

Propagación *in vitro* de tzímbalo (*Solanum caripense* Dunal)

Juan Marcelo Morales Segovia^a, Ivonne de los Ángeles Vaca Suquillo^a

^a Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Universidad Politécnica Salesiana, Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson, Telf. (593-2) 3962800. Quito, Ecuador
j7juanmos@hotmail.com, ivaca@ups.edu.ec

Resumen. Se estableció un protocolo de propagación *in vitro* a partir de la semilla de *Solanum caripense* Dunal, planta silvestre de alentador interés biotecnológico debido principalmente a sus frutos comestibles que poseen cantidades considerables de sacarosa, vitamina C y algunos minerales. Para el cultivo *in vitro*, las semillas fueron esterilizadas superficialmente mediante la aplicación de cuatro tratamientos de desinfección (TD) y sembradas durante 42 días en medio M&S suplementado con sacarosa y carbón activado; se obtuvo los mejores resultados con TD1 (Alcohol 30% + NaClO 30% + H₂O₂ 7%), pues no registró contaminación y alcanzó 92% de germinación. Los segmentos de tallo de las semillas germinadas *in vitro* fueron subcultivados y expuestos a nueve tratamientos de multiplicación (TM) por 35 días, utilizando el mismo medio y diferentes concentraciones de AIA y BAP como fitorreguladores; se obtuvo el mejor resultado de proliferación con TM4 (AIA 0.5 mg/l + BAP 0.5 mg/l) que produjo 8.50 brotes/explanto; mientras que, TM1 (AIA 0.0 mg/l + BAP 0.5 mg/l) alcanzó 16.13 hojas/explanto. Finalmente, las plántulas formadas fueron adaptadas a sustrato durante 42 días, en turba conteniendo diferentes concentraciones de AIB como tratamientos de enraizamiento *ex vitro* (TE); se observó óptimos resultados, pues todos los tratamientos (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mg/l AIB) alcanzaron 100% de prendimiento radicular al sustrato.

Palabras Clave: *Solanum caripense*, tzímbalo, cultivo *in vitro*, multiplicación, adaptación.

1 Introducción

Solanum caripense Dunal, es una hierba terrestre o bejuco mayoritariamente silvestre, compleja [1] y ampliamente distribuida en el Ecuador [2]. Comúnmente denominada “chinpalu” [3], “simbailo” [4], “samboshuyo” o “tzímbalo” [5], se adapta bien a lugares húmedos pertenecientes a zonas altas que van desde los 2200 a los 3000 msnm [3], [4]. Su fruto es una baya jugosa verde-amarilla con rayas longitudinales de color violáceo [6], forma ovoide, alcanza hasta los 4 cm de longitud y contiene un elevado número de semillas en su interior [4], [7], [8]; el cual representa un aporte nutricional importante para el ser humano debido principalmente a la presencia de sacarosa, vitamina C y algunos minerales. El uso de *S. caripense* para hibridaciones con pepino dulce (*S. muricatum*) favorece el mejoramiento genético y la calidad de los frutos [9] [10].

Los reportes referentes a la forma de cultivo y propagación de tzímbalo son muy escasos; en un estudio realizado sobre remanentes de vegetación en la ciudad de Quito, se percibe la disminución poblacional de ésta especie al estar presente en tan solo 2 de 10 localidades estudiadas [11]. No obstante, las solanáceas responden bien

morfológica y genéticamente cuando son propagadas *in vitro* usando fitorreguladores en el medio de cultivo [12]; además, la micropropagación de especies silvestres permite la obtención de plantas libres de plagas y enfermedades, destinadas al mejoramiento de los cultivos comerciales de importancia económica, pues representan una fuente deseable de variabilidad genética [13]. El principal objetivo de la presente investigación pretende, mediante la propagación *in vitro* de tzímbalo, obtener plantas libres de bacterias y hongos; todo esto, con propósitos de convertir a la especie en una novedosa alternativa frutícola, capaz de cubrir necesidades alimenticias actualmente no tradicionales de la población nacional e internacional.

2 Materiales y métodos

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal ubicado en la Universidad Politécnica Salesiana, Campus El Girón, Quito, Ecuador. Primero se recolectaron y seleccionaron varios frutos silvestres de *S. caripense* en el barrio Taniloma de la parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, a una altitud de 2717 msnm, temperatura media anual de 14.5 °C, precipitación media de 488 mm/año y humedad relativa de 70% [14], [15]. El material vegetal inicial consistió en un total de 1200 semillas de los frutos seleccionados (Fig. 1).

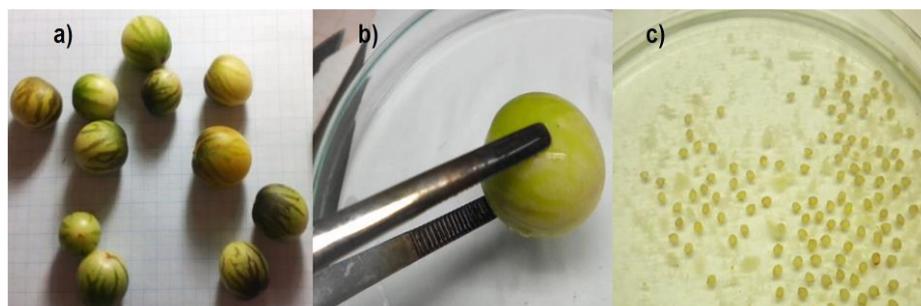


Fig. 1. Frutos silvestres de *Solanum caripense* recolectados (a) y seleccionados (b) para la extracción de sus semillas (c).

El trabajo experimental abarcó las siguientes fases: Establecimiento de un cultivo axénico (Fase 1), Multiplicación de brotes (Fase 2) y Enraizamiento *ex vitro* (Fase 3) [16].

En la Fase 1 el medio de cultivo elegido fue M&S [17], suplementado con sacarosa 3.0% (p/v) y carbón activado 0.05% (p/v), pH ajustado a 5.8 y previamente autoclavado a 121 °C durante 20 minutos; en la Fase 2 se utilizó el mismo medio de la etapa anterior más la adición de BAP (0.0, 0.5 y 1.0 mg/l) y AIA (0.0, 0.5 y 2.0 mg/l) en diferentes concentraciones; y en la Fase 3 se optó por el uso de turba como sustrato de adaptación, más AIB en diferentes concentraciones.

En todas las fases los cultivos fueron colocados en el cuarto de incubación de ambiente controlado, con luz blanca fría proveniente de dos lámparas fluorescentes, fotoperiodo de 16 horas luz y temperatura media de 24 ± 2 °C.

2.1 Establecimiento de un cultivo axénico (Fase 1)

Para la esterilización superficial de las semillas se plantearon cuatro tratamientos de desinfección (TD), los cuales combinaron el uso de alcohol (30 y 70%), hipoclorito de sodio (0.8 – 30%), peróxido de hidrógeno (4 y 7%) y tween-20 (0.1%), seguidos de varios lavados con agua destilada estéril (Tabla 1) [18], [19], [20], [21]. Los tratamientos se dispusieron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 50 repeticiones. Los datos fueron analizados por ANOVA ($p < 0.05$) y las medias fueron comparadas usando la prueba de Duncan. Las variables fueron registradas cada 7 días, durante 6 semanas; éstas fueron: porcentaje de contaminación, porcentaje de germinación e índice de germinación (IG) calculado mediante la siguiente fórmula, para cada tratamiento [22]:

$$IG = (S_1T_1 + S_2T_2 + \dots S_nT_n) / (S_1 + S_2 + \dots S_n) . \quad (1)$$

Donde, S es el número de semillas germinadas y T es el tiempo de incubación en días [23].

Tabla 1. Tratamientos de desinfección aplicados a semillas de tzímalo (*S. caripense*) para el establecimiento de un cultivo axénico.

Tratamiento Desinfección (TD)	Descripción
TD1	Alcohol 30% → 10 min Hipoclorito de sodio (NaClO) 30% → 10 min Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) 7% → 8 min Lavados con agua destilada estéril
TD2	Alcohol 70% con Tween-20 0.1% → 30 s Hipoclorito de sodio (NaClO) 20% → 10 min Lavados con agua destilada estéril
TD3	Alcohol 70% → 3 min Hipoclorito de sodio (NaClO) 2.5% con Tween-20 0.1% → 15 min Lavados con agua destilada estéril
TD4	Alcohol 30% → 5 min Hipoclorito de sodio (NaClO) 0.8% → 10 min Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) 4% → 5 min Lavados con agua destilada estéril

2.2 Multiplicación de brotes (Fase 2)

Segmentos de tallo provenientes de las semillas germinadas *in vitro* de *S. caripense* fueron subcultivados en el medio M&S con diferentes concentraciones de BAP y AIA correspondientes a los tratamientos de multiplicación (Tabla 2) [12], [18], [24], [25],

[26], [27]; los cuales corresponden a un Diseño factorial 3 x 3, con 14 repeticiones por tratamiento. Los datos fueron analizados por ANOVA ($p < 0.05$) y las medias fueron comparadas usando la prueba de Duncan. Las variables fueron registradas cada 7 días, durante 5 semanas; éstas fueron: número total de brotes y número de hojas.

Tabla 2. Tratamientos aplicados a explantos de tzímalo (*S. caripense*) en fase de multiplicación.

Tratamiento Multiplicación (TM)	BAP (mg/l)	AIA (mg/l)
TM0	0.0	0.0
TM1	0.5	0.0
TM2	1.0	0.0
TM3	0.0	0.5
TM4	0.5	0.5
TM5	1.0	0.5
TM6	0.0	2.0
TM7	0.5	2.0
TM8	1.0	2.0

2.3 Enraizamiento *ex vitro* (Fase 3)

Las plántulas de *S. caripense* obtenidas *in vitro* fueron adaptadas a sustrato. El trasplante se realizó lo más rápido posible para evitar la deshidratación de las vitroplantas, desde los contenedores con medio de cultivo hasta los alveolos de las bandejas plásticas que contenían turba autoclavada y diferentes concentraciones de AIB, correspondientes a los tratamientos de enraizamiento en sustrato (Tabla 3) [18], [28]; los cuales corresponden a un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 5 tratamientos y 16 repeticiones para cada uno de ellos. Los datos fueron analizados por ANOVA ($p < 0.05$) y las medias fueron comparadas usando la prueba de Duncan. Las variables fueron registradas cada 7 días, durante 6 semanas; éstas fueron: porcentaje de prendimiento de raíz, longitud de la vitroplanta y porcentaje de mortalidad.

Tabla 3. Tratamientos aplicados en el enraizamiento en sustrato de plántulas de tzímalo (*S. caripense*).

Tratamiento Enraizamiento (TE)	AIB (mg/l)
TE0	0.0
TE1	0.5
TE2	1.0
TE3	2.0
TE4	3.0

3 Resultados

3.1 Establecimiento de un cultivo axénico (Fase 1)

Los porcentajes de contaminación de todos los tratamientos de desinfección (TD1, TD2, TD3 y TD4) no alcanzaron el 10% planteado como aceptable en laboratorios dedicados a la propagación *in vitro* [29]; así se demuestra que los tratamientos aplicados a las semillas de *S. caripense*, junto a una buena esterilización de los medios y los recipientes escogidos, y la correcta operatividad durante el proceso, optimizaron la esterilidad superficial de los explantos. En TD1 y TD4 se utilizó peróxido de hidrógeno, el cual resulta eficaz para la esterilización superficial de las semillas al oxidar los componentes celulares de los microorganismos [30]. Los porcentajes de infección microbiana y sobrevivencia reportados para hojas jóvenes y brotes laterales de *S. muricatum* al utilizar alcohol, NaClO y H₂O₂ [18], fueron similares a los obtenidos en la presente investigación para todos los tratamientos y las concentraciones de los agentes desinfectantes escogidas; pues los porcentajes de contaminación, tanto bacteriana como fúngica, de las semillas de *S. caripense* no superaron el 2%. Incluso, concentraciones más bajas de NaClO (2.5 y 0.8%) como las reportadas para las especies *S. betaceum* [20] y *S. caripense* [20], también resultaron ser aptas para una desinfección satisfactoria.

Además, el análisis de la varianza para la variable porcentaje de germinación detectó significancia estadística para los tratamientos de desinfección ($p = 0.0001$). Es así que se registró el 92% de germinación para semillas de *S. caripense* en TD1 a los 42 días después de la siembra (Fig. 2). La germinación se pudo ver favorecida porque el NaClO actúa en la permeabilidad y otras propiedades de la cubierta seminal de las semillas facilitando la germinación, probablemente a causa de una mejora en el proceso de absorción de agua [31]. Mientras que, el H₂O₂ es capaz de ablandar la cubierta de algunas semillas y aumentar la permeabilidad del agua y oxígeno [32], facilitando la conversión de grasas a carbohidratos, los cuales promueven la activación de reacciones enzimáticas para la movilización de componentes celulares que están involucrados en el desarrollo de la radícula [33].

Para TD2, TD3 y TD4, los porcentajes de germinación de las semillas de *S. caripense* rodearon el 50% a los 30 días (Fig. 2), periodo similar a lo obtenido en las especies *S. surattense*, *S. integrifolium*, *S. sanitwongsei* [34] y *S. incanum* [35]. De hecho, en la segunda semana los tratamientos TD1, TD2 y TD4, ya habían alcanzado porcentajes de germinación entre 40 y 54% (Fig. 2); tal condición puede usarse para descartar la presencia de dormancia primaria en las semillas de *S. caripense* [36], así como los porcentajes de germinación reportados en un estudio sobre la importancia de la germinación en programas de cultivo [21]. En adición, no fue necesario un proceso de escarificación química para ablandar el tegumento seminal y facilitar la emergencia de la radícula, contrario a lo mencionado por otros autores [37], [38]. De modo que, las semillas de *S. caripense* permanecen aparentemente alejadas de presentar letargo físico y bajos porcentajes de germinación, distinto a lo mencionado para las especies *S. khasianum*, *S. torvum*, *S. indicum* [34] y *S. nigrum* [39].

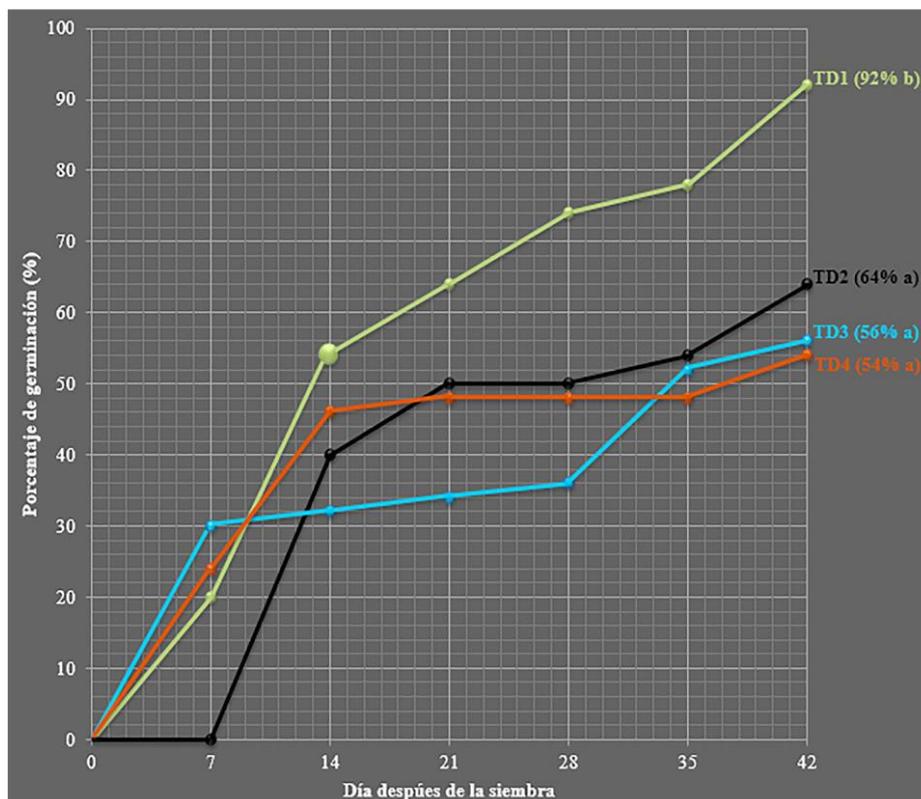


Fig. 2. Porcentajes de germinación por tratamiento de desinfección (TD) durante el establecimiento de un cultivo axénico de *Solanum caripense* evaluados cada 7 días. Destaca TD1 con 54% en el día 14 después de la siembra. Valores con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan (≤ 0.05).

El índice de germinación está entendido como el número medio de días requeridos para la emergencia de la radícula [38]; una semilla se considera germinada (Fig. 3) cuando la radícula supera 1 mm de longitud fuera de su cubierta [21]. El índice de germinación calculado a la sexta semana demuestra que son necesarios cerca de 30 días para que ocurra la emergencia radicular de las semillas de *S. caripense* en TD1 (28.55), TD2 (29.41), TD3 (27.30) y TD4 (26.54) con un índice de germinación promedio de 27.95 días; similar al número de días reportado para semillas de *S. surattense*, *S. integrifolium*, *S. sanitwongsei* [34] y *S. incanum* [35], pues se afirma que germinan lentamente y rodean un 50% de germinación en un promedio de 30 días.

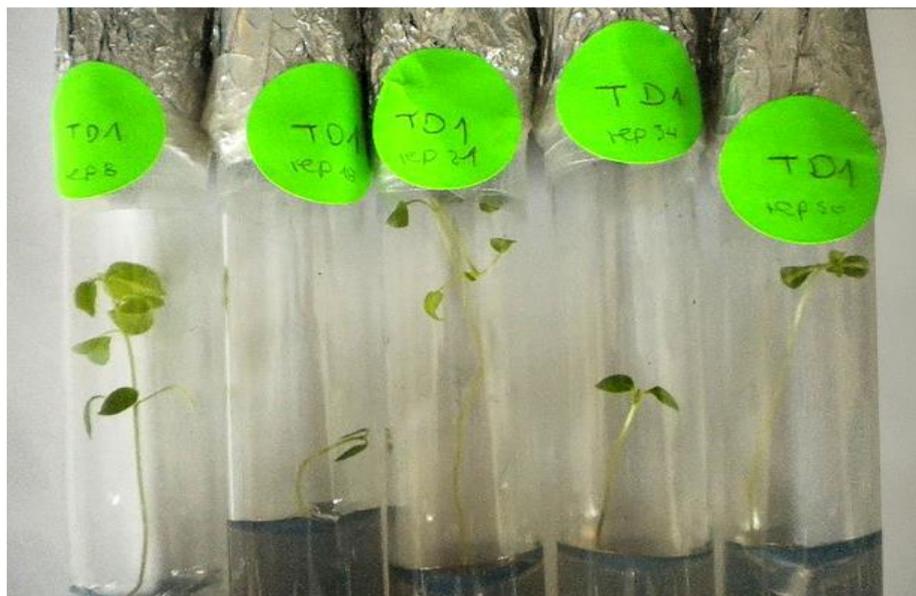


Fig. 3. Germinación de las semillas de *Solanum caripense* en TD1.

3.2 Multiplicación de brotes (Fase 2)

El análisis de la varianza para la variable número total de brotes detectó significancia estadística para la concentración de AIA ($p = 0.0356$).

La auxina AIA presentó el mayor número de brotes de *S. caripense* sin la fitohormona y con dosis de 0.5 mg/l, con promedios de 7.55 y 7.29 brotes/explanto, respectivamente. Y según los tratamientos, el menor número de brotes con TM6 (2.0 mg/l AIA), TM7 (0.5 mg/l BAP y 2.0 mg/l AIA) y TM8 (1.0 mg/l BAP y 2.0 mg/l AIA), los cuales generaron 6.17, 6.14 y 6.40 brotes/explanto, al emplear la concentración más alta de AIA, incluso al estar acompañados de una citocinina. Estos resultados se relacionan a los obtenidos en la multiplicación de brotes de *S. tuberosum* [25], al utilizar 0.2 mg/l AIA alcanza 44% de brotación, porcentaje que se reduce a 33% al incrementar la concentración de AIA a 0.5 mg/l y al combinar los tratamientos con dosis altas de una citocinina. De esta manera, se puede manifestar que las concentraciones de AIA mayores a 0.5 mg/l tienden a disminuir la multiplicación de brotes de *S. caripense* (TM 6), en ocasiones incluso si van acompañadas de dosis altas de BAP (TM5 y TM8).

Por otra parte, se obtuvo el mayor valor numérico de brotes de *S. caripense* con TM4, correspondiente a la interacción fitohormonal de 0.5 mg/l BAP y 0.5 mg/l AIA, con 8.50 brotes/explanto; dicho tratamiento produjo un efecto sinérgico. Se puede comparar el efecto resultante de la combinación entre BAP (0.5 - 3.0 mg/l) y AIA (1.5 y 2.0 mg/l) en la proliferación de brotes de *Withania somnifera* [40], el obtenido en la multiplicación de *S. nigrum* utilizando BAP (3.0 - 8.0 mg/l) y AIA (0.5 mg/l) [41], o el alcanzado en *P. minima* cuando segmentos nodales son cultivados en medio

suplementado con BAP (1.0 – 5.0 mg/l) y AIA (0.25 mg/l) [25], y por último el efecto sinérgico en *P. ixocarpa* a partir de hipocótilos en presencia de 2.0 mg/l BAP y 0.5 mg/l AIA [12], los cuales provocaron las mejores respuestas en la etapa de proliferación; similar a la sinergia ocurrida en la multiplicación de brotes de *S. caripense* con el tratamiento TM4 (Fig. 4).

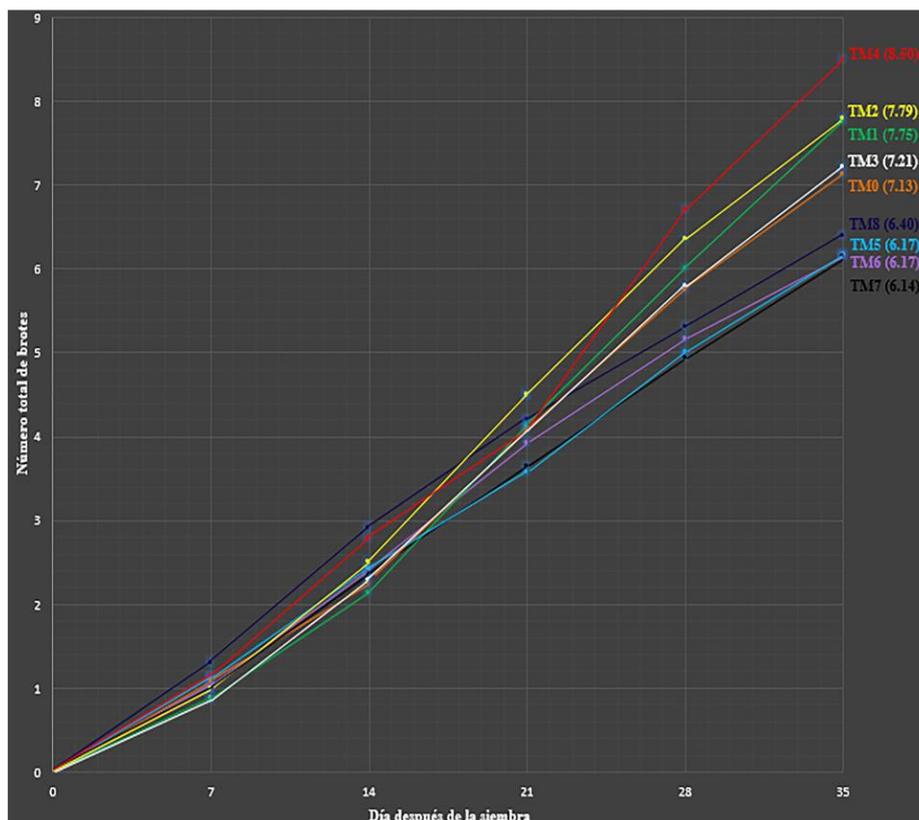


Fig. 4. Promedios para la variable número total de brotes de *Solanum caripense* por tratamiento de multiplicación (TM) aplicado.

Además, se obtuvo 7.75 brotes/explanto con TM1 (0.5 mg/l BAP) y 7.79 brotes/explanto con TM2 (1.0 mg/l BAP); éstos resultados sobrepasan a los reportados en la multiplicación de brotes de *S. muricatum* al utilizar BAP como única fitohormona, pues producen un máximo de 3.33 y 4.58 brotes/explanto usando 1.0 y 2.0 mg/l BAP, respectivamente [18]. Sin embargo, a partir de segmentos nodales de *P. peruviana* se puede desarrollar hasta 11.8 y 12.0 brotes/explanto mediante la aplicación de 0.5 y 1.0 mg/l BAP como único fitorregulador [27]. Otro estudio sobre *S. surattense* indica que se logra producir 58.2 y 7.5 brotes/explanto a partir de segmentos nodales en medio nutritivo únicamente con 0.5 y 2.0 mg/l BAP, respectivamente [24]. De esta forma, se puede sugerir que la aplicación en solitario de

0.5 y 1.0 mg/l BAP en la multiplicación de brotes de *S. caripense* también logra generar una cantidad considerable de brotes (Fig. 5).



Fig. 4. Multiplicación de brotes de *Solanum caripense* en TM1.

El análisis de la varianza para la variable número de hojas, detectó significancia estadística para los tratamientos de multiplicación ($p = 0.0412$) y para la concentración de BAP ($p = 0.0193$).

Se conoce que la fase de multiplicación es una etapa de generación y desarrollo de brotes axilares o adventicios, con varias hojas [42]. En el presente estudio se obtuvo el mayor número de hojas/explanto (16.13) mediante la aplicación de 0.5 mg/l BAP (TM1) en el medio de cultivo. Dicho de ese modo, se puede manifestar que la cantidad de hojas de *S. caripense* generadas en la Fase 2 fue mayor a las reportadas para varias especies silvestres del género *Solanum*, principalmente debido a la presencia del fitorregulador BAP; pues mediante propagación *in vitro* de las especies *S. hirtum* y *S. marginatum* en diferentes medios sin hormonas, se genera un máximo de 7 y 6 hojas/explanto a los 60 días después la siembra, respectivamente [13]. Además, la importancia de la concentración de BAP en el tratamiento TM1 para alcanzar el máximo número de hojas/explanto (16.13), puede respaldarse al compararse con el tratamiento testigo (TM0), que sin adición de la fitohormona tan solo generó 10.25 hojas/explanto (Fig. 6).

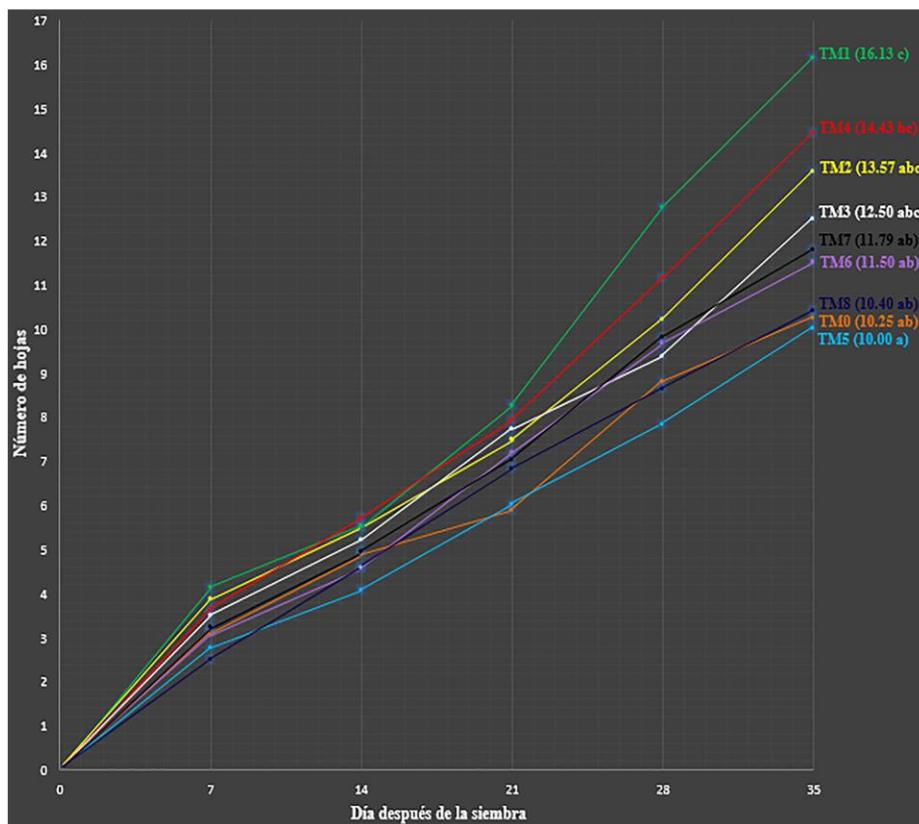


Fig. 6. Promedios para la variable número de hojas de *Solanum caripense* por tratamiento de multiplicación (TM) aplicado. Valores con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan (≤ 0.05).

3.3 Enraizamiento *ex vitro* (Fase 3)

Las vitroplantas alcanzaron un prendimiento a la turba del 100% en todos los tratamientos. Para evitar la pérdida de plantas, las raíces no fueron contabilizadas ni medidas al final de la etapa debido a su abundancia y total prendimiento al sustrato. Además, para minimizar problemas tales como la necrosis de brotes, abscisión de hojas y formación de callo, presentes en procesos de enraizamiento *in vitro* y que afectan la formación de raíces [43], en la presente investigación se decidió optar por el enraizamiento *ex vitro* de las plántulas de *S. caripense*, que también reduce el costo y tiempo de la micropropagación, antes de pasar del laboratorio a condiciones de campo.

Mediante el enraizamiento *ex vitro* de las plántulas de *S. caripense* se omitió la fase de enraizamiento *in vitro*; es decir, las plántulas obtenidas en etapa de multiplicación fueron directamente adaptadas en la turba conteniendo diferentes concentraciones de AIB, obteniéndose óptimos resultados en el prendimiento de las raíces de *S. caripense*

(Fig. 7). Similares resultados de adaptación a sustrato y enraizamiento *ex vitro* al utilizar AIB como fitorregulador, también han sido reportados en *Cyphomandra betacea* [44], *Capsicum annuum* [45] y *Cassia angustifolia* [43].



Fig. 7. Enraizamiento *ex vitro* de plántulas de *Solanum caripense*.

El análisis de la varianza para la variable longitud de la vitroplanta, detectó significancia estadística para los tratamientos de enraizamiento ($p = 0.0025$).

Las vitroplantas de *S. caripense* alcanzaron una longitud máxima promedio de 34.17 cm longitud/vitroplanta con TE3 (2.0 mg/l AIB), seguido por TE4 (3.0 mg/l AIB) con 33.27 cm longitud/vitroplanta; medidas que pueden ser sustentadas por la presencia de auxina en el sustrato, principalmente debido a que el AIB induce la formación de raíces con mayor rapidez, favoreciendo la absorción de nutrientes, y por consiguiente un mayor desarrollo en la longitud de los tallos; una aseveración parecida es mencionada en vitroplantas de *Hibiscus elatus* [46], al obtener el mayor crecimiento de tallo, 3.75 cm seguido por 3.67 cm, aplicando 3.0 y 2.0 mg/l AIB al inicio del enraizamiento *ex vitro*.

Tal efecto del AIB sobre el crecimiento caulinar de las vitroplantas de *S. caripense* puede corroborarse teniendo en cuenta que sin la adición de la fitohormona se obtuvo la menor longitud de tallo en TE0, con 24.38 cm longitud/vitroplanta. No obstante, una concentración de 2.0 mg/l AIB permitió alcanzar el promedio máximo de longitud/vitroplanta de *S. caripense*; mientras que, al aumentar la concentración a 3.0 mg/l AIB la longitud disminuyó ligeramente (Fig. 8); similares resultados son reportados en babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) al experimentar con varias concentraciones de auxinas [47], donde la tasa de crecimiento disminuye al superar la concentración óptima de auxina, la cual puede actuar como inhibidor del crecimiento en concentraciones superiores, tal como lo menciona Galston citado en Salisbury & Ross [48].

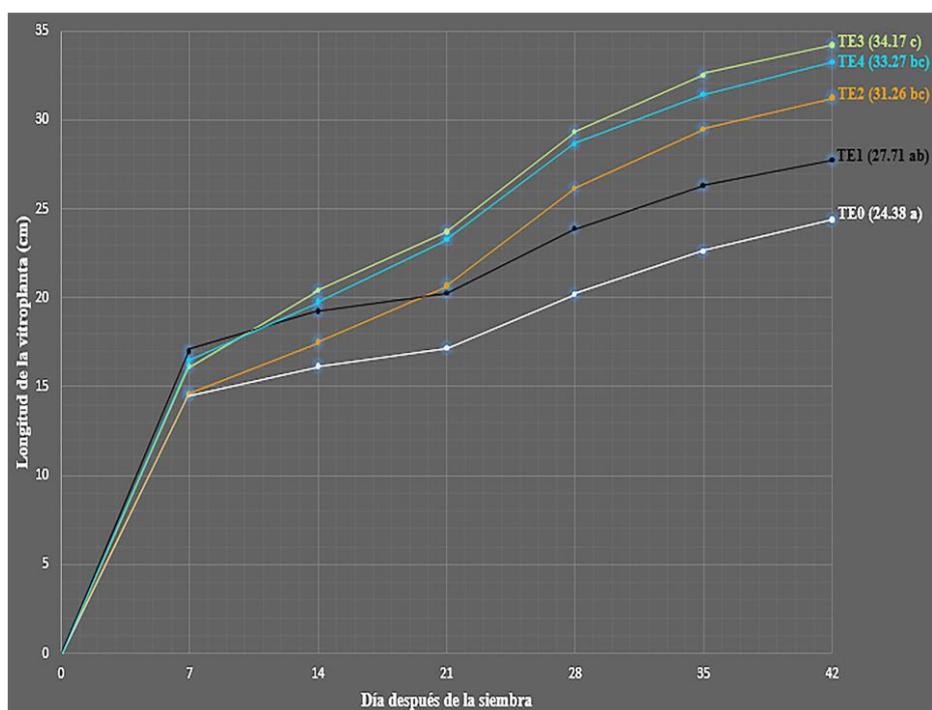


Fig. 8. Promedios para la variable longitud de la vitroplanta (cm) de *Solanum caripense* por tratamiento de enraizamiento (TE) en sustrato aplicado. Valores con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan (≤ 0.05).

Finalmente, se obtuvo un total de 2 plántulas muertas de *S. caripense*, las cuales se registraron en TE0, corresponden al 12.5% de mortalidad en el tratamiento y al 2.5% de mortalidad total de los tratamientos. El principal motivo para las muertes registradas se puede centrar en la pérdida de humedad durante el paso de las plántulas de *S. caripense* del medio de cultivo al sustrato, lo que finalmente conllevó a la muerte por desecación [29].

Plántulas de *S. muricatum* [18] y *S. hainanense* [49] logran pre aclimatarse a una mezcla de sustratos en un 100% previo a ser colocadas en condiciones de campo e

invernadero, donde los porcentajes de aclimatación varían entre 80 y 100%. Similares resultados fueron obtenidos en la presente investigación, con un total de 97.5 % de plántulas de *S. caripense* aclimatadas a la turba en el cuarto de incubación de ambiente controlado.

Conclusiones

El tratamiento de desinfección (TD) óptimo para el establecimiento de un cultivo axénico de *Solanum caripense* utilizando la semilla como explanto inicial, fue TD1 (Alcohol 30% → 10 min; NaClO 30% → 10 min; H₂O₂ 7% → 8 min; y lavados con agua destilada estéril), pues no obtuvo contaminación alguna y alcanzó un porcentaje de germinación de 92%, transcurridos 42 días.

El tratamiento de multiplicación (TM) que generó un mayor número de brotes por explanto de *Solanum caripense* fue TM4 (0.5 mg/l BAP y 0.5 mg/l AIA), el cual mostró el mejor resultado debido a la sinergia entre citocinina y auxina, generando 8.50 brotes/explanto transcurridos 35 días.

Todos los tratamientos de enraizamiento *ex vitro* (TE), incluso el tratamiento testigo (TE0), permitieron un 100% de prendimiento de raíces de las vitroplantas de *Solanum caripense* a la turba elegida como sustrato transcurridos 42 días, mediante el empleo de AIB en concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mg/l como fitorregulador promotor de la formación de raíces laterales. Sin embargo, TE3 (2.0 mg/l AIB) permitió alcanzar la mayor longitud de vitroplanta, con una altura promedio de 34.17 cm.

Agradecimientos

A la Universidad Politécnica Salesiana, carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales.

Referencias

1. Zuriaga, E.: Análisis de la variabilidad en poblaciones naturales de *Solanum*, secciones *Lycopersicon* y *Basarthurum* (Tesis doctoral). UPV: Valencia (2009)
2. Jørgensen, P. M., & León Yáñez, S.: Catalogue of the vascular plants of Ecuador. Saint Louis: Missouri botanical Garden Press (1999)
3. de la Torre, L., & otros.: Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Quito & Aarhus: Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus (2008)
4. Van den Eynden, V., Cueva, E., & Cabrera, O.: Plantas silvestres comestibles del sur del Ecuador. Quito, Ecuador: Abya-Yala, UPS (1998)
5. INIAP.: Diversidad de frutales nativos comestibles Caricaceae - Solanaceae, fenología, usos y recolección de germoplasma en el Sur del Ecuador. Estación Experimental Chuquipata, Granja Experimental Bullcay (2003)

6. Reinoso, L.: Especies botánicas de Latacunga: Descripción y usos. Quito, Ecuador: Herbario Alfredo Paredes (QAP), Escuela de Biología de la Universidad Central (2009)
7. Anderson, G. J.: Systematic and evolutionary consideration of *Solanum* section *Basarthrum*. En J. G. Hawkes, R. N. Lester, & A. D. Skelding (Eds.), *The biology and taxonomy of the Solanaceae* (págs. 549 a 562). Londres, Reino Unido: Linnean Society Symposium Series (1979)
8. Herraiz, F. J., & otros.: Morphological and molecular characterization of local varieties, modern cultivars and wild relatives of an emerging vegetable crop, the pepino (*Solanum muricatum*), provides insight into its diversity, relationships and breeding history. *Euphytica*, 206(2), 301 a 318 (2015)
9. Nuez, F.: Morphological and physico-chemical characteristics of fruits of pepino (*Solanum muricatum*), wild relatives (*S. caripense* and *S. tabanoense*) and interspecific hybrids: Implications in pepino breeding. *European Journal of Horticultural Science*, 70(5), 224 a 230 (2005)
10. Herráiz, F. J.: Desarrollo de herramientas morfológicas y genómicas para el estudio del pepino dulce (*Solanum muricatum*) y especies relacionadas. Caracterización de su valor nutracéutico (Tesis doctoral). UPV: Valencia (2015)
11. Delgado, L.: Evaluación de la presencia de especies nativas, endémicas e introducidas en remanentes alrededor de la ciudad de Quito (Tesis de grado). PUCE: Quito (2013)
12. Contreras, I., & Almeida, J.: Micropropagación del tomatillo (*Physalis ixocarpa* L.). *Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad de los Andes*, 45(1), 61 a 64 (2003b)
13. Andrade Díaz, D., & otros.: Evaluación de medios de cultivo para propagación *in vitro* de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*. *Acta Agronómica*, 62(1), 27 a 36 (2013)
14. Chimba, L.: Evaluación de 3 tipos de microsilos a base de cebada, alfalfa, maíz con dulce de agave, en cuyes en la etapa de crecimiento y engorde en la provincia de Cotopaxi, sector Salache Taniloma (Tesis de grado). Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. UTC: Latacunga (2012)
15. Herrera, D.: Las aguas servidas y su incidencia en la calidad de vida de los habitantes del sector de Taniloma en la ciudad de Latacunga Provincia de Cotopaxi (Tesis de grado). Facultad de Ingeniería Civil y Mecánica. UTA: Ambato (2011)
16. Morales, J.: Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de la semilla de *Solanum caripense* Dunal, para la obtención de plantas libres de bacterias y hongos (Tesis de grado). UPS: Quito (2016)
17. Murashige, T., & Skoog, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473 a 497 (1962)
18. Cavusoglu, A., & Sulusoglu, M.: *In vitro* propagation and acclimatization of pepino (*Solanum muricatum*). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1), 410 a 415 (2013)
19. Santana, G., & Angarita, A.: Regeneración adventicia de somaclones de uchuva (*Physalis peruviana*). *Agronomía Colombiana*, XIV(1), 59 a 65 (1997)
20. Borrero, E.: Protocolo para la regeneración de plántulas a partir de explantes de hojas de cinco variedades ecuatorianas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) (Tesis de grado). USFQ: Quito (2007)
21. Prohens, J., Soler, S., & Nuez, F.: The effects of thermotherapy and sodium hypochlorite treatments on pepino seed germination, a crucial step in breeding programmes. *Annals of Applied Biology*, 134(3), 299 a 305 (1999)
22. Nerson, H., & Paris, H.: Effects of fruit age, fermentation and storage on germination of cucurbit seeds. *Scientia Horticulturae*, 35(1-2), 15 a 26 (1988)
23. Loy, J. B., & Evensen, K. B.: Phytochrome regulation of seed germination in a dwarf strain of watermelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 104, 496 a 499 (1979)
24. Rahman, M., & otros.: Mass propagation of *Solanum surattense* Bum. using direct adventitious shoot organogenesis from internode. *Acta Agriculturae Slovenica*, 97(1), 11 a 17 (2011)
25. Karadag, B. N., Yildirim, E. C., & Tekdal, D.: The comparison of plant regeneration between Jerusalem artichoke and purple potato cultured on MS media with different

- concentrations and combinations of plant growth regulators. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 3(2), 120 a 124 (2013)
26. Sheeba, E., Palanivel, S., & Parvathi, S.: *In vitro* flowering and rapid propagation of *Physalis minima* Linn. - A medicinal plant. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 4(1), 18763 a 18768 (2015)
 27. Ramar, K.: *In vitro* shoot multiplication and plant regeneration of *Physalis peruviana* L. An important medicinal plant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 456 a 464 (2014)
 28. Jordán, M., & Casaretto, J.: Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. En F. A. Squeo, & L. Cardemil (Eds.), *Fisiología Vegetal* (págs. 3 a 10). La Serena, Chile: Ediciones Universidad de La Serena (2006)
 29. Mroginski, L. A., Sansberro, P., & Flaschland, E.: Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. En G. Levitus, V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, & L. Mroginski (Eds.), *Biocología y mejoramiento vegetal II* (págs. 17 a 24). Argentina: ArgenBio (2010)
 30. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L.: *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana (2007)
 31. Hsiao, A. I., & Quick, W. A.: Actions of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide on seed dormancy and germination of wild oats, *Avena fatua* L. *Weed Research*, 24(6), 411 a 419 (1984)
 32. Barnett, J. P.: Disinfecting seeds with hydrogen peroxide. Recuperado el 3 de noviembre de 2015, de Scielo México: <http://www.sfw.s.auburn.edu/sfnmc/class/fy614/peroxide.html> (1998)
 33. Willan, R. L.: *Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos*. Roma, Italia: FAO, DANIDA (1991)
 34. Ibrahim, M., & otros.: Seed germination and graft compatibility of wild *Solanum* as rootstock of tomato. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 1(8), 701 a 703 (2001)
 35. Joshua, A.: Seed germination of *Solanum incanum*: an example of germination problems of tropical vegetable crops. *Acta Horticulturae*, 83, 155 a 162 (1978)
 36. Bithell, S. L., & otros. Germination requirements of laboratory stored seeds of *Solanum nigrum* and *Solanum physalifolium*. *New Zealand Plant Protection*, 55, 222 a 227 (2002)
 37. Black, M., Bewley, J. D., & Halmer, P.: *The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology and Uses*. Wallingford, UK: CABI publishing (2006)
 38. Cabrera, V. A., Dottori, N., & Cosa, M. T.: Germinación, éxito reproductivo y fenología reproductiva de *Solanum chenopodioides* (SOLANACEAE). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 45(1-2), 73 a 80 (2010)
 39. Taab, A.: *Seed Dormancy and Germination in Solanum nigrum and S. physalifolium as Influenced by Temperature Conditions* (Tesis doctoral). Swedish University of Agricultural Sciences: Upsala (2009)
 40. Tata, S. S., & otros.: *In vitro* plant regeneration from leaf explants of *Withania somnifera* (L) Dunal (Ashwaganda) - an important medicinal plant. *Research in Biotechnology*, 2(5), 34 a 39 (2011)
 41. Pandhure, N.: *In vitro* multiplication of important medicinal plant *Solanum nigrum* L. *Recent Research in Science and Technology*, 2(7), 33 a 35 (2010)
 42. Castillo, A.: *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. INIA, 382, 1 a 8 (2004)
 43. Parveen, S., & Shahzad, A.: A micropropagation protocol for *Cassia angustifolia* Vahl. from root explants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 789 a 796 (2011)
 44. Contreras, I., & Almeida, J.: Micropropagación del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), Solanaceae silvestre usada en la alimentación humana. *Revista Forestal Venezolana*, 47(2), 9 a 13 (2003a)
 45. Siddique, I., & Anis, M.: Thidiazuron induced high frequency shoot bud formation and plant regeneration from cotyledonary node explants of *Capsicum annuum* L. *Indian Journal of Biotechnology*, 5, 303 a 308 (2006)
 46. Trocones, A. G., & otros.: Enraizamiento *ex vitro* de brotes de *Hibiscus elatus* SW. multiplicados *in vitro*. *Revista Forestal Baracoa*, 23(2), 27 a 31 (2004)

47. Vaca, I.: Incremento del número de brotes de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv Babaco) *in vitro* mediante la interacción de reguladores de crecimiento para la regeneración de plantas completas (Tesis de grado). ESPE: El Prado (2008)
48. Salisbury, F., & Ross, C.: Fisiología de las plantas. Madrid: Ed. Paraninfo S.A. 529 a 636, 649p (2002)
49. Loc, N. H., & Kiet, H. V.: Micropropagation of *Solanum hainanense* Hance. *Annals of Biological Research*, 2(2), 394 a 398 (2011)