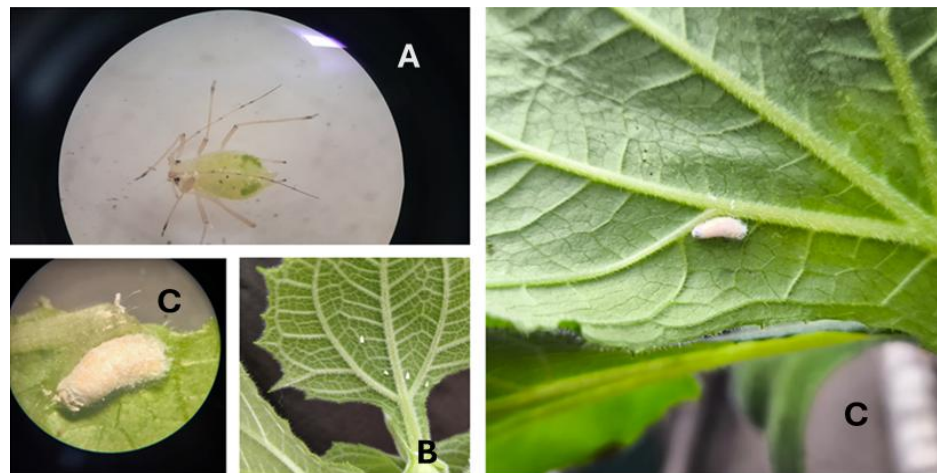


Figura 5-1. Insectos plaga asociados al cultivo en invernadero de *S. sonchifolius* ; A: Áfido (pulgón); B: Mosca o palomilla blanca; C: Cochinilla algodonosa o harinosa.



Figura 5-2 Estrategias para mitigación de insectos plaga presentes en el cultivo de *S. sonchifolius* en condiciones de invernadero.

5.2 Evaluación del efecto de reguladores de crecimiento en la multiplicación *in vitro* de *S. sonchifolius*

5.2.1 Interacción Desinfección - Medio de Cultivo (Fase *in vitro*)

En la introducción *in vitro*, el análisis de varianza (**Tabla 5-6**) reveló que la eficiencia del establecimiento no depende únicamente del agente desinfectante ($p > 0.05$), sino de su interacción con el medio de cultivo empleado ($p < 0.05$).

Los resultados indican que el protocolo **DIII** (Doble desinfección) en combinación con el medio **MS-I** (medio control) proporcionó las mejores tasas de respuesta (1.62 brotes, 97.5% prendimiento) (**Tabla 5-5**). Esta interacción positiva sugiere que un medio de cultivo adecuado puede mitigar el estrés oxidativo generado por un protocolo de desinfección riguroso. Al comparar los resultados consolidados (**Tabla 5-4**), se observa que el protocolo **DIII** fue mejor para controlar la contaminación exógena sin comprometer la viabilidad del tejido, superando las limitaciones observadas en los protocolos adaptados de Cabrera &

Aliaga (DI) y Araque et al. (DII). Sin embargo, al analizar la estabilidad sanitaria global (Tabla 5-4), se observa una variabilidad considerable en los porcentajes de contaminación del protocolo DIII (oscilando entre 33% y 75.8%).

Tabla 5-4 Promedios de las variables para la evaluación de sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción *in vitro* de *S. sonchifolius* (Final de ciclo de baja luminosidad)

| Desinfección | Código del tratamiento | N.B | N.H | P.P | P.O | P.C |
|--------------|------------------------|------|------|------|------|--------|
| DI | MS-I | 1.06 | 2.87 | 0.59 | 0.19 | 65.6 % |
| DI | MS-II | 1.17 | 1.77 | 0.70 | 0.07 | 43.3 % |
| DI | MS-III | 0.57 | 1.83 | 0.30 | 0.60 | 76.7 % |
| DI | MS-IV | 1.00 | 1.80 | 0.65 | 0.29 | 52.9 % |
| DI | MS-V | 1.37 | 0.78 | 0.47 | 0.31 | 78.1 % |
| DII | MS-I | 1.08 | 2.75 | 0.69 | 0.11 | 55.6 % |
| DII | MS-II | 1.18 | 2.09 | 0.75 | 0.10 | 40.6 % |
| DII | MS-III | 1.03 | 3.03 | 0.72 | 0.16 | 31.2 % |
| DII | MS-IV | 1.33 | 4.06 | 0.91 | 0.09 | 24.2 % |
| DII | MS-V | 1.30 | 2.83 | 0.77 | 0.07 | 46.7 % |
| DIII | MS-I | 1.62 | 7.02 | 0.97 | 0.27 | 35.0 % |
| DIII | MS-II | 0.81 | 1.81 | 0.57 | 0.28 | 67.6 % |
| DIII | MS-III | 1.00 | 2.27 | 0.93 | 0.03 | 33.3 % |
| DIII | MS-IV | 0.90 | 2.20 | 0.83 | 0.26 | 53.3 % |
| DIII | MS-V | 1.24 | 4.37 | 0.82 | 0.12 | 75.8 % |

Nota: N.B: Número de brotes; N.H: Número de hojas; P.P: porcentaje de prendimiento; P.O: Porcentaje de Oxidación; P.C: Porcentaje de contaminación.

Tabla 5-5. Medios con valores superiores a las medias de los tratamientos de desinfección en combinación con los tratamientos hormonales AIA y KIN (Final de ciclo de baja luminosidad)

| Tratamiento de Desinfección | Medio | Número de Brotes (NB) | Número de Hojas (NH) | Tasa de Prendimiento (%) |
|-----------------------------|-------|-----------------------|----------------------|--------------------------|
| DI | MS-I | 1.06 | 2.88 | 0.594 |
| DII | MS-IV | 1.33 | 4.06 | 0.909 |
| DIII | MS-I | 1.62 | 7.02 | 0.975 |

Tabla 5-6 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para las combinaciones de tratamientos de desinfección y medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de AIA y KIN para *S.sonchifolius* (Final de ciclo de baja luminosidad)

| Fuente de variación | Grados de libertad (GL) | Suma de cuadrados (SC) | Cuadrado medio (CM) | Valor F | Valor P |
|-------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|---------|----------|
| Tratamiento desinfección (TD) | 2 | 0.10 | 0.0510 | 0.206 | 0.8143 |
| Tratamiento propagación (TP) | 4 | 2.12 | 0.5288 | 2.133 | 0.0192 * |
| TDXTP | 8 | 1.87 | 0.2338 | 0.943 | 0.0469 * |
| Residuales | 170 | 42.15 | 0.2479 | | |

Las pruebas *post hoc* (Tabla 5-7) detallan que la combinación DIII + MS-I superó significativamente a otras combinaciones como DI + MS-III ($p = 0.002$) y DIII + MS-II ($p = 0.040$), validando su eficiencia en términos de brotación.

Tabla 5-7 Comparaciones *post-hoc* (Tukey HSD) para la interacción significativa.

| Combinación de tratamientos | Diferencia entre medias | Límite inferior del intervalo de confianza | Límite superior del intervalo de confianza | Valor P ajustado |
|-----------------------------|-------------------------|--|--|------------------|
| DIII:MS-II-DIII:MS-I | -8,14E-01 | -1,6119545 | -0,0164239 | 0,040097 |
| DI:MS-III-DIII:MS-I | -1,06E+00 | -1,9030655 | -0,2136012 | 0,0021669 |

A pesar del alto rendimiento puntual de la combinación DIII+MS-I, se observó que el protocolo DII (adaptado de Araque et al., 2018), presentó el promedio global de contaminación más bajo y estable entre todos los sets (**promedio ~39.6% vs >50% en DIII**). Dado que la contaminación es el factor limitante más crítico para la escalabilidad del proceso, y al no existir diferencias significativas en el factor "Desinfección" por sí solo, se

seleccionó el protocolo DII como el método estándar para desinfectar el material vegetal en el siguiente experimento de multiplicación.

5.2.2 Fase de multiplicación *in vitro* de *S. sonchifolius* (Evaluación de Citoquininas)

Para la evaluación de la fase de multiplicación, se analizó el efecto de diferentes concentraciones de Bencilaminopurina (BAP) y Kinetina (KIN) utilizando el protocolo de desinfección II.

El análisis de varianza (**Tabla 5-8**) demostró que el medio de cultivo (balance hormonal) tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el número de brotes producidos ($F = 25.64$; $p - \text{valor} < 0.05$). Asimismo, el tipo de contaminación influyó significativamente en el desarrollo de los explantes ($p = 0.00479$), confirmaría que la presencia de microorganismos (especialmente microorganismos bacterianos) compromete el potencial morfogénico.

Tabla 5-8 Análisis de varianza (ANOVA) para la fase de multiplicación.

| Fuente de variación | GL | Suma de cuadrados (SC) | Cuadrado medio (CM) | F | p-valor |
|-----------------------------------|-----|------------------------|---------------------|--------|---------|
| Medio de cultivo | 9 | 381.0 | 42.34 | 25.642 | < 2e-16 |
| Tipo de contaminación | 2 | 17.9 | 8.97 | 5.435 | 0.00479 |
| Interacción Medio × Contaminación | 5 | 13.7 | 2.74 | 1.657 | 0.14471 |
| Error (Residuales) | 309 | 510.2 | 1.65 | – | – |

Al analizar el efecto del tipo de contaminación mediante la prueba de comparación de medias (**Tabla 5-9**), se encontró que la contaminación bacteriana reduce significativamente el número de brotes en comparación con los explantes sanos ($p = 0.0096$). No se encontraron diferencias significativas entre los explantes sanos y aquellos

con contaminación fúngica leve ($p = 0.921$), lo que sugiere que las bacterias endófitas representan el mayor obstáculo en esta etapa.

Tabla 5-9 Comparación de medias según tipo de contaminación (Tukey HSD).

| Comparación | diff | p adj |
|----------------------|--------|---------------|
| Fúngica – Bacteriana | 0.866 | 0.201 |
| Ninguna – Bacteriana | 0.690 | 0.0096 |
| Ninguna – Fúngica | -0.176 | 0.921 |

Finalmente, la **Figura 5-3** ilustra el comportamiento de los tratamientos hormonales. Aunque los tratamientos con altas concentraciones de citoquininas mostraron medias superiores de brotación, estos no presentaron la formación de raíces (rizogénesis), limitando su viabilidad para la fase de aclimatación.

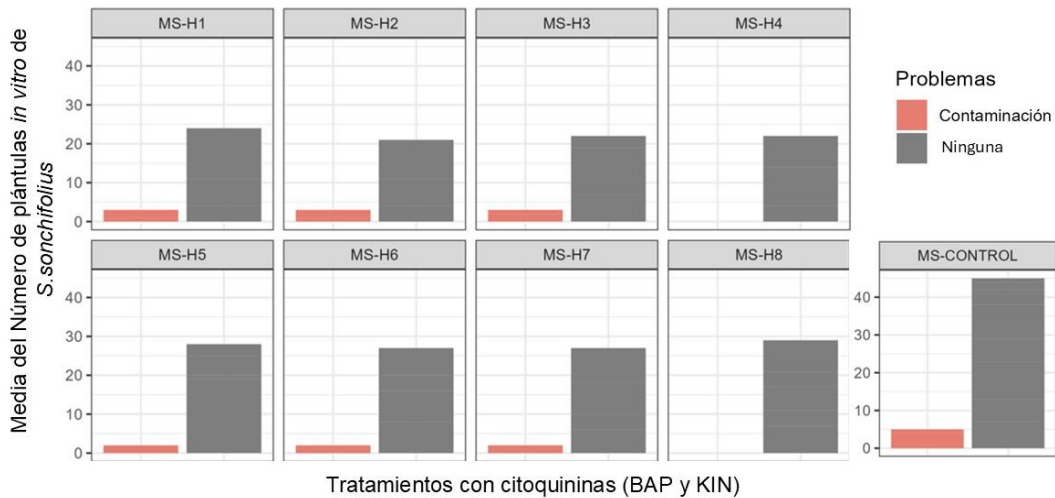


Figura 5-3. Efecto de los tratamientos con citoquininas (BAP y KIN) sobre la media de plántulas obtenidas y la incidencia de contaminación.

5.3 Evaluación de agentes desinfectantes en medio de cultivo para el control de contaminación persistente

5.3.1 Análisis de la contaminación microbiana y estrategias de rescate

La contaminación endógena representó el principal desafío durante la fase de establecimiento. Como se resume en la **Figura 5-4**, del total de 491 unidades experimentales evaluadas en el primer experimento (Introducción), se registró una incidencia de contaminación bacteriana del 44.2% y fúngica del 7.7%. Esta alta carga bacteriana justificó la necesidad de evaluar protocolos más estrictos o estrategias de rescate.

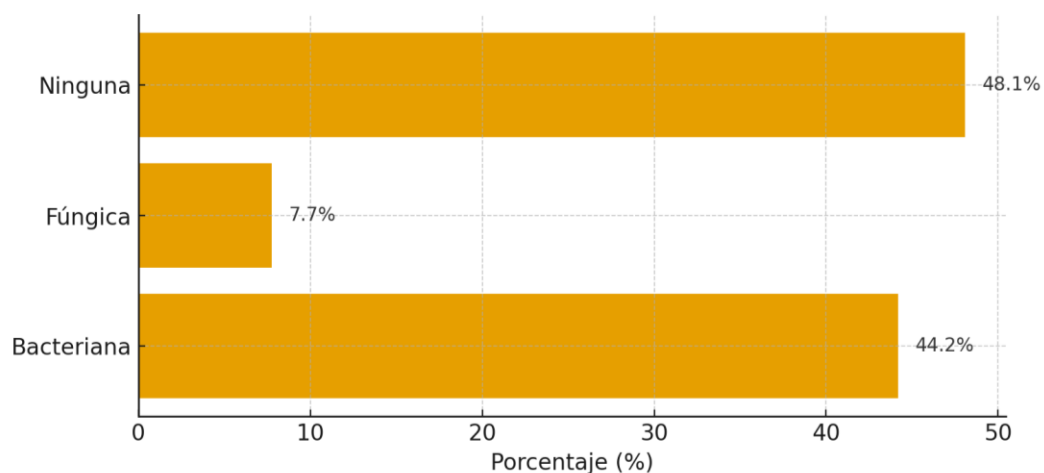


Figura 5-4. Porcentaje de contaminación microbiana en los explantes establecidos *in vitro* (ensayo introducción a condiciones *in vitro*) de *S. sonchifolius*.

En contraste, para el segundo experimento (Fase de Multiplicación/Citoquininas), donde se empleó el protocolo de desinfección estandarizado (adaptado de Araque et al., 2018), la incidencia se redujo drásticamente (**Figura 5-5**), reportando valores residuales de contaminación fúngica (1.84%) y bacteriana (2.15%). Esto valida la eficiencia del protocolo seleccionado para mantener la sanidad en fases avanzadas.

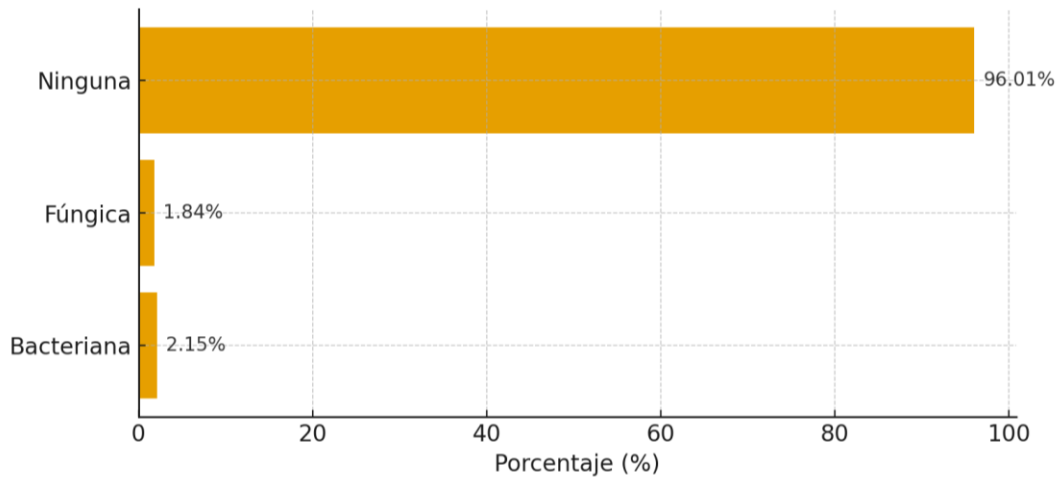


Figura 5-5 Porcentaje de contaminación microbiana en los explantes establecidos *in vitro* (ensayo de citoquininas) de *S. sonchifolius*.

5.3.2 Implementación de agentes antimicrobianos en el medio de cultivo

Debido a la persistencia bacteriana observada en la fase inicial, se evaluó un experimento de rescate incorporando agentes desinfectantes directamente en el medio MS. Se compararon tratamientos con Estreptomina (MS-E) e Hipoclorito de Sodio (MS-NaClO).

En términos de capacidad de saneamiento (**Figura 5-6**), los tratamientos MS-E1, MS-E2 (Estreptomina) y MS-NaClO_2 demostraron la mayor eficiencia, logrando recuperar entre 28 y 30 explantes libres de contaminación visible por tratamiento (de un N aproximado de 32 por grupo). Se observó una especificidad en la acción antimicrobiana, donde el tratamiento MS-E3 fue efectivo contra bacterias, pero permitió escapes fúngicos, mientras que MS-NaClO_1 fue eficaz como fungicida, pero permisivo ante bacterias.

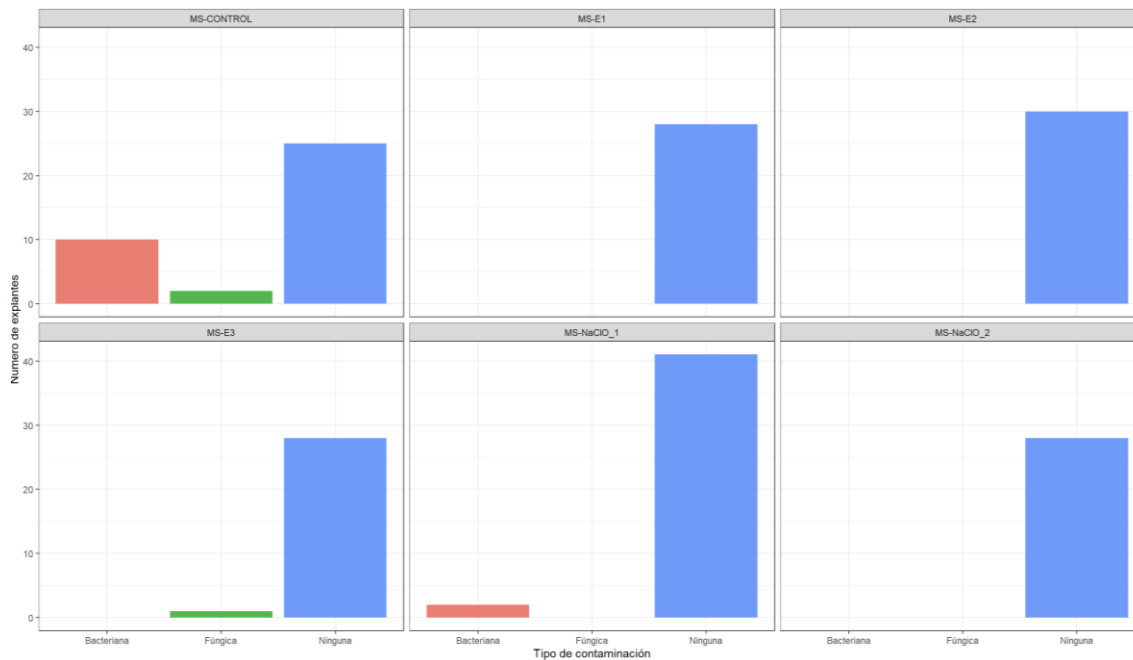


Figura 5-6 Frecuencia de explantes libres de contaminación según el agente desinfectante en el medio.

El análisis de varianza (**Tabla 5-10**) indicó que la acción de estos agentes no afectó significativamente el número de brotes ($p = 0.2449$). Esto sugiere que, estadísticamente, ni los antibióticos, ni el NaClO en el medio promovieron o inhibieron la emisión de nuevos brotes en comparación entre ellos.

Sin embargo, el factor determinante fue el **tipo de contaminación**, el cual mostró un efecto significativo ($p = 0.00507$)

Tabla 5-10 Análisis de varianza (ANOVA) del efecto del agente desinfectante y tipo de contaminante sobre el número de brotes.

| Fuente de variación | GL | Suma de cuadrados (SC) | Cuadrado medio (CM) | F | p-valor |
|--------------------------------------|-----|------------------------|---------------------|--------------|----------------|
| Medio | 5 | 4.12 | 0.825 | 1.351 | 0.2449 |
| Tipo de contaminación | 2 | 6.64 | 3.320 | 5.438 | 0.00507 |
| Medio × Tipo de contaminación | 2 | 1.03 | 0.516 | 0.845 | 0.4313 |
| Residuales | 185 | 112.94 | 0.611 | — | — |

La prueba de comparación de medias (**Tabla 5-11**) confirmó que la contaminación bacteriana reduce significativamente la capacidad morfogénica del explante en comparación con el material aséptico ($p = 0.0095$). Por el contrario, la contaminación fúngica no mostró diferencias significativas respecto al material limpio ($p = 0.9209$), sugiriendo que, en este sistema, las bacterias endófitas ejercen una presión inhibitoria más severa sobre el desarrollo del brote que los hongos incidentes en el cultivo.

Tabla 5-11 Comparación de medias (Tukey HSD) para la variable del número de brotes según el Tipo de contaminación.

| Comparación | Diferencia de medias (diff) | IC 95% (lwr–upr) | p ajustado |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------|---------------|
| Fúngica – Bacteriana | 0.8664 | -0.3241 – 2.0570 | 0.2007 |
| Ninguna – Bacteriana | 0.6906 | 0.1407 – 1.2405 | 0.0095 |
| Ninguna – Fúngica | -0.1758 | -1.2495 – 0.8979 | 0.9209 |

A pesar de las altas tasas de saneamiento logradas con NaClO en medio (MS-NaClO), se evidenció un efecto fitotóxico cualitativo a nivel radicular. Como se muestra en la **Figura 5-7**, las plántulas expuestas a este agente presentaron necrosis apical y pardeamiento (oxidación) en los tejidos de la raíz. Este síntoma de estrés químico sugiere que, aunque el NaClO en el medio es efectivo para eliminar bacterias, su uso prolongado compromete la integridad del sistema radicular, limitando su viabilidad para la aclimatación posterior.

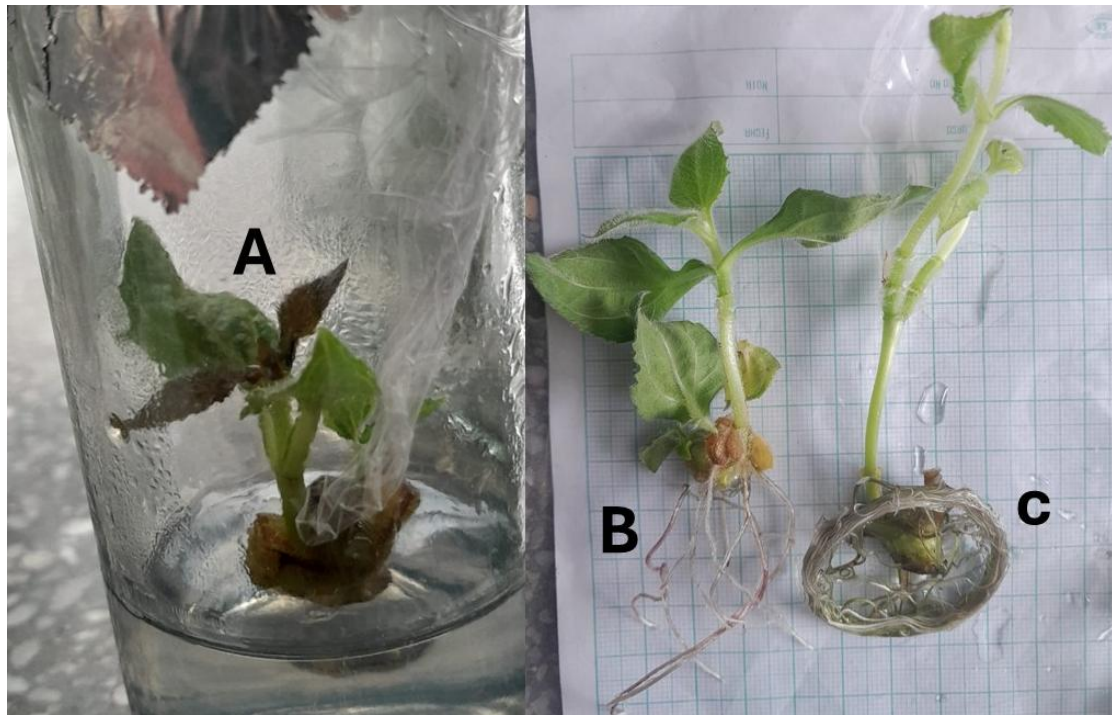


Figura 5-7 Evidencia de fitotoxicidad en plántulas de *S. sonchifolius* expuestas a agentes desinfectantes en el medio. A. Necrosis apical; B. Necrosis radicular; C. raíz de medio MS-control.

5.4 Identificación de contaminantes fúngicos persistentes en el cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.

5.4.1 Identificación molecular de hongos contaminantes recurrentes

Para la identificación taxonómica de los dos hongos filamentosos aislados recurrentemente en el cultivo *in vitro* (**Figura 5-8**), se realizó un análisis de alineamiento de secuencias mediante el algoritmo BLASTn contra las bases de datos del GenBank (NIH-NCBI).

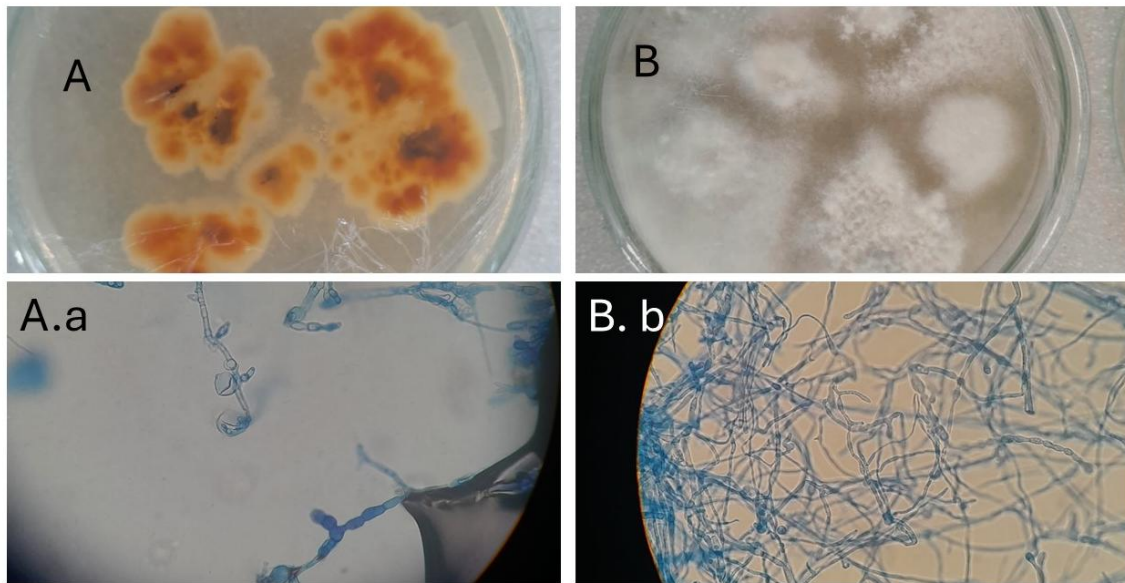


Figura 5-8 Hongos aislados del cultivo *in vitro* de *S.sonchifolius* . A. Aislamiento del hongo identificado como *Fusarium cf. tricinctum*.B. Aislamiento del hongo *Nigrospora cf. oryzae* A.a y B.b Micrografías con tinción de azul de lactofenol correspondientes a cada morfotipo.

Los resultados del alineamiento (**Tabla 5-12**) mostraron valores de E-value significativos (cerca de 0), lo que sugiere una homología no aleatoria con las secuencias depositadas. Sin embargo, los porcentajes de cobertura de la consulta (Query Cover) (**Figura 5-9**) fueron bajos (entre 26% y 53%), lo cual limita la resolución taxonómica a nivel de especie debido a la cobertura parcial de la región amplificada. A pesar de esta limitación técnica, la alta identidad porcentual en los fragmentos alineados (>97%) permite realizar una aproximación taxonómica a nivel de género, asociando los aislamientos a *Fusarium sp.* y *Nigrospora sp.*

Tabla 5-12 Análisis comparativo con BLASTn de los alineamientos de secuencias de la amplificación por PCR de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) de los hongos identificados como persistentes en el cultivo in vitro de *S. sonchifolius*.

| Código formato FASTA | Nombre Científico | Max Score | Total Score | Query Cover | E Value | Per. Ident. | Acc. Len. |
|----------------------|--------------------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| LC_23-373.2 | <i>Fusarium cf. tricinctum</i> | 595 | 595 | 26% | 6.00E-170 | 98.53% | 579 |
| | <i>Uncultured fungus</i> | 595 | 595 | 26% | 6.00E-170 | 98,53% | 616 |
| LC_23-373.3 | <i>Nigrospora cf. oryzae</i> | 809 | 1159 | 57% | 0 | 96.36% | 540 |
| | <i>Nigrospora sphaerica</i> | 806 | 1050 | 55% | 0 | 98.26% | 566 |

Nota: La abreviatura "cf." (confer) indica que la identificación es provisional o comparativa debido a la baja cobertura de la secuencia.

La identificación de *Fusarium sp.* y *Nigrospora sp.* es consistente con la problemática de contaminación persistente observada. Ambos géneros son reportados frecuentemente como hongos endófitos que pueden comportarse como patógenos latentes en especies tuberosas andinas. Esto respalda la hipótesis de la contaminación endógena, donde los microorganismos residen en los tejidos internos del explante y escapan a la desinfección superficial, como sugieren (Xue et al., 2023)

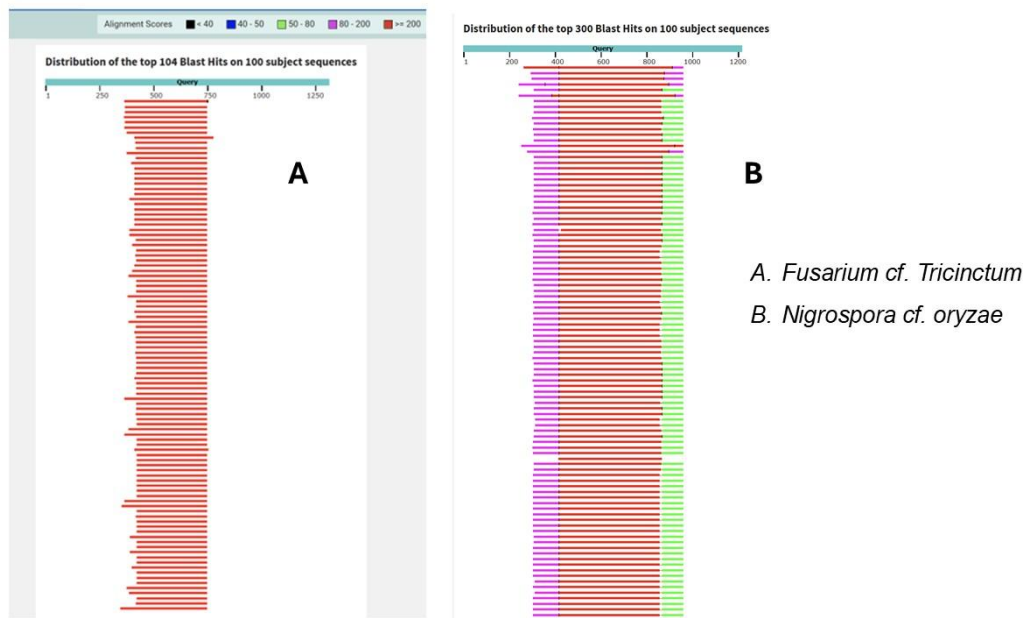


Figura 5-9 Distribución de los mejores alineamientos BLAST (Top Hits) obtenidos para los aislados fúngicos: A = *Fusarium cf. tricinctum* y B = *Nigrospora cf. oryzae*.

La presencia de *Fusarium sp.* es particularmente crítica. Hernández & López (2021) señalan que este género posee una alta velocidad de crecimiento *in vitro* y patogenicidad, recomendando el uso de fungicidas sistémicos como el Benomyl para su control. Esto concuerda con los resultados preliminares, donde los tratamientos sin fungicidas sistémicos o hipoclorito fuerte fallaron en contener la infección. Por otro lado, *Nigrospora sp.* es un hongo ubicuo que suele asociarse a manchas foliares y pudriciones postcosecha.

El reto metodológico radica en el balance entre desinfección y viabilidad. Pérez & Gómez (2020) advierten que el uso de agentes oxidantes fuertes (NaClO, H₂O₂) necesarios para eliminar estos endófitos incrementa exponencialmente la oxidación fenólica del tejido vegetal. Esto explica la necrosis observada en los tratamientos más concentrados en este estudio. Para mitigar este efecto, Ramírez et al. (2008) sugieren la adición de carbón activado al medio para adsorber fenoles, una estrategia que se implementó en los medios de cultivo pero que es necesario optimizar frente a agentes contaminantes como lo es *Fusarium sp.*

5.5 Estrategias de aclimatación para plántulas *in vitro* de *S. sonchifolius*

5.5.1 Desempeño morfométrico al finalizar la fase *in vitro* (40 días)

Al concluir el ciclo de 40 días en condiciones *in vitro*, se evaluó la tasa de supervivencia y el desarrollo morfológico de las plántulas aptas para iniciar el proceso de aclimatación.

Como se detalla en la **Tabla 5-13**, se observó una interacción favorable entre el protocolo de desinfección y el medio de cultivo en términos de supervivencia. El tratamiento combinado **DIII** (Propuesto) con el medio **MS-IV** (1.0mg L⁻¹ AIA y 1.0 mg L⁻¹ KIN) registró la mayor tasa de supervivencia con 26 plantas viables, seguido de la combinación **DIII – MS-I** (sin reguladores) con 25 supervivientes. Por el contrario, los tratamientos derivados del protocolo **DI** (Adaptado de Cabrera & Aliaga, 2019) presentaron las tasas de supervivencia más bajas, independientemente del balance hormonal utilizado, lo que reitera la

importancia de un protocolo de desinfección optimizado no solo para la limpieza inicial, sino para la viabilidad a largo plazo.

La **Tabla 5-13** resume las medidas morfométricas de las plantas que ingresaron a la fase de aclimatación. Se destaca que el protocolo de desinfección **DIII** (Propuesto) permitió obtener plantas con una altura promedio estable (6.0 – 6.7 cm) y un número de hojas consistente, factores clave para competencia fotosintética *ex vitro*.

Tabla 5-13 Desempeño de diferentes esquemas de desinfección en la supervivencia y crecimiento *in vitro* de *S. sonchifolius*

| Desinfección | Medio | n (Sobrevivientes) | Altura (cm) | Nº de Hojas | Nº de Brotos |
|------------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------|----------------|-----------------|
| DI (Cabrera & Aliaga) | MS-I a MS-V | 4-7 | 4.8 - 9.0 | 7.0 - 9.0 | 1.0 - 1.8 |
| DII (Araque et al.) | MS-I a MS-V | 13 - 26 | 5.2 - 7.5 | 7.8 - 9.8 | 1.3 - 1.7 |
| DIII (Propuesto) | MS-I | 25 | 6.72 | 8.20 | 1.44 |
| | MS-IV | 9 | 6.00 | 8.00 | 1.44 |
| | Promedio General | - | 6.01 | 8.33 | 1.49 |

El análisis de varianza (**Tabla 5-14**) reveló que tanto el tratamiento de desinfección ($F = 18.669$; $p - valor < 0.05$), como el tratamiento de propagación ($F = 9.835$;) ejercieron un efecto altamente significativo sobre el número de brotes formados. La interacción entre ambos factores estuvo en el límite de significancia ($p - valor = 0.0589$), lo que sugiere que actúan de manera independiente.

Tabla 5-14 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para las combinaciones de tratamientos de desinfección y medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de AIA y KIN para *S. sonchifolius* (Al finalizar el ciclo de condiciones *in vitro* (40 días)).

| Fuente de variación | gl | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F | p-valor |
|-----------------------------|-----|-------------------|----------------|--------|---------------------------------|
| Tratamiento de desinfección | 2 | 199.7 | 99.84 | 18.669 | 1.29×10⁻⁷ *** |
| Tratamiento de propagación | 4 | 210.4 | 52.60 | 9.835 | 9.46×10⁻⁷ *** |
| Interacción A×B | 7 | 75.9 | 10.84 | 2.027 | 0.0589 · |
| Residual | 100 | 534.8 | 5.35 | — | — |

Para determinar qué medio de cultivo favoreció la brotación, se realizó la prueba de comparación de medias (**Tabla 5-15**). Los resultados indican que el medio **MS-I** (Control sin hormonas o balance bajo) generó valores significativamente mayores en comparación con **MS-II**, **MS-III** y **MS-IV**. Esto es un hallazgo interesante, pues sugiere que, para esta etapa de desarrollo, el estrés causado por reguladores exógenos en ciertas concentraciones podría estar limitando la brotación en comparación con el medio basal, o que el medio **MS-I** permite un desarrollo más natural del explante.

Tabla 5 15 Comparaciones *post-hoc* (Tukey HSD) de los medios de cultivo *in vitro* para la introducción de *S. sonchifolius* sobre la variable del número de brotes

| Comparación | diff | lwr | upr | p adj |
|-----------------------|---------|---------|---------|------------------|
| MS-II – MS-I | -2.9067 | -4.9201 | -0.8932 | 0.0010862 |
| MS-III – MS-I | -3.1373 | -4.9245 | -1.3502 | 0.0000395 |
| MS-IV – MS-I | -3.3961 | -5.1639 | -1.6282 | 0.0000058 |
| MS-V – MS-I | -1.5701 | -3.4247 | 0.2846 | 0.1374695 |
| MS-III – MS-II | -0.2307 | -2.3042 | 1.8429 | 0.9979870 |
| MS-IV – MS-II | -0.4894 | -2.5463 | 1.5675 | 0.9641684 |
| MS-V – MS-II | 1.3366 | -0.7954 | 3.4686 | 0.4134956 |
| MS-IV – MS-III | -0.2587 | -2.0947 | 1.5773 | 0.9949574 |
| MS-V – MS-III | 1.5673 | -0.3525 | 3.4870 | 0.1640220 |
| MS-V – MS-IV | 1.8259 | -0.0758 | 3.7277 | 0.0661676 |

En el caso de los tratamientos de desinfección se encontró que los tratamientos **DII** y **DIII** mostraron una eficiencia significativamente mayor en la producción de brotes en comparación con **DI**, mientras que entre sí no presentaron diferencias estadísticas en esta fase de aclimatación.

Tabla 5-15 Comparaciones *post-hoc* (Tukey HSD) de los tratamientos de desinfección para la introducción de *S. sonchifolius* a condiciones *in vitro* sobre la variable del número de brotes

| Comparación | diff | lwr | upr | p adj |
|-------------------|---------|---------|---------|------------------|
| DII – DI | -2.9739 | -4.4822 | -1.4655 | 0.0000256 |
| DIII – DI | -3.9333 | -5.4677 | -2.3989 | 0.0000001 |
| DIII – DII | -0.9595 | -2.0847 | 0.1658 | 0.1106 |

5.5.2 Fase de Aclimatación y Endurecimiento

La **Figura 5-10** ilustra la producción total de brotes acumulados por tratamiento en los dos ambientes de aclimatación evaluados (Fitotrón vs Invernadero). Se observa una tendencia numérica donde el tratamiento **MS-H6** (2.0 mg L⁻¹ BAP y 3.0 mg L⁻¹ KIN) acumuló la mayor cantidad absoluta de brotes en el Fitotrón.

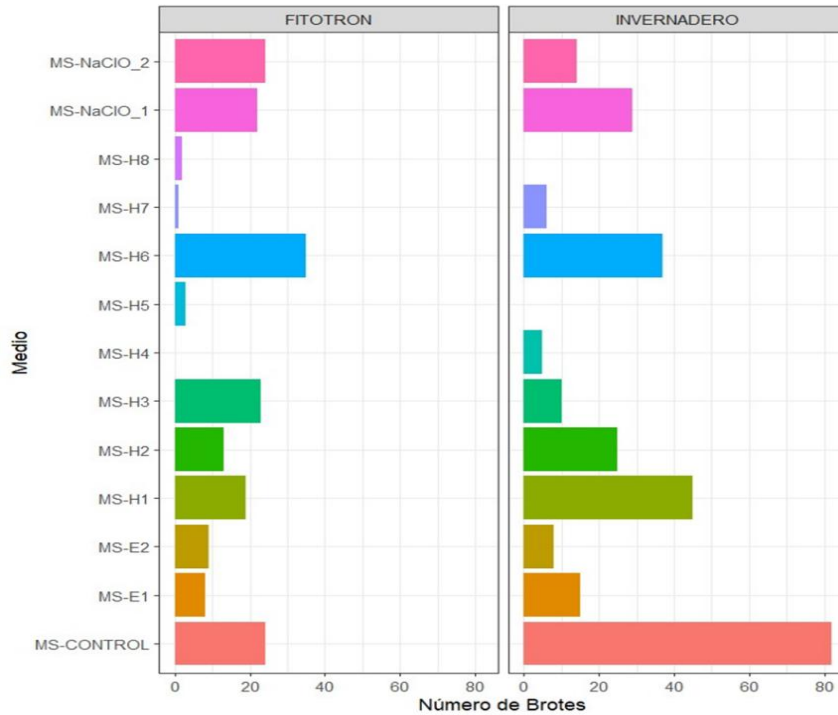


Figura 5-10. Suma total de brotes por tratamiento hormonal bajo condiciones de Fitotrón e Invernadero.

El análisis de varianza ANOVA (**Tabla 5-16**) determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas en el número de brotes durante la aclimatación. Ni el ambiente de endurecimiento ($p = 0.0939$), ni el medio de propagación ($p = 0.0835$), ni su interacción ($p = 0.8074$) afectaron significativamente la variable.

Tabla 5-16 Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para la evaluación del efecto de los tratamientos de endurecimiento y los medios de propagación (BAP×KIN) sobre la variable número de brotes.

| Fuente de Variación | GL (Df) | Suma de Cuadrados (Sum Sq) | Cuadrados Medios (Mean Sq) | Valor F | Valor p (Pr > F) |
|-------------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|---------|------------------|
| Tratamiento de endurecimiento | 1 | 27.0 | 27.015 | 2.908 | 0.0939 |
| Medio de propagación | 10 | 166.9 | 16.685 | 1.796 | 0.0835 |
| Interacción | 7 | 34.5 | 4.930 | 0.531 | 0.8074 |
| Residuales | 54 | 501.6 | 9.289 | - | - |

Aunque el ANOVA no muestra diferencias significativas, la observación biológica sugiere que ciertos tratamientos mantuvieron mayor vigor fisiológico, especialmente bajo condiciones de invernadero. Valdivia et al. (2025) plantean que la persistencia de brotes axilares funciona como un indicador de competencia post-*in-vitro*. En su estudio con *Rubus spp.*, la plantas con mayor proliferación de brotes correlacionaron con cutículas más gruesas y mejor regulación estomática.

En el caso de *S. sonchifolius*, el hecho de que no haya diferencias significativas implica que las plantas provenientes de diferentes tratamientos hormonales lograron adaptarse con una eficiencia similar al estrés del trasplante. Esto valida el protocolo de endurecimiento, sugiriendo que la supervivencia en esta etapa depende más del manejo ambiental (humedad, sustrato, luminosidad) que del historial hormonal previo, siempre y cuando las plantas lleguen con un sistema radicular y foliar funcional.

5.5.3 Tasa de propagación *in vitro* de *S. sonchifolius*.

En relación a la tasa de propagación (**Tabla 5-17**) para las combinaciones entre tratamientos de desinfección y medios con reguladores de crecimiento (AIA ×KIN) mostraron variaciones importantes en la tasa de multiplicación. Los valores más altos se obtuvieron en el tratamiento **DII**, particularmente cuando se combinó con los medios **MS-**

IV y **MS-V**, alcanzando tasas promedio de **6.33** y **5.50** plántulas, respectivamente por planta madre. Pero el tratamiento que mejor desempeño tuvo en terminos de número de brotes, teniendo en cuenta los análisis anteriores fue el tratamiento **DIII – MS I** con una tasa menor de **4** plántulas.

Tabla 5-17 Tasa de propagación final sets de tratamientos hormonales y protocolos de desinfección para la introducción *in vitro* de *S. sonchifolius*

| Tratamiento de desinfección | Tratamiento de propagación | Tasa de propagación |
|-----------------------------|----------------------------|---------------------|
| DI | MS-I | 1.00 |
| DI | MS-II | 2.00 |
| DI | MS-III | 2.00 |
| DI | MS-IV | 0.20 |
| DI | MS-V | 3.50 |
| DII | MS-I | 2.75 |
| DII | MS-II | 3.00 |
| DII | MS-III | 1.33 |
| DII | MS-IV | 6.33 |
| DII | MS-V | 5.50 |
| DIII | MS-I | 4.00 |
| DIII | MS-II | 1.00 |
| DIII | MS-III | 3.20 |
| DIII | MS-IV | 3.00 |
| DIII | MS-V | 1.00 |

En los medios de propagación (BAP×KIN) evaluados (**Tabla 5-18**), el medio **MS-CONTROL** presentó la mayor tasa final de propagación (**5.25**) superando ampliamente a los tratamientos de balance hormonal. Entre estos, **MS-H1** y **MS-H2** mostraron los mejores resultados (2.0), seguido por **MS-H3** (1.33), mientras que el resto registró tasas muy bajas (≤ 0.75). Esto indica que dichas combinaciones hormonales no favorecieron la supervivencia final de las plántulas y que, en esta fase, el material vegetal respondió mejor sin reguladores de crecimiento, en concordancia con lo reportado por Cabrera & Aliga (2019).

Tabla 5-18 Tasa de propagación final para los medios de propagación (BAP×KIN) *in vitro* de *S. sonchifolius*

| Medio | Plantas madre (n) | Plántulas sembradas | Plántulas finales | Tasa final (final / madre) |
|------------|-------------------|---------------------|-------------------|----------------------------|
| MS-CONTROL | 8 | 48 | 42 | 5.25 |
| MS-H1 | 3 | 30 | 6 | 2.00 |
| MS-H2 | 3 | 30 | 6 | 2.00 |
| MS-H3 | 3 | 30 | 4 | 1.33 |
| MS-H4 | 4 | 30 | 1 | 0.25 |
| MS-H5 | 5 | 30 | 0 | 0.00 |
| MS-H6 | 4 | 30 | 3 | 0.75 |
| MS-H7 | 5 | 30 | 2 | 0.40 |
| MS-H8 | 5 | 30 | 1 | 0.20 |
| MS-H9 | 4 | 30 | 0 | 0.00 |

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

- Se determinó que la interacción entre el protocolo de desinfección y el medio de cultivo es determinante para el éxito del establecimiento *in vitro*. El protocolo de doble desinfección propuesto (**DIII**) en combinación con el medio **MS-I** (libre de reguladores de crecimiento o con bajo balance) demostró ser la estrategia más eficiente, alcanzando las mayores tasas de supervivencia y número de brotes. Esto sugiere que reducir el estrés químico inicial favorece la recuperación del explante y su vigor morfogénico.
- En la fase de multiplicación, se identificó que la contaminación bacteriana endógena constituye la principal limitante biológica, reduciendo significativamente la tasa de brotación independientemente del balance hormonal empleado. Aunque los tratamientos con altas concentraciones de citoquininas (BAP/KIN) estimularon la proliferación de brotes aéreos, estos inhibieron la rizogénesis, lo que impide la obtención de plántulas completas funcionales para la base de aclimatación bajo los protocolos evaluados.
- La incorporación de agentes desinfectantes en el medio de cultivo (Estreptomicina o NaClO) demostró ser eficaz para la supresión de contaminantes persistentes. Sin embargo, su uso debe restringirse a estrategias de rescate de germoplasma y no como protocolo de propagación masiva estándar, dado que se evidenciaron efectos de fitotoxicidad (necrosis radicular) que, si bien no detuvieron la emisión de brotes, comprometen la calidad integral del sistema radicular.
- El proceso de endurecimiento validó la robustez del protocolo desarrollado. El análisis estadístico confirmó que no existieron diferencias significativas en el desempeño de las plántulas provenientes de distintos tratamientos hormonales previos. Esto indica que las condiciones de endurecimiento empleadas no modificaron negativamente el potencial vegetativo, garantizando que el material propagado mantiene su calidad agronómica al ser transferido a condiciones *ex vitro*.

- Se estableció que el manejo fitosanitario de las plantas madre en invernadero constituye el punto crítico de control primario del proceso. La alta incidencia de insectos vectores (*Trialeurodes vaporariorum*) y la viabilidad ambiental afectan directamente la disponibilidad y sanidad de los explantes. Por tanto, la estandarización de la micropropagación de *S. sonchifolius* depende, en primera instancia, de garantizar la calidad sanitaria del material donante mediante estrategias de manejo integrado de plagas rigurosas.

6.2 Recomendaciones

- Evaluar métodos para mejorar los procesos de aclimatación, principalmente asociados a el manejo de las condiciones de humedad y luminosidad en invernadero. Teniendo en cuenta que si bien, este método de aclimatación no mostró efectos significativos sobre la calidad del material vegetal propagado, en términos de espacio puede ser la alternativa más adecuada para volúmenes de producción mayores.
- Fortalecer los procesos de selección y estandarización del material vegetal para la micropropagación de *S. sonchifolius*. Se recomienda que futuras investigaciones definan criterios objetivos, medibles y replicables para la selección de plantas madre y explantes, a fin de minimizar la variabilidad asociada a la calidad del material entregado y garantizar condiciones homogéneas de partida.
- Explorar protocolos orientados específicamente a la inducción y multiplicación de yemas axilares, más que de brotes elongados, dado que las yemas suelen presentar mayor estabilidad, uniformidad y eficiencia para la propagación masiva. La optimización de este tipo de explantes podría mejorar significativamente el rendimiento del cultivo *in vitro* de *S. sonchifolius*.
- Evaluar la efectividad de los benzimidazoles en el proceso, pues tienden a ser sustancias que son de difícil manejo y adicionalmente en algunos casos se ha registrado resistencia en hongos patógenos (Yin et al., 2023)

A. Anexo: Análisis estadístico

Prueba Post Hoc para el análisis de combinaciones de tratamientos de medios de cultivo y tratamientos de desinfección superficial para la introducción de material vegetal

| | diff | lwr | upr | p_Adj |
|----------------------|----------|------------|------------|-----------|
| DII:MS-I-DI:MS-I | 2,08E-02 | -0,8289121 | 0,87057877 | 1 |
| DIII:MS-I-DI:MS-I | 5,63E-01 | -0,2670105 | 1,3920105 | 0,5821371 |
| DI:MS-II-DI:MS-I | 1,04E-01 | -0,7846677 | 0,99300106 | 1 |
| DII:MS-II-DI:MS-I | 1,25E-01 | -0,7493808 | 0,99938084 | 1 |
| | -2,52E- | | | |
| DIII:MS-II-DI:MS-I | 01 | -1,0960136 | 0,59263517 | 0,9995474 |
| | -4,96E- | | | |
| DI:MS-III-DI:MS-I | 01 | -1,3846677 | 0,39300106 | 0,8513971 |
| | -3,13E- | | | |
| DII:MS-III-DI:MS-I | 02 | -0,9056308 | 0,84313084 | 1 |
| | -6,25E- | | | |
| DIII:MS-III-DI:MS-I | 02 | -0,9513344 | 0,82633439 | 1 |
| | -6,25E- | | | |
| DI:MS-IV-DI:MS-I | 02 | -0,9239263 | 0,79892633 | 1 |
| DII:MS-IV-DI:MS-I | 2,71E-01 | -0,5968981 | 1,13856479 | 0,99924 |
| | -1,63E- | | | |
| DIII:MS-IV-DI:MS-I | 01 | -1,0513344 | 0,72633439 | 0,9999989 |
| DI:MS-V-DI:MS-I | 3,13E-01 | -0,5618808 | 1,18688084 | 0,9967279 |
| DII:MS-V-DI:MS-I | 2,38E-01 | -0,6513344 | 1,12633439 | 0,9998733 |
| DIII:MS-V-DI:MS-I | 1,80E-01 | -0,6878072 | 1,0476557 | 0,9999944 |
| DIII:MS-I-DII:MS-I | 5,42E-01 | -0,2618339 | 1,34516721 | 0,5922905 |
| DI:MS-II-DII:MS-I | 8,33E-02 | -0,7812776 | 0,94794425 | 1 |
| DII:MS-II-DII:MS-I | 1,04E-01 | -0,7455788 | 0,9539121 | 1 |
| | -2,73E- | | | |
| DIII:MS-II-DII:MS-I | 01 | -1,0913076 | 0,5462626 | 0,9984603 |
| | -5,17E- | | | |
| DI:MS-III-DII:MS-I | 01 | -1,3812776 | 0,34794425 | 0,7749726 |
| | -5,21E- | | | |
| DII:MS-III-DII:MS-I | 02 | -0,9018288 | 0,7976621 | 1 |
| | -8,33E- | | | |
| DIII:MS-III-DII:MS-I | 02 | -0,9479443 | 0,78127758 | 1 |
| | -8,33E- | | | |
| DI:MS-IV-DII:MS-I | 02 | -0,9197428 | 0,75307612 | 1 |
| DII:MS-IV-DII:MS-I | 2,50E-01 | -0,5929017 | 1,09290174 | 0,9995727 |
| | -1,83E- | | | |
| DIII:MS-IV-DII:MS-I | 01 | -1,0479443 | 0,68127758 | 0,9999926 |
| DI:MS-V-DII:MS-I | 2,92E-01 | -0,5580788 | 1,1414121 | 0,997859 |

| | | | | |
|-----------------------|----------|------------|------------|-----------|
| DII:MS-V-DII:MS-I | 2,17E-01 | -0,6479443 | 1,08127758 | 0,9999413 |
| DIII:MS-V-DII:MS-I | 1,59E-01 | -0,6838108 | 1,00199265 | 0,9999983 |
| | -4,58E- | | | |
| DI:MS-II-DIII:MS-I | 01 | -1,3030655 | 0,38639881 | 0,876179 |
| | -4,38E- | | | |
| DII:MS-II-DIII:MS-I | 01 | -1,2670105 | 0,3920105 | 0,8981094 |
| | -8,14E- | | | |
| DIII:MS-II-DIII:MS-I | 01 | -1,6119545 | -0,0164239 | 0,040097 |
| | - | | | |
| DI:MS-III-DIII:MS-I | 1,06E+00 | -1,9030655 | -0,2136012 | 0,0021669 |
| | -5,94E- | | | |
| DII:MS-III-DIII:MS-I | 01 | -1,4232605 | 0,2357605 | 0,4860402 |
| | -6,25E- | | | |
| DIII:MS-III-DIII:MS-I | 01 | -1,4697321 | 0,21973214 | 0,4262963 |
| | -6,25E- | | | |
| DI:MS-IV-DIII:MS-I | 01 | -1,4408438 | 0,19084382 | 0,3645655 |
| | -2,92E- | | | |
| DII:MS-IV-DIII:MS-I | 01 | -1,1141651 | 0,53083178 | 0,9969834 |
| | -7,25E- | | | |
| DIII:MS-IV-DIII:MS-I | 01 | -1,5697321 | 0,11973214 | 0,1881935 |
| | -2,50E- | | | |
| DI:MS-V-DIII:MS-I | 01 | -1,0795105 | 0,5795105 | 0,9994873 |
| | -3,25E- | | | |
| DII:MS-V-DIII:MS-I | 01 | -1,1697321 | 0,51973214 | 0,9931015 |
| | -3,83E- | | | |
| DIII:MS-V-DIII:MS-I | 01 | -1,2050742 | 0,43992269 | 0,9611523 |
| DII:MS-II-DI:MS-II | 2,08E-02 | -0,8680011 | 0,90966773 | 1 |
| | -3,56E- | | | |
| DIII:MS-II-DI:MS-II | 01 | -1,2151395 | 0,50342777 | 0,9860304 |
| | -6,00E- | | | |
| DI:MS-III-DI:MS-II | 01 | -1,5030567 | 0,30305665 | 0,6169966 |
| | -1,35E- | | | |
| DII:MS-III-DI:MS-II | 01 | -1,0242511 | 0,75341773 | 0,9999999 |
| | -1,67E- | | | |
| DIII:MS-III-DI:MS-II | 01 | -1,0697233 | 0,73638998 | 0,9999987 |
| | -1,67E- | | | |
| DI:MS-IV-DI:MS-II | 01 | -1,0427603 | 0,70942697 | 0,9999981 |
| DII:MS-IV-DI:MS-II | 1,67E-01 | -0,7156273 | 1,04896062 | 0,9999983 |
| | -2,67E- | | | |
| DIII:MS-IV-DI:MS-II | 01 | -1,1697233 | 0,63638998 | 0,9995936 |
| DI:MS-V-DI:MS-II | 2,08E-01 | -0,6805011 | 1,09716773 | 0,9999741 |
| DII:MS-V-DI:MS-II | 1,33E-01 | -0,7697233 | 1,03638998 | 0,9999999 |
| DIII:MS-V-DI:MS-II | 7,58E-02 | -0,8065364 | 0,95805152 | 1 |
| | -3,77E- | | | |
| DIII:MS-II-DII:MS-II | 01 | -1,2210136 | 0,46763517 | 0,9727219 |
| | -6,21E- | | | |
| DI:MS-III-DII:MS-II | 01 | -1,5096677 | 0,26800106 | 0,5300096 |

| | | | | | |
|------------------------|----------|------------|------------|-----------|--|
| | | -1,56E- | | | |
| DII:MS-III-DII:MS-II | 01 | -1,0306308 | 0,71813084 | 0,9999992 | |
| | | -1,88E- | | | |
| DIII:MS-III-DII:MS-II | 01 | -1,0763344 | 0,70133439 | 0,9999931 | |
| | | -1,88E- | | | |
| DI:MS-IV-DII:MS-II | 01 | -1,0489263 | 0,67392633 | 0,9999897 | |
| DII:MS-IV-DII:MS-II | 1,46E-01 | -0,7218981 | 1,01356479 | 0,9999996 | |
| | | -2,88E- | | | |
| DIII:MS-IV-DII:MS-II | 01 | -1,1763344 | 0,60133439 | 0,9988721 | |
| DI:MS-V-DII:MS-II | 1,88E-01 | -0,6868808 | 1,06188084 | 0,9999915 | |
| DII:MS-V-DII:MS-II | 1,13E-01 | -0,7763344 | 1,00133439 | 1 | |
| DIII:MS-V-DII:MS-II | 5,49E-02 | -0,8128072 | 0,9226557 | 1 | |
| | | -2,44E- | | | |
| DI:MS-III-DIII:MS-II | 01 | -1,1034278 | 0,61513948 | 0,9997394 | |
| DII:MS-III-DIII:MS-II | 2,20E-01 | -0,6238852 | 1,06476355 | 0,9999039 | |
| DIII:MS-III-DIII:MS-II | 1,89E-01 | -0,6700944 | 1,04847281 | 0,9999881 | |
| DI:MS-IV-DIII:MS-II | 1,89E-01 | -0,6417122 | 1,02009056 | 0,9999819 | |
| DII:MS-IV-DIII:MS-II | 5,23E-01 | -0,3149138 | 1,35995888 | 0,7160122 | |
| DIII:MS-IV-DIII:MS-II | 8,92E-02 | -0,7700944 | 0,94847281 | 1 | |
| DI:MS-V-DIII:MS-II | 5,64E-01 | -0,2801352 | 1,40851355 | 0,6073557 | |
| DII:MS-V-DIII:MS-II | 4,89E-01 | -0,3700944 | 1,34847281 | 0,8310766 | |
| DIII:MS-V-DIII:MS-II | 4,32E-01 | -0,4058229 | 1,26904979 | 0,9136009 | |
| DII:MS-III-DI:MS-III | 4,65E-01 | -0,4242511 | 1,35341773 | 0,904406 | |
| DIII:MS-III-DI:MS-III | 4,33E-01 | -0,4697233 | 1,33638998 | 0,9499423 | |
| DI:MS-IV-DI:MS-III | 4,33E-01 | -0,4427603 | 1,30942697 | 0,9365061 | |
| DII:MS-IV-DI:MS-III | 7,67E-01 | -0,1156273 | 1,64896062 | 0,1724452 | |
| DIII:MS-IV-DI:MS-III | 3,33E-01 | -0,5697233 | 1,23638998 | 0,9954437 | |
| DI:MS-V-DI:MS-III | 8,08E-01 | -0,0805011 | 1,69716773 | 0,1214878 | |
| DII:MS-V-DI:MS-III | 7,33E-01 | -0,1697233 | 1,63638998 | 0,2677436 | |
| DIII:MS-V-DI:MS-III | 6,76E-01 | -0,2065364 | 1,55805152 | 0,3649485 | |
| DIII:MS-III-DII:MS-III | 02 | -0,9200844 | 0,85758439 | 1 | |
| | | -3,13E- | | | |
| DI:MS-IV-DII:MS-III | 02 | -0,8926763 | 0,83017633 | 1 | |
| DII:MS-IV-DII:MS-III | 3,02E-01 | -0,5656481 | 1,16981479 | 0,9975134 | |
| DIII:MS-IV-DII:MS-III | 01 | -1,0200844 | 0,75758439 | 0,9999999 | |
| DI:MS-V-DII:MS-III | 3,44E-01 | -0,5306308 | 1,21813084 | 0,9914792 | |
| DII:MS-V-DII:MS-III | 2,69E-01 | -0,6200844 | 1,15758439 | 0,9994681 | |
| DIII:MS-V-DII:MS-III | 2,11E-01 | -0,6565572 | 1,0789057 | 0,9999589 | |
| | | -2,00E- | | | |
| DI:MS-IV-DIII:MS-III | 15 | -0,8760936 | 0,87609363 | 1 | |
| DII:MS-IV-DIII:MS-III | 3,33E-01 | -0,5489606 | 1,21562728 | 0,9942409 | |

| | | | | |
|------------------------|-----------|------------|------------|-----------|
| DIII:MS-IV-DIII:MS-III | -1,00E-01 | -1,0030567 | 0,80305665 | 1 |
| DI:MS-V-DIII:MS-III | 3,75E-01 | -0,5138344 | 1,26383439 | 0,9834182 |
| DII:MS-V-DIII:MS-III | 3,00E-01 | -0,6030567 | 1,20305665 | 0,9984916 |
| DIII:MS-V-DIII:MS-III | 2,42E-01 | -0,6398697 | 1,12471819 | 0,9998238 |
| DII:MS-IV-DI:MS-IV | 3,33E-01 | -0,5213428 | 1,18800951 | 0,9921157 |
| DIII:MS-IV-DI:MS-IV | -1,00E-01 | -0,9760936 | 0,77609363 | 1 |
| DI:MS-V-DI:MS-IV | 3,75E-01 | -0,4864263 | 1,23642633 | 0,9780082 |
| DII:MS-V-DI:MS-IV | 3,00E-01 | -0,5760936 | 1,17609363 | 0,9979121 |
| DIII:MS-V-DI:MS-IV | 2,42E-01 | -0,6122519 | 1,09710041 | 0,9997445 |
| DIII:MS-IV-DII:MS-IV | -4,33E-01 | -1,3156273 | 0,44896062 | 0,9398745 |
| DI:MS-V-DII:MS-IV | 4,17E-02 | -0,8260648 | 0,90939813 | 1 |
| DII:MS-V-DII:MS-IV | -3,33E-02 | -0,9156273 | 0,84896062 | 1 |
| DIII:MS-V-DII:MS-IV | -9,09E-02 | -0,9519398 | 0,77012164 | 1 |
| DI:MS-V-DIII:MS-IV | 4,75E-01 | -0,4138344 | 1,36383439 | 0,8883322 |
| DII:MS-V-DIII:MS-IV | 4,00E-01 | -0,5030567 | 1,30305665 | 0,9743791 |
| DIII:MS-V-DIII:MS-IV | 3,42E-01 | -0,5398697 | 1,22471819 | 0,9924842 |
| DII:MS-V-DI:MS-V | -7,50E-02 | -0,9638344 | 0,81383439 | 1 |
| DIII:MS-V-DI:MS-V | -1,33E-01 | -1,0003072 | 0,7351557 | 0,9999999 |
| DIII:MS-V-DII:MS-V | -5,76E-02 | -0,9398697 | 0,82471819 | 1 |

Número de sobrevivientes y medias de las variables de las plántulas que entraron al proceso de aclimatación de *S.sonchifolius* según el tratamiento de desinfección y el medio de propagación

| Tratamiento de desinfección | Trat. propagación | n | Altura (cm) | Nº de hojas | Nº de brotes |
|--|-------------------|----|-------------|-------------|--------------|
| Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-I | 4 | 9.00 | 7.00 | 1.25 |
| Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-II | 5 | 6.40 | 8.40 | 1.80 |
| Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-III | 5 | 5.40 | 9.00 | 1.60 |
| Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-IV | 1 | 6.00 | 7.00 | 1.00 |
| Adaptado de Cabrera & Aliaga (2019) | MS-V | 7 | 4.86 | 7.71 | 1.29 |
| Adaptado de Araque et al. (20218) | MS-I | 18 | 6.56 | 9.83 | 1.72 |
| Adaptado de Araque et al. (20218) | MS-II | 13 | — | 7.85 | 1.62 |
| Adaptado de Araque et al. (20218) | MS-III | 15 | 7.47 | 9.27 | 1.67 |
| Adaptado de Araque et al. (20218) | MS-IV | 26 | 5.27 | 8.85 | 1.35 |
| Adaptado de Araque et al. (20218) | MS-V | 19 | 6.32 | 8.84 | 1.42 |
| Propuesto | MS-I | 25 | 6.72 | 8.20 | 1.44 |
| Propuesto | MS-II | 12 | 5.92 | 8.83 | 1.42 |
| Propuesto | MS-III | 19 | 5.21 | 7.63 | 1.63 |
| Propuesto | MS-IV | 9 | 6.00 | 8.00 | 1.44 |
| Propuesto | MS-V | 7 | 6.14 | 9.00 | 1.57 |

B. Anexo: Resultado del filtrado documental de literatura científica por preguntas orientadoras (modelo PRISMA adaptado) de *S. sonchifolius*

| N | PREGUNTA | ESTADO | OBJETIVO ESPECIFICO | ESTRATEGIA DE BUSQUEDA | BASES DE DATOS | CIFRAS DE LOS ARTICULOS | AUTORES INCLUIDOS | CRITERIO DE EXCLUSIÓN |
|---|--|----------|---|--|---|---|--|--|
| 1 | ¿Cuál es el estado de conocimiento sobre la propagación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> y cuáles son los protocolos más eficaces descritos hasta el momento? | Resuelta | Identificar y analizar protocolos de cultivo <i>in vitro</i> existentes para yacón, con énfasis en eficiencia, tipos de explante, condiciones de crecimiento. | ("Smallanthus sonchifolius" OR "yacón") AND ("in vitro propagation" OR micropropagation OR "in vitro culture") AND (protocols OR procedures OR methods) | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 Registros excluidos (por título/resumen): 18 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 4 | (Corrêa et al., 2009) (Kiszcza et al., 2022) (Skalova et al., 2013) (Niwa, Y. et al., 2002) Hamada, T. et al., 1990) | Artículos que incluyan otras especies diferentes a <i>Smallanthus sonchifolius</i> Literatura gris Posters, resúmenes de congreso Artículos que no mencionen el desarrollo de técnicas <i>in vitro</i> . |
| 2 | ¿Qué medios de cultivo han sido utilizados para la generación de plantas a partir de diferentes tipos de explantes de yacón (<i>S. sonchifolius</i>) | Resuelta | Analizar los tipos de medios de cultivo, reguladores de crecimiento o complementos para la optimización de medios. | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon OR yacón) AND (explant OR "shoot tip" OR leaf OR node OR "stem segment" OR "axillary bud") AND ("culture medium" OR "MS medium" OR "Murashige and Skoog" OR | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 | (Corrêa et al., 2009) (Kiszcza et al., 2022) (Skalova et al., 2013) (Niwa, Y. et al., 2002) Hamada, T. et al., 1990) | Artículos que incluyan otras especies diferentes a <i>S. sonchifolius</i> Literatura gris Posters, resúmenes de congreso Artículos que no mencionen el desarrollo de técnicas <i>in vitro</i> . |

| | | | | | | | | |
|---|---|-----------------|--|--|---|--|---|---|
| | | | | regeneration OR multiplication OR rooting OR callus) | | Registros excluidos (por título/resumen): 18 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 4 | | |
| 3 | ¿Qué tipos de explantes se han utilizado en protocolos de propagación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> y cuál es la eficiencia regenerativa? | Resuelta | Analizar la eficiencia de los tipos de explantes comparativamente. | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon OR yacón) AND (explant OR "shoot tip" OR leaf OR node OR petiole OR "axillary bud") AND (regeneration OR "regeneration efficiency" OR multiplication OR rooting) | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 Registros excluidos (por título/resumen): 18 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 4 | (Corrêa et al., 2009) (Kiszczak et al., 2022) (Skalova et al., 2013) (Niwa, Y. et al., 2002) Hamada, T. et al., 1990) | Estudios que no reporten el tipo de explante Estudios que no reporten datos de eficiencia cuantificados Estudios que no incluyan datos originales |
| 4 | ¿Cuáles son los principales factores que afectan la eficiencia de la propagación <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> ? | Resuelta | El tipo de explante La composición química del cultivo Reguladores de crecimiento (tipo y concentración) Condiciones ambientales (fotoperiodo, luz, temperatura) Tiempo de cultivo Contaminación Factores genotípicos o somaclonales | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon OR yacón) AND ("in vitro propagation" OR micropropagation OR regeneration) AND (factors OR influence OR efficiency OR contamination OR necrosis OR genotype OR "media composition" OR light | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 | (Corrêa et al., 2009) (Kiszczak et al., 2022) (Skalova et al., 2013) (Niwa, Y. et al., 2002) Hamada, T. et al., 1990) | Estudios que no evalúan factores asociados a eficiencia Revisiones teóricas sin datos propios Estudios centrados en metabólica/fisiología sin regeneración Estudios sobre otras especies |

| | | | | | | | | |
|---|--|-----------------|--|--|---|--|---|---|
| | | | | OR photoperiod OR hormonas) | | Registros excluidos (por título/resumen): 18 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 4 | | |
| 5 | ¿Qué metodologías se han utilizado para la aclimatación <i>ex vitro</i> de plantas regeneradas <i>in vitro</i> de <i>S. sonchifolius</i> y cuáles han sido las más exitosas? | Resuelta | Analizar los métodos, qué factores ambientales asociados (temperatura, Humedad, fotoperiodo, sustratos) | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón OR yacon) AND("in vitro" OR micropropagation OR regeneration) AND ("acclimatization" OR "aclimatación ex vitro" OR "hardening off" OR "plant survival" OR "transplantation") ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón) AND ("cultivo in vitro" OR regeneración) AND ("aclimatación ex vitro" OR endurecimiento OR supervivencia) | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 Registros excluidos (por título/resumen): 18 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 4 | (Corrêa et al., 2009) (Kiszczak et al., 2022) (Niwa, Y. et al., 2002) Hamada, T. et al., 1990) | Estudios que no mencionen etapas de aclimatación Artículos sin datos experimentales Artículos que hablen sobre otras especies Literatura gris, resúmenes, tesis Artículos Duplicados Artículos sin acceso completo |
| 6 | ¿Qué variedades o cultivares se han utilizado como modelo para evaluar la aplicabilidad agronómica del <i>S. sonchifolius</i> ? | Resuelta | Determinar si se han utilizado cultivares caracterizados para evaluar rendimiento agronómico o efectos funcionales | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón OR yacon) AND (variet OR cultivar OR clone OR germplasm OR "genetic diversity") AND (field trial OR agronomic OR production OR yield OR evaluation) | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 38 Eliminados (duplicados): 12 Registro para lectura general (título y resumen): 26 | (Viehmanna et al., 2014) (Skalova et al., 2013) | Artículos que no sólo evalúen conservación <i>in vitro</i> sin análisis genético. Artículos que hablen de otras especies. Artículos que evalúen compuestos químicos, pero no mencionen |

| | | | | | | | | |
|---|--|-----------------|---|---|---|--|---|---|
| | | | | AND ("in vitro" OR micropropagation OR "tissue culture") | | Registros excluidos (por título/resumen): 36 Registro para lectura completa (texto integral): 2 Estudios incluidos: 2 | | resultados en propagación vegetal. Artículos sin acceso a texto completo Literatura gris no autorizada. |
| 7 | ¿Qué factores genéticos se han relacionado con la variabilidad de <i>S. sonchifolius</i> en cultivo <i>in vitro</i> ? | Resuelta | Identificar genes, regiones genómicas o patrones de polimorfismo asociados con regeneración y respuesta <i>in vitro</i> | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon) AND (genetic OR somaclonal OR molecular) AND (variability OR variation OR stability) AND ("in vitro" OR micropropagation OR regeneration) AND (marker OR ISSR OR RAPD OR AFLP OR cytometry OR polymorphism) | SCOPUS ScienceDirect SpringerLink | Total, de registros encontrados (identificación): 2 Eliminados (duplicados): 1 Registro para lectura general (título y resumen): 1 Registros excluidos (por título/resumen): 1 Registro para lectura completa (texto integral): 1 Estudios incluidos: 1 | (Viehmanna et al., 2014) | Artículos que no sólo evalúen conservación <i>in vitro</i> sin análisis genético. Artículos que hablen de otras especies. Artículos que evalúen compuestos químicos, pero no mencionen resultados en propagación vegetal. Artículos sin acceso a texto completo Literatura gris no autorizada. |
| 8 | ¿Cuáles son los beneficios nutricionales de <i>S. sonchifolius</i> y su aplicabilidad en diferentes especies incluyendo humanos? | Resuelta | Compilar evidencia clínica experimental sobre efectos dietarios positivos del yacón | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon) AND (nutrition OR dietary OR nutraceutical OR prebiotic OR supplement) AND (human OR animal OR rat OR mice OR guinea pig OR pig) AND (effects OR metabolism OR glycemia OR | PubMed Scopus ScienceDirect SciELO Redalyc GoogleScholar | Total, de registros encontrados (identificación): 6 Eliminados (duplicados): 1 Registro para lectura general (título y resumen): 7 | (Genta et al., 2009) (Campos et al., 2012) (Silva et al., 2024) (Grancieri et al., 2023) (Pereira et al., 2025) | Artículos que solo evalúen efectos tóxicos sin aporte a datos nutricionales. Artículos narrativos sin bases experimentales ni análisis cuantitativos. Artículos con investigación |

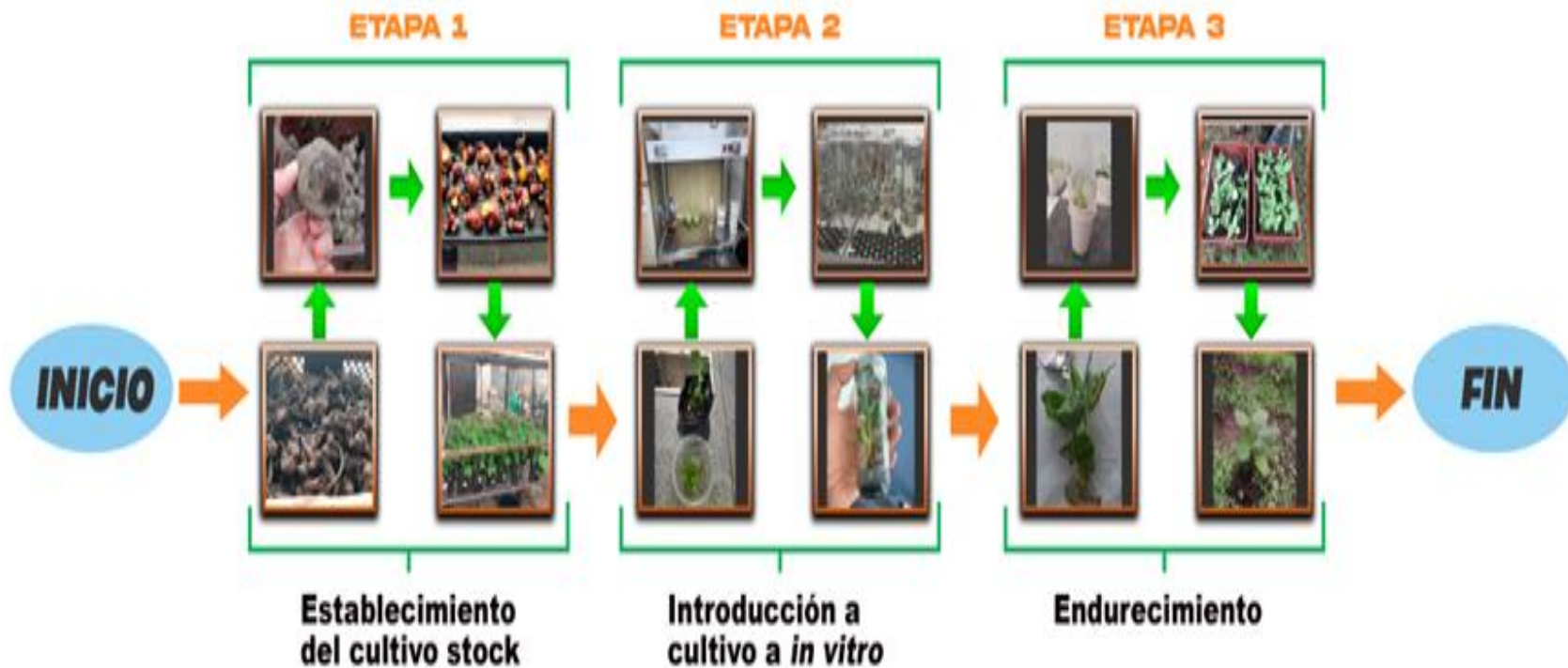
| | | | | | | | | |
|---|---|-----------------|---|---|---|---|---|---|
| | | | | microbiota OR insulin OR lipids) ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón) AND (nutrición OR alimento OR prebiótico OR suplemento) AND (humano OR animal OR rata OR ratón OR cerdo OR especie modelo) AND (efectos OR metabolismo OR glucemia OR microbiota OR lípidos) | | Registros excluidos (por título/resumen): 1 Registro para lectura completa (texto integral): 6 Estudios incluidos: 5 | | enfocada en propiedades farmacológicas aisladas (Antitumorales, antivirales, sin contexto nutricional). Artículos que mencionen de forma marginal a <i>S. sonchifolius</i> pero no sea el enfoque central del estudio. Artículos con experimentos <i>in vitro</i> sin validación <i>in vivo</i> Literatura gris no aprobada. Artículos sin acceso completo. |
| 9 | ¿Qué compuestos antioxidantes han sido identificados en <i>S. sonchifolius</i> y cuáles son los mecanismos moleculares descritos para explicar su efecto? | Resuelta | Actividad asociada a Radicales Libres y compuestos con actividad antioxidante | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon AND antioxidant OR "free radical scavenging" DPPH AND (activity OR activities OR compound OR polyphenol OR phenolic OR flavonoid OR metabolite AND mechanism OR "mechanism of action" OR "oxidative stress") ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón) AND antioxidante OR "captura de radicales libres" OR DPPH | PubMed Scopus ScienceDirect SciELO Redalyc GoogleScholar | Total, de registros encontrados (identificación): 55 Eliminados (duplicados): 30 Registro para lectura general (título y resumen): 25 Registros excluidos (por título/resumen): 10 Registro para lectura completa (texto integral): 12 Estudios incluidos: 6 | (Valentova et al., 2003) (Arnao et al., 2011) Campos et al., 2012) (Biazon et al., 2016) (Yuan et al., 2022) (Tabarez-Arenas et al., 2025) | Artículos que mencionen actividad antioxidante pero no realicen evaluación experimental directa. Artículos con estudios descriptivos, etnobotánicos, agronómicos que no incluyan mecanismos antioxidantes. Artículos de tipo narrativo sin datos originales ni cuantitativos. |

| | | | | | | | | |
|----|---|----------|---|---|---|---|---|---|
| | | | | AND (actividad OR actividades OR compuestos OR polifenoles OR flavonoides OR metabolitos AND mecanismo OR "estrés oxidativo" OR "modulación") | | | | Artículos que evalúen compuestos individuales sintéticos del yacón sin relación con extractos reales de la planta Literatura gris no arbitrada salvo el incluido anteriormente Artículos sin acceso completo o sin transparencia metodológica |
| 10 | ¿Qué evidencias existe sobre la actividad antimicrobiana / antifúngica del <i>S.sonchifolius</i> y cómo se ha evaluado? | Resuelta | Revisión de artículos que abordan el efecto del yacón sobre microorganismos patógenos | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon) AND (antimicrobial OR antibacterial OR antifungal OR bactericidal OR fungicidal OR "antimicrobial activity") AND (in vitro) AND (assay OR "agar diffusion" OR "disc diffusion" OR "well diffusion" OR "MIC" OR "MBC" OR "minimum inhibitory concentration" OR "broth dilution") ("Smallanthus sonchifolius" OR yacón) AND (antimicrobiana OR antibacteriana OR antifúngica OR bactericida OR fungicida OR "actividad antimicrobiana")AND | PubMed Scopus ScienceDirect SciELO Redalyc GoogleScholar | Total, de registros encontrados (identificación): 45 Eliminados (duplicados): 10 Registro para lectura general (título y resumen): 35 Registros excluidos (por título/resumen):27 Registro para lectura completa (texto integral): 8 Estudios incluidos: 5 | (Lin et al., 2003) (Joung et al.,2010) (De Andrade et al., 2017) (Vieira et al., 2021) (Rismayuddin et al., 2023) | Revisiones que carezcan de soporte experimental cuantitativo. Artículos sin acceso completo. Artículos con mención, pero no profundidad sobre el efecto antimicrobiano. Artículos con ensayos <i>in silico</i> pero no <i>in vivo</i> ni <i>in vitro</i> . Artículos que no utilicen al yacón o a sus compuestos. |

| | | | | | | | | |
|----|---|-----------|--|--|--|---|--|--|
| | | | | (in vitro) AND (ensayo OR "difusión en agar" OR "difusión en disco" OR "difusión en pocillo" OR "CIM" OR "MBC" OR "concentración inhibitoria mínima" OR "dilución en caldo") | | | | |
| 11 | ¿Cuál es la utilidad del yacón en el desarrollo de productos nutraceuticos y farmaceuticos ? | Eliminada | Descripción de usos industriales de extractos, compuestos activos y desarrollos tecnológicos | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| 12 | ¿Qué estrategias de escalamiento o de transferencia tecnológica se reportan para el cultivo de <i>S. sonchifolius</i> ? | Resuelta | Identificación de procesos de validación productiva y adopción a mayor escala del cultivo | ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon) AND ("technology transfer" OR "industrial-scale" OR "pilot scale" OR "techno-functional development") AND ("functional food" OR nutraceutical OR product development) ("Smallanthus sonchifolius" OR yacon) AND ("transferencia tecnológica" OR "escala industrial" OR "escalamiento" OR "tecnología agroalimentaria") AND ("producto funcional" OR "nutracéutico") | Google Scholar Repositorios Institucionales Universitarios | Total, de registros encontrados (identificación): 17 Eliminados (duplicados): 0 Registro para lectura general (título y resumen): 7 Registros excluidos (por título/resumen): 2 Registro para lectura completa (texto integral): 5 Estudios incluidos: 2 | (Berrio Pájaro, G., & Solano Torres, D. M., 2024) (Mescua Méndez, L. M., 2017). | Estudios sin relación directa procesos productivos a escala mediana o industrial relacionados con <i>S. sonchifolius</i> |
| 13 | Políticas o programas | Resuelta | Identificación de intervenciones | Búsqueda con narrativa tradicional a | ----- | ----- | ----- | ----- |

| | | | | | | | | |
|----|--|-----------|---|---|-------|-------|-------|-------|
| | que fomentan la cadena productiva de yacón a nivel nacional, regional | | institucionales que respalden el uso y aprovechamiento del cultivo | un contexto normativo. Principalmente a nivel regional, países de la región | | | | |
| 14 | ¿Qué limitaciones han sido identificadas en los estudios sobre <i>S.sonchifolius</i> y cuáles son las oportunidades de investigación a futuro? | Eliminada | Evaluar vacíos conceptuales y recomendaciones para futuras líneas de investigación en yacón | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |

C. Anexo: Diagrama de flujo del protocolo de micropropagación de yacón (*S. sonchifolius*)



Bibliografía

- Amurrio, D. (2023). De productos y patentes: el caso del yacón Of products and patents: the case of yacon. ACTA NOVA, 11, 1683–0768. <https://doi.org/10.35319/acta-nova.202314>
- Araque Barrera, E. J., Bohórquez Quintero, M. D. los A., Pacheco Díaz, J. E., & Correa Mora, L. Y. (2018). Propagación Y Tuberización in Vitro De Dos Variedades De Papa. Ciencia En Desarrollo, 9(1). <https://doi.org/10.19053/01217488.v9.n1.2018.7132>
- Arnao, I., Seminario, J., Cisneros, R., & Trabucco, J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca - Perú. Anales de La Facultad de Medicina, 72(4), 239–243. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000400003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Atala, L. R., Faria, J. C. T., Molinar, L. V., Avelar, M. L. M., & Brondani, G. E. (2022). Reduction of bacterial manifestation in the in vitro cultivation of *Eucalyptus microcorys* F. Muell. Vegetos, 35(3), 592–599. <https://doi.org/10.1007/s42535-022-00360-z>
- Berger. (2025). BM-2 Germinación de semillas. Berger. <https://www.berger.ca/es/productos/bm2-germination-de-semillas/>
- Biganzoli, F., Caldeira, C., Dias, J., De Laurentiis, V., Leite, J., Wollgast, J., & Sala, S. (2025). Towards Healthy and Sustainable Diets: Understanding Food Consumption Trends in the EU. Foods, 14(16). <https://doi.org/10.3390/foods14162798>
- Borda F. (1987). Investigación Participativa. Montevideo, Uruguay: Ediciones de la Banda Oriental.
- Borda, F. (1973). Reflexiones sobre la aplicación del método de estudio-acción en Colombia. Asunción, Paraguay: Centro Paraguayo de Estudios Sociológicos.
- Broetto, A. C., Marques, M., Moreira, J. R., Castro, C. V., Assunção, A., da Silva Silveira, S., de Sá-Nakanishi, A. B., Bersani, C. A., Peralta, R. M., Bracht, A., & Comar, J. F. (2016). The in Vitro Antioxidant Capacities of Hydroalcoholic Extracts from Roots and Leaves of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) Do Not Correlate with Their in Vivo Antioxidant Action in Diabetic Rats. Journal of Biosciences and Medicines, 04(02), 15–27. <https://doi.org/10.4236/jbm.2016.42003>
- Buitrago Hurtado, G., & Bustamante R., S. L. (2017). GRUPO DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL CULTIVO DE ÑAME. Innovación social y biotecnología: sumando estrategias efectivas para el desarrollo rural. Revista Colombiana de Biotecnología, (), 58-62.

- Cabrera, R. M., & Aliaga, J. D. (2019). Manual de micropropagación del yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) (E. A. Gutierrez, Ed.; Primera). <https://hdl.handle.net/20.500.12955/1054>
- Cabrera, R.M., Sánchez, K., & Linares, A. (2019). MANUAL DE MANEJO AGRONÓMICO DEL YACÓN (*SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS* (POEPP. & ENDL.) H. ROBINSON) (Primera). www.inia.gob.pe
- Calderón Díaz, C., Fandiño Morante, D., & Chávez Pacheco, T. (2017). El Yacón: una alternativa para el sector agrícola colombiano El Yacón: una alternativa para el sector agrícola colombiano Citación recomendada Citación recomendada. https://ciencia.lasalle.edu.co/finanzas_comercioT.M.
- Campos, D., Betalleluz-Pallardel, I., Chirinos, R., Aguilar-Galvez, A., Noratto, G., & Pedreschi, R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry*, 135(3), 1592–1599. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.088>
- Cano, M. A. (2016). PROPAGACIÓN CLONAL DEL YACÓN [*Smallanthus sonchifolius* (POEPP. AND ENDL.) H. ROBINSON] Y DETERMINACIÓN DE LOS CONTENIDOS DE INULINA. [UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA-Medellín, Colombia]. <http://hdl.handle.net/20.500.11912/2956>
- Cárdenas-Aquino, M. del R., Camas-Reyes, A., Valencia-Lozano, E., López-Sánchez, L., Martínez-Antonio, A., & Cabrera-Ponce, J. L. (2023). The Cytokinins BAP and 2-iP Modulate Different Molecular Mechanisms on Shoot Proliferation and Root Development in Lemongrass (*Cymbopogon citratus*). *Plants*, 12(20). <https://doi.org/10.3390/plants12203637>
- Causil Vargas, L. A., Coronado, J. L., Verbel, L. F., Vega J., M. F., Donado E., K. A., Pacheco G., C., CAUSIL V., L. A., CORONADO G., J. L., VERBEL M., L. F., VEGA J., M. F., DONADO E., K. A., & PACHECO G., C. (2017). Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO), en células ápicales de raíces de cebolla (<i>Allium cepa</i> L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(1), 97–104. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5662>
- Chong, B., Tan, D. J. H., Chew, H. S. J., Kong, G. , Jayabaskaran, J., Chan, Y. H., Chin, Y. H., Goh, R., Kannan, S. , N. C. H., Loong, S., Kueh, M. T. W., Lin, C., Anand, V. V, Lee, E. C. Z., Chan, K. E., Wang, J. W., Muthiah, M., Dimitriadis, G. K., Hausenloy, D. J., & Chew, N. W. S. (2023). Trends and predictions of malnutrition and obesity in 204 countries and territories: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *eClinicalMedicine*. [https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370\(23\)00027-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370(23)00027-5/fulltext)

- Codex Alimentarius Commission. (2017). Regional Standard for Yacon (Latin America and the Caribbean) CXS 324R-2017 (Enmendado en 2023 y 2024). FAO/WHO. CXS_324Re.pdf
- Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias – INDECOPI. (2011, 16 de octubre). Norma Técnica Peruana NTP-NA 0088:2011 “Productos naturales. Hojas de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Requisitos” (Resolución R.0035-2011/CNB-INDECOPI). <https://es.scribd.com/document/618278000/Hojas-de-Yacon-requisitos-NA-0088-1>
- Dane, F., & Dalgiç, Ö. (2005). The effects of fungicide Benomyl (benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem. *Acta Biologica Hungarica*, 56(1–2), 119–128. <https://doi.org/10.1556/abiol.56.2005.1-2.12>
- de Andrade, E. F., Carpiné, D., Dagostin, J. L. A., & et al. (2017). Identification and antimicrobial activity of the sesquiterpene lactone mixture extracted from *Smallanthus sonchifolius* dried leaves. *European Food Research and Technology*, 243, 1299–1308. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2918-y>
- de Vargas, A. D., de Oliveira, F. L., Doamaral, J. F. T., Tomaz, M. A., Cabral, M. O., & Mendes, T. P. (2022). Yacon development and production under different potassium fertilisation doses. *Australian Journal of Crop Science*, 16(2), 252–258. <https://doi.org/10.21475/ajcs.22.16.02.3411>
- Deguine, J.-P., Aubertot, J.-N., Flor, R. J., Lescourret, F., Wyckhuys, K. A. G., & Ratnadass, A. (2021). Integrated pest management: good intentions, hard realities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 41(38). <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00689-w/Published>
- Dersa S.A. (2021). Hoja de Especificación Técnica del Producto Detergente en Polvo Dersa Multiusos (HTP-420-905, Edición 02).
- Di Barbaro, M., Andrada, H., Del Valle, E., Brandán, C., Di Barbaro, G., Andrada, H., Del Valle, E., & Brandán de Weht, C. (2021). Biological activity of soils cultivated with yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poep. & Endl) H. Robinson, inoculated with *Azospirillum brasilense* and native mycorrhizal fungi. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 38(1), 125–133. <https://doi.org/10.22267/rcia.213801.148>
- FAO, & OMS. (2012). PROPUESTA DE NUEVO TRABAJO PARA UNA NORMA REGIONAL DEL CODEX PARA EL YACÓN [*Smallanthus sonchifolius* (Opep et Ende. H. Robinson)].
- Future Data Stats. (2024). Yacon Fruit Market Size & Industry Growth 2030. <https://www.futuredatastats.com/yacon-fruit-market>.

- García Romero, I., Garzón, P. A., Tibambre, M. E. M., Peranquive, C. A. G., García, C. F. C., Arias, A. R. P., & Gutiérrez, F. A. A. (2020). Agronomic evaluation of natural rubber associated with three natural coverages in the altillanura. *Colombia Forestal*, 23(1). <https://doi.org/10.14483/2256201X.14996>
- Garza-Velasco, R., Garza-Manero, S. P., & Perea-Mejía, L. M. (2021). Gut microbiota: a fundamental ally of the human organism. *Educacion Quimica*, 32(1), 10–19. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.1.75734>
- GBIF Secretariat. (2023). *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob. In GBIF Backbone Taxonomy. Global Biodiversity Information Facility (GBIF). <https://doi.org/https://doi.org/10.15468/39omei>
- Gilbert, P., & Moore, L. E. (2005). Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 703–715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>
- Grant, M. J., & Booth, A. (2009). A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies. *Health information and libraries journal*, 26(2), 91–108. <https://doi.org/10.1111/j.1471-1842.2009.00848.x>
- Hamada, T. et al. (1990). Mass-propagation of yacon by repeated node culture. *Plant Biotechnology*. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology1984.7.35>
- Hasnain, A., Naqvi, S. A. H., Ayesha, S. I., Khalid, F., Ellahi, M., Iqbal, S., Hassan, M. Z., Abbas, A., Adamski, R., Markowska, D., Baazeem, A., Mustafa, G., Moustafa, M., Hasan, M. E., & Abdelhamid, M. M. A. (2022). Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009395>
- Hernández Montesinos, A. R., Palma Pérez, J. J., Abreu Cruz, A., Herrera Villafranca, M., Herrera García, R. S., Hernández Montesinos, A. R., Palma Pérez, J. J., Abreu Cruz, A., Herrera Villafranca, M., & Herrera García, R. S. (2023). Cuban journal of agricultural science : Revista Cubana de ciencia agricola. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 57. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802023000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Ibañez, M. S., Mercado, M. I., Coll Aráoz, M. V., Zannier, M. L., Grau, A., & Ponessa, G. I. (2017). Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications. *Journal of Plant Research*, 130(2), 327–337. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0904-x>

- Jiffy Products International B.V. (s. f.). Jiffy Pellets: practical and easy to use. Recuperado de Sustratos para un crecimiento sano de las plantas | Jiffy Group
- Joung, H., Kwon, D.-Y., Choi, J.-G., Shin, D.-Y., Chun, S.-S., Yu, Y.-B., & Shin, D.-W. (2010). Antibacterial and synergistic effects of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* under light intensity. *Journal of Natural Medicines*, 64(2), 212–215. <https://doi.org/10.1007/s11418-010-0388-7>
- Kara, M., Oztas, E., Ramazanoğulları, R., Kouretas, D., Nepka, C., Tsatsakis, A. M., & Veskokoukis, A. S. (2020). Benomyl, a benzimidazole fungicide, induces oxidative stress and apoptosis in neural cells. *Toxicology Reports*, 7, 501–509. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.04.001>
- Keene, A., Small-Rodriguez, D., & Davis-Delano, L. R. (2023). Native voices on Native appropriation. *Ethnic and Racial Studies*, 47(4), 647–669. <https://doi.org/10.1080/01419870.2023.2229423>
- Kiszcak, W., Kowalska, U., Burian, M., Glińska, S., Domaciuk, M., & Górecka, K. (2022). Elaboration of micropropagation system of medicinal plant yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 21(1), 131–141. <https://doi.org/10.24326/asphc.2022.1.11>
- León, G., & Kondo, M. T. (2017). Insectos y ácaros de los cítricos Compendio ilustrado de especies dañinas y benéficas, con técnicas para el manejo integrado de plagas (2a ed.). <https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/download/10/8/97-1?inline=1>
- Limongi, R. (2025). The use of artificial intelligence in scientific research with integrity and ethics. *SDGs Studies Review*, 6(studies), e040. <https://doi.org/10.37497/sdgs.v6istudies.40>
- Lin, F., Hasegawa, M., & Kodama, O. (2003). Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(10), 2154–2159. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.2154>
- López, C. E., Castro, L. T., Quito, K. T., & Bocanegra, L. F. (2020). La internacionalización del yacón: beneficios y oportunidades de mejoramiento para el sector agrícola en Colombia. *Revista Universidad y Empresa*, 22(38), 106. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/empresa/a.7235>
- Luo, D. (2015). Yacon flour capable of coordinating intestines and stomach, and preparation method thereof. <https://eureka.patsnap.com/patent-CN104256631A>

- Luziatelli, G., Alandia, G., Rodríguez, J. P., Manrique, I., Jacobsen, S.-E., & Sørensen, M. (2023). Ethnobotany of Andean root crops: tradition and innovation—Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.), Yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.), Mauka (*Mirabilis expansa* (Ruíz & Pav.) Standl.), Ahipa (*Pachyrhizus ahipa* Parodi), Maca (*Lepidium* . En *Varieties and Landraces: Cultural Practices and Traditional Uses: Volume 2: Underground Starchy Crops of South American Origin: Production, Processing, Utilization and Economic Perspectives* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90057-7.00013-9>
- Machado, S. R., Oliveira, D. M. T., Dip, M. R., & Menezes, N. L. de. (2004). Morfoanatomía do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). *Brazilian Journal of Botany*, 27(1), 115–123. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042004000100013>
- Majumder, S., Igamberdiev, A. U., & Debnath, S. C. (2025). Somaclonal Variation and Clonal Fidelity in Commercial Micropropagation: Challenges and Perspectives. En *Agronomy* (Vol. 15, Número 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agronomy15061489>
- Manrique, I., Gonzales, R., Valladolid, A., Blas, R., & Lizárraga, L. (2014). Producción de semillas en yacón (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.)) mediante técnicas de polinización controladas. *Ecología Aplicada*, 13(2), 135–145. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162014000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Manrique, I., Hermann, M., & Párraga, A. (2005). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No. 8A. Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Fundación Erbacher, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación.
- MarkWide Research. (2025, enero). Yacon Syrup market Analysis- Industry Size, Share, Research Report, Insights, Covid-19 Impact, Statistics, Trends, Growth and Forecast 1 2025-2034. 2025. <https://markwideresearch.com/yacon-syrup-market/>
- Martínez, M., Barreto, J., & Murcia, N. (s. f.). Capítulo IV Desarrollo y multiplicación de variedades comerciales de cítricos. Recuperado 20 de abril de 2025, de https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/39900/Ver_Documento_39900.pdf?sequence=1
- Muñoz Jáuregui, A. (2010). Yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.) [Monografía]. Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo (PROMPERÚ). <https://repositorio.promperu.gob.pe/handle/20.500.14152/1374>

- Muñoz-Rodríguez, M. A., Delgado-Vargas, I. A., Guerrero, J. C., & Andrade, A. V. (2020). Physical properties of soil in the early stage of an agroforestry system in the High Andean zone. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 37(1), 70–79. <https://doi.org/10.22267/rcia.203701.128>
- Murray, R., Mulgan, G., Caulier-Grice, J. (2008). How to Innovate: The tools for social innovation. The Young Foundation. Recuperado de http://www.youngfoundation.org/files/images/publications/Generating_Social_Innovation_0.pdf, 01/12/2009
- Ngone, A. M., Ndam, L. M., Njilar, R. M., Oumar, D., & Njock, T. E. (2021). Effective medium for *in vitro* sprouting of the buds and multiplication of the plantlets, and identification of the fungal contaminant associated with the explants of Gnetum. 16(2), 001–013. <https://doi.org/10.30574/GSCBPS.2021.16.2.0221>
- Oliveira, R. da S., Pereira, M. R., Carvalho, V. S., Lucas, E. de F., & Gravina, G. de A. (2022). Starch and sodium hypochlorite on *in vitro* rooting of pineapple ‘gold’ and its effects on acclimatization. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.19944746>
- Padilla-González, G. F., Frey, M., Gómez-Zeledón, J., Da Costa, F. B., & Spring, O. (2019). Metabolomic and gene expression approaches reveal the developmental and environmental regulation of the secondary metabolism of yacón (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae). *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49246-2>
- Papaemmanouil, C. D., Peña-García, J., Banegas-Luna, A. J., Kostagianni, A. D., Gerothanassis, I. P., Pérez-Sánchez, H., & Tzakos, A. G. (2022). ANTIAGE-DB: A Database and Server for the Prediction of Anti-Aging Compounds Targeting Elastase, Hyaluronidase, and Tyrosinase. *Antioxidants*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/antiox11112268>
- Parra Bolaños, J. A., & Rojas Ascuntar, W. A. (2018). Implementación de un modelo de cultivo de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para el aprovechamiento medicinal y alimenticio- vereda Julumito municipio de Popayán. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/17688>
- Perea, M. (2009). Cultivo de Tejidos Vegetales *in vitro*. En Universidad Nacional de Colombia (Vol. 9, Número 19). http://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/cultivosdetejidosvegetales_manualprac.pdf
- Pereira, M. F., Soares, I. de C., Cabral, M. M., de Freitas, P. A., Sousa, G. M. A., Magalhães, S. C., Carioca, A. A. F., de Oliveira, M. R. C., Magalhães, F. E. A., de Oliveira, A. C., Farias-Pereira, R., & de Oliveira, K. A. (2025). Impacts of Yacon Syrup (*Smallanthus sonchifolius*) on Human Health: A Systematic Review of Scientific Evidence from the Last Decade. En *Nutrients* (Vol. 17, Número 5).

- Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/nu17050888>
- Pérez Pazos, J. (2022). Estandarización de condiciones de producción in vitro y ex vitro para la propagación y escalamiento de material de siembra de batata (*Ipomoea batatas* L.). Universidad Nacional de Colombia.
- Permadi, N., Prismantoro, D., Navisya Vasall, P. R., Sheelmarevaa, F. A., Nurjanah, S., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2025). Modern and traditional strategies for controlling microbial contamination in plant micropropagation: Current insights and future perspectives. In *Current Research in Biotechnology* (Vol. 10). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2025.100337>
- Polanco Puerta, M. F., & García, M. (2013). Caracterización morfológica y molecular de materiales de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poep. & Endl) H. Robinson colectados en la ecorregión Eje Cafetero de Colombia. *4*(2), 97–116.
<https://doi.org/10.22490/21456453.981>
- R Core Team. (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing.
<https://www.R-project.org>
- Reed, B., Engelmann, F., Dulloo, M., & Engels, J. (2004). Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections. IPGRI.
- Resnik, D. B., & Hosseini, M. (2023). The Ethics of Using Artificial Intelligence in Scientific Research: New Guidance Needed for a New Tool.
<https://doi.org/10.31235/osf.io/rbg9z>
- Resnik, D. B., & Hosseini, M. (2025). The ethics of using artificial intelligence in scientific research: new guidance needed for a new tool. *AI and Ethics*, *5*(2), 1499–1521.
<https://doi.org/10.1007/s43681-024-00493-8>
- Rincon, D. F., Vasquez, D. F., Rivera-Trujillo, H. F., Beltrán, C., & Borrero-Echeverry, F. (2019). Economic injury levels for the potato yellow vein disease and its vector, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae), affecting potato crops in the Andes. *Crop Protection*, *119*, 52–58.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.002>
- Rismayuddin, N. A. R., Nasarudin, S. N. I. S., Ibrahim, N. R., Alnuaimi, A., & Arzmi, M. H. (2023). Synbiotic *Smallanthus Sonchifolius* (Yacon) and *Streptococcus Salivarius* inhibit *Candida Albicans* biofilm formation. *AIP Conference Proceedings*, *2562*.
<https://doi.org/10.1063/5.0112484>

- Sánchez, M. (2025, 11 de agosto). Sustrato Kanuma para bonsáis: Guía detallada y uso recomendado. Jardinería On. <https://www.jardineriaon.com/que-es-la-kanuma-y-para-que-se-utiliza.html>
- Seiberg Consulting LLC. (2020). Compositions containing natural extracts and use thereof for skin and hair (U.S. Patent No. US20200297608) (Patent US20200297608). U.S. Patent and Trademark Office.
- Skalova, I., Viehmannova, I., & Vitamvas, J. (2013). In vitro Conservation of *Smilax sonchifolius* under Slow-Growth Conditions. *Agricultura Tropica et Subtropica*, 45(3). <https://doi.org/10.2478/v10295-012-0024-5>
- Snyder, H. (2019). Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 104, 333–339. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
- Sompornpailin, K., & Khunchuay, C. (2016). Synergistic effects of BAP and kinetin media additives on regeneration of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L. Nash). *Australian Journal of Crop Science*, 10(5), 726–731.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. S. (2018). *Plant Physiology and Development*. Oxford University Press.
- Teixeira, A. das G., Oliveira, F. L., de, P. O., Cabral, M. O., Parajara, M. do C., & Olivas, D. B. L. (2020). CULTIVO DE YACÓN INTERCALADO CON COFFEA CANÉFORA † [YACON CROPS INTERCALATED WITH COFFEA CANÉFORA]. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23, 17.
- Valderrama, M., Díaz, A., & Acero, A. (2005). Manual del cultivo de yacón: experiencias de introducción y manejo técnico en el Valle de Condebamba. PYMAGROS. Productores y Mercados del Agro de la Sierra. Convenio MINAG-COSUDE. <http://www.asocam.org/sites/default/files/publicaciones/files/74455093814a213d6976637f4f71ad5f.pdf>
- Valdivia-Rojas, G., Aguirre-Mancilla, C. L., Ramírez-Pimentel, J. G., Joaquín-Ramos, A. de J., Martínez-Montero, M. E., Villalobos-Olivera, A., & de La Cruz-Torres, E. (2025). Innovative Protocols for Blackberry Propagation: In Vitro Cultivation in Temporary Immersion Systems with Ex Vitro Acclimatization. *Agriculture (Switzerland)*, 15(14). <https://doi.org/10.3390/agriculture15141505>
- Valentova, K., Cvak, L., Muck, A., Ulrichova, J., & Simanek, V. (2003). Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smilax sonchifolius*. *European Journal of Nutrition*, 42(1), 61–66. <https://doi.org/10.1007/s00394-003-0402-x>

- Valero, A. (2017). INTRODUCCIÓN A CONDICIONES IN VITRO Y ANÁLISIS CUALITATIVO DE COMPONENTES FITOQUÍMICOS DE YACÓN (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Et Endl). Universidad El Bosque - Bogotá, Colombia.
- Verified Market Reports. (2025). Global Yacon Syrup Market Size By Product Type (Organic Yacon Syrup, Non-Organic Yacon Syrup), By Distribution Channel (Online Retail, Offline Retail), By End-Use Industry (Food and Beverage Industry, Cosmetics and Personal Care), By Consumer (Health-Conscious Consumers, Diabetics and People with Blood Sugar Concerns), By Packaging Type (Bottles, Pouches), By Geographic Scope And Forecast.
<https://www.verifiedmarketreports.com/product/yacon-syrup-market/>.
- Viehmanna, I., Bortlovaj, Z., Vitamvas, J., Cepkovaj, P. H., Eliasova, K., Svobodovaj, E., & Travnickova, M. (2014). Assessment of somaclonal variation in somatic embryo-derived plants of yacon [*smallanthus sonchifolius* (poepp. and endl.) h. robinson] using inter simple sequence repeat analysis and flow cytometry. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(2), 102–106. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2013.12.011>
- Vieira, P. R. N., Reis, D. R. M. L., Oliveira, C. T. de, & Souza, C. R. N. de. (2021). Atividade antimicrobiana das lactonas sesquiterpênicas da folha da yacon (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae). *Revista Fitos*, 15(1), 108–114.
<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.864>
- Viquez Pancho, R. A. (2018). Establecimiento de un protocolo de propagación in vitro de morera (*Morus* sp.) para el suministro de material de siembra en la cadena serícola en el departamento del Cauca-Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- Vitali, M. S., Sancho, G., & Katinas, L. (2015). A revision of *smallanthus* (asteraceae, millerieae), the “yacón” genus. *Phytotaxa*, 214(1), 1–84.
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.214.1.1>
- Wagner, M., Kamp, L., Graeff-Hönninger, S., & Lewandowski, I. (2019). Environmental and Economic Performance of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Cultivated for Fructooligosaccharide Production. *Sustainability*, 11(17).
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su11174581>
- Wang, S., Leng, C., Sun, Y., Li, X., Li, Y., Huang, R., Yang, Y., Zhang, Y., & Han, Y. (2015). Concentrated yacon juice with high content of fructooligosaccharides and preparation method of concentrated yacon juice.
<https://patents.google.com/patent/CN103519274A/en>
- World Health Organization. (2023). WHO acceleration plan to stop obesity. 57.
<https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101850>

- Xue, H., Liu, Q., & Yang, Z. (2023). Pathogenicity, Mycotoxin Production, and Control of Potato Dry Rot Caused by *Fusarium* spp.: A Review. In *Journal of Fungi* (Vol. 9, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/jof9080843>
- Yan, M. R., Welch, R., Rush, E. C., Xiang, X., & Wang, X. (2019). A sustainable wholesome foodstuff; health effects and potential dietotherapy applications of yacon. En *Nutrients* (Vol. 11, Número 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11112632>
- Yang, J., & Pal, R. (2020). Investigation of surfactant–polymer interactions using rheology and surface tension measurements. *Polymers*, 12(10), 2302.
<https://doi.org/10.3390/polym12102302>
- Yin, Y., Miao, J., Shao, W., Liu, X., Zhao, Y., & Ma, Z. (2023). Fungicide Resistance: Progress in Understanding Mechanism, Monitoring, and Management. In *Phytopathology* (Vol. 113, Issue 4, pp. 707–718). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD>
- Yuan, X.-Y., Li, Z.-Y., Chen, X.-L., Ding, X.-Q., Zhou, Y.-P., Yu, L., & Yang, Q.-X. (2022). Rapid screening of antioxidant activities components from yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. and Endl.) leaves by variable selection based on weight analysis. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 1948–1957.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2114494>
- Yue, W., & Takács-György, K. (2023). Why does food loss and waste matter for food security - from the perspective of cause and magnitude. *Ecocycles*, 9(3), 47–61.
<https://doi.org/10.19040/ecocycles.v9i3.337>
- Zhuzhzhhalova, T. P., Kolesnikova, E. O., Vasilchenko, E. N., & Cherkasova, N. N. (2020). Biotechnological methods as a tool for efficient sugar beet breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii*, 24(1), 40–47. <https://doi.org/10.18699/VJ20.593>