

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

Escuela de Posgrado

MAESTRÍA EN GESTIÓN AMBIENTAL Y DESARROLLO SOSTENIBLE

CONSERVACIÓN DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum Aiton*)

ECOTIPO MORADO, USANDO LA TÉCNICA DE CULTIVO

IN VITRO DE TEJIDOS VEGETALES

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

BETTY MARIBEL MAMANI HUARCAYA

Para optar el Grado Académico de:

MAESTRO EN CIENCIAS (*MAGISTER SCIENTIAE*) CON MENCIÓN  
EN GESTIÓN AMBIENTAL Y DESARROLLO SOSTENIBLE

TACNA - PERÚ

2021


**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**


**Escuela de Posgrado**

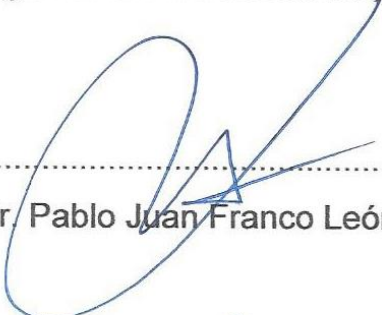
**MAESTRÍA EN GESTIÓN AMBIENTAL Y DESARROLLO SOSTENIBLE**


**CONSERVACIÓN DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum* Aiton)  
ECOTIPO MORADO, USANDO LA TÉCNICA DE CULTIVO  
IN VITRO DE TEJIDOS VEGETALES**

Tesis sustentada y aprobada el 24 de enero del 2020; estando el jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE :  .....  
Dra. Nelly Arévalo Solsol

SECRETARIO :  .....  
Mgr. Giovanni Ademhir Aragón Alvarado

MIEMBRO :  .....  
Dr. Pablo Juan Franco León

ASESOR :  .....  
Dr. Oscar Octavio Fernández Cutire

## DEDICATORIA

A Dios, por regalarme cada nuevo día de vida.

A mi padre Víctor, porque siempre confió en mí y me incentivó a estudiar y superarme cada día, hoy guía mis pasos desde el cielo.

A mi madre María, por su amor incondicional, sus bendiciones y sus oraciones que me acompañan siempre.

A mis hermanos Elvis y Cristhian, por su apoyo incondicional en las cosas que he emprendido en mi vida, y demostrarme la importancia de contar con la familia.

A mi Hija Fernanda del Pilar, quien desde el cielo sigue siendo el motor de mi vida, es mi ángel que alumbró mi camino.

A mis amigos que me brindaron su confianza, amistad y apoyo, mi reconocimiento especial para Fernando, Anacelly y Bret.

## AGRADECIMIENTO

Al Profesor Asesor de la tesis, Dr. Oscar Fernández Cutire por el apoyo y confianza brindada.

A mi familia por su motivación, confianza, comprensión y apoyo en el cumplimiento de mis metas académicas.

A todos mis amigos que me alentaron a culminar el presente trabajo de investigación.

## CONTENIDO

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>4</b>
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA. ....	4
1.1.1. Antecedentes del problema.....	4
1.1.2. Problemática de la investigación .....	5
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.2.1. Pregunta general.....	5
1.2.2. Preguntas específicas .....	5
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	6
1.4. ALCANCE Y LIMITACIONES.....	7
1.5. OBJETIVOS .....	7
1.5.1. Objetivo general .....	7
1.5.2. Objetivos específicos .....	7
1.6. HIPÓTESIS .....	8
1.6.1. Hipótesis general .....	8
1.6.2. Hipótesis específicas.....	8
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO .....	9
2.2. BASES TEÓRICAS.....	10
2.2.1. El pepino dulce.....	10
2.2.2. Aspectos morfológicos de la planta.....	11
2.2.3. Cultivo de tejidos: Bases, técnicas y alcances .....	12
2.2.4. Biotecnología vegetal y su importancia.....	13
2.2.5. La micropropagación.....	13

2.2.6. Medios de cultivo .....	16
2.2.6.1. Sales inorgánicas .....	17
2.2.6.1.1. Macronutrientes .....	17
2.2.6.1.1.1. El nitrógeno .....	17
2.2.6.1.1.2. El fósforo .....	17
2.2.6.1.1.3. Calcio .....	18
2.2.6.1.1.4. Magnesio.....	18
2.2.6.1.2. Micronutrientes.....	18
2.2.6.1.2.1. Hierro .....	18
2.2.6.1.2.2. Manganeso .....	18
2.2.6.1.2.3. Cobre y Zinc.....	18
2.2.6.1.2.4. Molibdeno y hierro.....	19
2.2.6.1.2.5. Boro.....	19
2.2.6.1.3. Vitaminas .....	19
2.2.6.1.4. Reguladores de crecimiento.....	19
2.2.6.1.5. Agentes solidificantes.....	20
2.2.7. Importancia de la conservación in vitro de germoplasma vegetal .....	20
2.2.8. Métodos de conservación <i>in vitro</i> .....	21
2.2.9. Bancos de germoplasma.....	22
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	22
<b>CAPÍTULO III: MARCO FILOSÓFICO .....</b>	<b>24</b>
<b>CAPÍTULO IV: MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>27</b>
4.1. UBICACIÓN .....	27
4.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	27
4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	27
4.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	27
4.4.1. Identificación de las variables .....	27
4.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS .....	30
4.5.1. Metodología .....	30
4.5.2. Materiales y/o instrumentos .....	42

4.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS .....	44
<b>CAPÍTULO V: RESULTADOS</b> .....	<b>45</b>
5.1 RESULTADO DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL PEPINO DULCE ECOTIPO MORADO .....	45
5.2. RESULTADO DE LA ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO DE CULTIVO <i>IN VITRO</i> DEL PEPINO DULCE ( <i>Solanum muricatum</i> Aiton) ECOTIPO MORADO .....	49
5.2.1. Etapa de establecimiento <i>in vitro</i> .....	49
5.2.2. Etapa de multiplicación <i>in vitro</i> .....	54
5.2.3. Etapa de enraizamiento <i>in vitro</i> .....	58
5.2.4. Etapa de aclimatación .....	61
5.3. CONSERVACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL PEPINO DULCE ( <i>Solanum muricatum</i> Aiton) ECOTIPO MORADO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CRECIMIENTO MÍNIMO .....	62
<b>CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN</b> .....	<b>68</b>
6.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL PEPINO DULCE ( <i>Solanum</i> <i>muricatum</i> Aiton) ECOTIPO MORADO .....	68
6.2 CULTIVO <i>IN VITRO</i> DEL PEPINO DULCE ( <i>Solanum muricatum</i> Aiton) ECOTIPO MORADO .....	73
6.2.1. Etapa de establecimiento <i>in vitro</i> .....	73
6.2.2. Etapa de multiplicación <i>in vitro</i> .....	74
6.2.3. Etapa de enraizamiento <i>in vitro</i> .....	75
6.2.4 Etapa de aclimatación .....	76
6.3 CONSERVACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL PEPINO DULCE ( <i>Solanum muricatum</i> Aiton) ECOTIPO MORADO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CRECIMIENTO MÍNIMO .....	77
CONCLUSIONES .....	78
RECOMENDACIONES .....	79
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
ANEXOS .....	89

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de sales minerales del medio MS.....	34
Tabla 2. Caracterización morfológica del tallo de pepino dulce ecotipo morado, evaluado utilizando los descriptores para pepino ( <i>Solanum muricatum</i> ) del IPGRI.....	45
Tabla 3. Variable cualitativa y cuantitativa de la hoja de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para <i>Solanum muricatum</i> del IPGRI.....	46
Tabla 4. Variable cualitativa y cuantitativa de la flor de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para <i>Solanum muricatum</i> del IPGRI.....	47
Tabla 5. Variable cualitativa y cuantitativa del fruto de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para <i>Solanum muricatum</i> del IPGRI.....	48
Tabla 6 Evaluación del porcentaje de contaminación de explantes de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de establecimiento in vitro.....	49
Tabla 7 Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 30 días en la etapa de establecimiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado.....	50
Tabla 8 Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de la Establecimiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado.....	50
Tabla 9 Análisis de varianza para el número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra en la etapa de establecimiento in vitro.....	51
Tabla 10 Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra – etapa de establecimiento in vitro.....	52

Tabla 11. Análisis de varianza para el número de raíces/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra en la etapa de establecimiento in vitro .....	52
Tabla 12. Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/ vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra – etapa de establecimiento in vitro .....	53
Tabla 13. Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 45 días en la etapa de multiplicación in vitro de Solanum muricatum ecotipo morado .....	54
Tabla 14. Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de multiplicación in vitro del pepino dulce ecotipo morado .....	54
Tabla 15. Análisis de varianza para el número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de multiplicación in vitro. ....	55
Tabla 16. Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de multiplicación in vitro.....	56
Tabla 17. Análisis de varianza para el número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de multiplicación in vitro .....	56
Tabla 18. Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de multiplicación in vitro.....	57
Tabla 19. Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 45 días en la etapa de Enraizamiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado ...	58
Tabla 20. Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de enraizamiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado .....	58

Tabla 21. Análisis de varianza para el número de nudos/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de enraizamiento in vitro.....	59
Tabla 22. Análisis de varianza para el número de raíces/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de enraizamiento in vitro.....	60
Tabla 23. .Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de enraizamiento in vitro.....	60
Tabla 24. Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en la etapa de conservación in vitro del pepino dulce ecotipo morado .....	62
Tabla 25. Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de conservación in vitro del pepino dulce ecotipo morado .....	63
Tabla 26. Análisis de varianza para el número de nudos/ explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro.....	63
Tabla 27. .Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro.....	64
Tabla 28. Análisis de varianza para el número de raíces/ explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro.....	65
Tabla 29. Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Instalación de parcela de investigación de pepino dulce ecotipo morado .....	35
Figura 2. Evaluación del crecimiento y desarrollo del cultivo de pepino dulce ecotipo morado .....	35
Figura 3. Caracterización morfológica del pepino dulce ecotipo morado .....	36
Figura 4. Preparación del medio de cultivo .....	37
Figura 5. Protocolo de desinfección para iniciar el establecimiento in vitro .....	38
Figura 6. Multiplicación in vitro .....	39
Figura 7. Enraizamiento invitro .....	40
Figura 8. Aclimatación de plántulas in vitro .....	41
Figura 9. Conservación in vitro .....	41
Figura 10. Porcentaje de contaminación de explantes .....	49
Figura 11. Evaluación de dos tipos de sustratos en el porcentaje de aclimatación de plántulas de pepino dulce ecotipo morado producto del cultivo .....	61

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo conservar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, usando la técnica de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, para lo cual se colectó el material vegetal en el distrito de Pachía en el sector de Peligro y se instaló una parcela en el centro experimental agrícola “La agronómica” – UNJBG, para obtener material vegetal para su caracterización morfológica y para realizar el cultivo *in vitro*. Los resultados obtenidos en la caracterización morfológica mediante el uso de los descriptores del IPGRI indican que las variables cualitativas para el tallo, hojas, flores y frutos no presentan diferencias significativas. Con respecto al cultivo *in vitro* se consiguió elaborar un protocolo con los medios de cultivo óptimo para todas las etapas de la micropropagación *in vitro*, en la etapa establecimiento y de multiplicación *in vitro* de *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado el medio de cultivo que obtuvo mejores resultados para las variables evaluadas a los 30 y 45 días, corresponde al T1, el cual es MS + 0,0 mg/L BAP, siendo el peor tratamiento el T4 (2,0 mg/L BAP) para ambas etapas. Sin embargo, en la etapa de enraizamiento el mejor tratamiento fue el T4 con 2,0 mg /L AIB; el peor fue el T1 (control), en la etapa de aclimatación el sustrato que mejor resultado fue la turba logrando un 91,79% de plántulas aclimatadas. Asimismo, en la etapa de conservación *in vitro*, mediante la técnica de los crecimientos mínimos se logró reducir el tiempo de subcultivos para *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado, el medio de cultivo óptimo corresponde al T4: MS suplementado con 60 g Sorbitol/L de esta manera se logró establecer un banco de germoplasma *in vitro* de *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado. Por lo tanto, se concluye que, si es posible conservar *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado utilizando la técnica del cultivo *in vitro*.

**Palabras Clave:** Pepino dulce, ecotipo, cultivo *in vitro*, conservación, caracterización morfológica

## ABSTRACT

The present research aimed to preserve the sweet cucumber (*Solanum muricatum* Aiton) purple ecotype, using the *in vitro* culture technique of plant tissues, for which the plant material was collected in the district of Pachía in the Danger sector and installed a plot in the agricultural experimental center "La agronómica" - UNJBG, to obtain plant material for its morphological characterization and to carry out *in vitro* cultivation. The results obtained in the morphological characterization by using the IPGRI descriptors indicate that the qualitative variables for the stem, leaves, flowers and fruits do not present significant differences. Regarding *in vitro* culture, it was possible to develop a protocol with the optimal culture media for all stages of *in vitro* micropropagation, in the establishment and *in vitro* multiplication stage of *Solanum muricatum* Aiton, purple ecotype, the culture medium that obtained the best Results for the variables evaluated at 30 and 45 days, corresponds to T1, which is DM + 0.0 mg/L BAP, with the worst treatment being T4 (2.0 mg/L BAP) for both stages. However, in the rooting stage the best treatment was T4 with 2.0 mg/L IBA; the worst was T1 (control), in the acclimatization stage the substrate with the best results was peat, achieving 91.79% of acclimatized seedlings. Likewise, in the *in vitro* conservation stage, by means of the minimum growth technique, it was possible to reduce the time of subcultures for *Solanum muricatum* Aiton, purple ecotype, the optimal culture medium corresponds to T4: MS supplemented with 60 g Sorbitol/L. in this way it was possible to establish an *in vitro* germplasm bank of *Solanum muricatum* Aiton, purple ecotype. Therefore, it is concluded that, if it is possible to conserve *Solanum muricatum* Aiton, purple ecotype using the *in vitro* culture technique.

**Keywords:** Sweet cucumber, ecotype, *in vitro* culture, conservation, morphological characterization

## INTRODUCCIÓN

El pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) es una fruta subtropical originaria de los andes en América del sur (Cavusoglu,2013), pertenece a la extensa familia de las solanáceas (Torrent,2014). Los primeros cronistas españoles describen al pepino como un cultivo de costa; el valle de moche en Perú fue particularmente famoso por el cultivo de pepino y fue importante durante la época precolombina, pero desde el declive del imperio Inca se convirtió cada vez más en un cultivo descuidado (Mahato et al., 2016).

El Perú cuenta con una gran diversidad de especies originarias, algunas de ellas de importancia económica mundial y otras de importancia regional que en el futuro podrían usarse como fuente de producción de materias primas y alimentos (Leipzig,1996), dentro de cuya relación de especies sí está presente el *Solanum muricatum* “Pepino dulce” “Cachuma”.

En países de la región andina, el pepino dulce se cultiva en pequeñas áreas, desde la costa hasta en valles localizados a 3 000 m de altitud. Aún se mantiene una extraordinaria diversidad de variedades, pero en los últimos años están desapareciendo a un ritmo muy acelerado (Zapana, 2014).

A nivel nacional existe dos cultivares importantes; pepino “corazón” y el pepino “melón” el primero presenta frutos achatado que terminan en punta y con ligeras vetas moradas, el segundo cultivar tiene frutos redondeados, achatados hacia los polos, con vetas azul – morada (Ramos, 2009). Torrent (2014) señala que las variedades peruanas, corazón de toro, son corazón de paloma, oreja de burro y morado listado; Los frutos de corazón de paloma y corazón de toro presentan una forma acorazonada, sin embargo, los frutos de morado listado son ovoide-cónicos tienen un tamaño variado con un abundante veteado, de color morado y finalmente, la forma del fruto de oreja de burro es alargado y de tamaño fluctuante de mediano a grande y con pigmentación escasa.

Como se observa ninguno de los autores señala al pepino dulce ecotipo morado, solo el Gobierno Regional de La Libertad en el Manual Técnico Pepino Dulce señala la existencia de un pepino morado e informa que se ha extinguido. La caracterización morfológica, evalúa características fenotípicas fácilmente identificables, como el color, la forma, el tamaño, etc., la ventaja principal es su sencillez y el bajo costo (Torrent, 2014).

Una actividad científica importante es la conservación de germoplasma vegetal, cuyo objetivo es evitar la erosión genética e incrementar la productividad de diversas especies de interés agrícola; y para lograrlo utiliza dos estrategias, la conservación *in situ* y la conservación *ex situ* (García et al., 2007).

El Perú, mantiene en conservación *ex situ* 56 333 accesiones de 104 especies domesticadas, estos valiosos recursos fitogenéticos se ubican en el INIA, Universidades, CIP, y organizaciones afines (Leipzig,1996). Según la revisión de los listados y anexos no se incluye al pepino dulce ecotipo morado.

Durante las últimas décadas existe una creciente demanda por el renovado interés en el cultivo de pepino (Mahato et al., 2016), el fruto de pepino dulce tiene 90% de contenido de agua, es bajo en calorías y presenta un alto contenido de vitamina C (Vallejo, 2015). Una gran cantidad de cultivares de pepino son sexualmente fértiles y con semillas viables (Cavusoglu, 2013), pero tienen un alto nivel de heterocigosis (Huisa, 2013). Tradicionalmente la propagación es por vía vegetativa; en la actualidad el cultivo *in vitro* se presenta como una alternativa de propagación (Vallejo, 2015). La propagación *in vitro* logra individuos genotípicamente idénticos (Huisa, 2013), además contribuye como un mecanismo de conservación *ex situ* (Ventura,2019).

La propagación *in vitro* en condiciones normales presenta explantes con un crecimiento rápido, por tanto, requiere un continuo refrescamiento del medio de cultivo, aumentando el riesgo de pérdidas por contaminación microbiana (Ventura, 2019). Se puede lograr una reducción del número de subcultivos utilizando la técnica denominada conservación *in vitro* a mediano plazo (Ventura,

2019), donde se busca principalmente disminuir la velocidad de crecimiento habitual de la especie mediante la modificación de las condiciones óptimas de cultivo (García et al, 2007), logrando conservar material vegetal en condiciones controladas por largos periodos, a fin de garantizar la utilización sostenible de la especie y permitir el intercambio de recursos genéticos (Ventura, 2019), para el caso del cultivo de pepino dulce no se ha encontrado información de la aplicación de dicha técnica. La conservación de los recursos filogenéticos, evita la pérdida de la diversidad genética, garantizando la disponibilidad de una fuente de variación genética, potencialmente útil para las generaciones presentes y futuras (Rayas et al., 2019).

El Gobierno Regional de La Libertad, mediante Ordenanza Regional N° 014-2006-CR/RLL, del 3 de noviembre del 2006, con fines de conservar y proteger su biodiversidad, declaró a *Solanum muricatum* Aiton, “pepino dulce”, “mataserrano” como “*patrimonio regional y base de la seguridad alimentaria de la población liberteña*” (Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión del Medio Ambiente, 2005). Considerando los aspectos descritos anteriormente este trabajo tiene como objetivo conservar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado.

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La pérdida de la diversidad fitogenética es un problema que aqueja actualmente, en nuestro país se viene utilizando la técnica del cultivo *in vitro* para la propagación y conservación de especies como la papa, camote, yuca, etc. Pero, sin embargo, los trabajos realizados para el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) son muy escasos y nulo específicamente para el caso del ecotipo morado que está corriendo el riesgo de extinguirse; el presente trabajo de investigación contribuye a la conservación de esta especie amenazada.

##### 1.1.1. Antecedentes del problema

El trabajo de investigación “Caracterización morfológica y molecular en pepino dulce (*Solanum muricatum*) y especies silvestres relacionadas” ejecutado en la Universidad Politécnica de Valencia por Daniel Torrant Silla, caracterizó morfológicamente 27 accesiones procedentes del banco de germoplasma del Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (CONAV) de los cuales 18 accesiones fueron de especie cultivada *Solanum Muricatum* (Torrant, 2014). Cabe señalar que dentro de las 27 entradas de pepino dulce para su caracterización morfológica no incluía el Ecotipo morado de la región de Tacna.

Huisa (2013) realizó el trabajo de tesis “Determinación del medio de cultivo *in vitro* para la propagación de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton)” el material biológico fue proporcionado por los productores de pepino dulce de la provincia de Cañete, Departamento de Lima, asimismo Cavusoglu et al. (2013) en su trabajo “Propagación *in vitro* y aclimatación de pepino (*Solanum muricatum*)” informa que el material vegetal utilizado fue de variedades comerciales; como se observa en ambos casos no se reporta que utilizan como material vegetal pepino dulce ecotipo morado.

Con referencia a la conservación *in vitro* mediante el método de crecimiento mínimo, que es muy utilizado para conservar germoplasma y crear bancos *in vitro* (García-Águila, 2007); y después de hacer la búsqueda exhaustiva de información para el caso de pepino dulce se pudo evidenciar que aún no había trabajos realizados.

Finalmente, se puede concluir que existe la necesidad de realizar trabajos de investigación referentes a la conservación del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, usando la técnica del cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.

### **1.1.2. Problemática de la investigación**

En la región de Tacna, el pepino dulce ecotipo morado era la típica fruta consumida por su población, en la actualidad es muy difícil encontrar estos frutos en los mercados locales, esto se debe a que los agricultores han dejado de cultivarlo para reemplazarlo por variedades de mayor demanda comercial, hasta el punto que el pepino dulce ecotipo morado se encuentra en peligro de extinción. Esta preocupación ha motivado la ejecución del presente trabajo de investigación, el cual tiene como objetivo conservar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, usando la técnica del cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. Pregunta general**

¿Cómo se logrará la conservación del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, usando la técnica de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales?

### **1.2.2. Preguntas específicas**

¿Cuál es la variabilidad morfológica del pepino (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado de la región Tacna?

¿Cuál de los protocolos utilizados en diferentes etapas de la micropropagación es el más adecuado para el cultivo *in vitro* del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado?

¿Cuál es el nivel adecuado de sorbitol en el medio de cultivo de conservación que permita obtener un banco de germoplasma *in vitro* de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado?

### **1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

El pepino dulce *Solanum muricatum* Aiton es una especie originaria de la región andina y pertenece a la familia *Solanaceae*, su cultivo inicia en la era precolombina y se extendió por todo el Tahuantinsuyo, siendo sus frutos muy apreciados por los incas.

Desde unas décadas después del arribo de los españoles, el interés por el pepino dulce disminuyó, convirtiéndose en un cultivo marginal y quedando casi en el olvido.

En nuestro país existe una gran diversidad genética de pepino dulce, sus frutos presentan variados colores, formas y tamaños, sus plantas logran adaptarse a diversas condiciones agroclimáticas, pero lamentablemente en los últimos años se está afectando gravemente su diversidad, principalmente por la incorporación de nuevos cultivos de origen extranjero, que han modificado la cedula de cultivo de los agricultores, provocando la reducción drástica del área de cultivo de pepino dulce, hasta el punto que solo se mantiene algunas plantas en muchos casos.

En la costa norte del Perú, se reporta el cultivo de pepino morado, de frutos muy dulces y de forma subesférica. Los agricultores entrevistados señalan que “se ha perdido” (Gobierno Regional La Libertad, 2006).

El fundamento de este trabajo se sustenta en que se reporta que el pepino dulce ecotipo morado se ha perdido en la zona norte del Perú, sin embargo en evaluaciones sobre la población de este cultivo en la zona sur del Perú, se ha

podido encontrar algunas plantas del pepino dulce ecotipo morado específicamente en la región de Tacna, según los agricultores consultados señalan aproximadamente hace 25 años que existían mayor área cultivada de pepino dulce ecotipo morado en el valle viejo de Tacna e informan que fue sustituido por otras variedades más comerciales como el pepino dulce listado (frutos amarillos con franjas moradas) o ha sido desplazado por otros cultivos de mayor demanda en el mercado e importancia económica.

La Biotecnología Vegetal, mediante la técnica de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, surge como una alternativa para la conservación del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, material genético que se encuentran en peligro de extinción, corriéndose el riesgo de la pérdida del caudal de genes (erosión genética).

#### **1.4. ALCANCE Y LIMITACIONES**

Las posibles limitaciones de la investigación son básicamente: La existencia de una reducida disposición de material vegetativo para toma de muestras, escasa bibliografía sobre pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) específicamente sobre el ecotipo morado y no contar con el financiamiento necesario y oportuno para la ejecución del trabajo de investigación.

#### **1.5. OBJETIVOS**

##### **1.5.1. Objetivo general**

Conservar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, usando la técnica de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.

##### **1.5.2. Objetivos específicos**

Caracterizar morfológicamente del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, colectado en la región de Tacna.

Determinar el mejor protocolo para el cultivo *in vitro* del pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado.

Establecer un banco de germoplasma *in vitro* de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado.

## **1.6. HIPÓTESIS**

### **1.6.1. Hipótesis general**

Haciendo uso de la técnica de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales se logrará conservar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado de la región de Tacna.

### **1.6.2. Hipótesis específicas**

Existe alta variabilidad morfológica en el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado.

Utilizando la técnica de cultivo *in vitro*, se logrará cultivar el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado en condiciones controladas.

Al menos uno de los niveles de sorbitol en el medio de cultivo *in vitro* de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado, será el adecuado para establecer un banco de germoplasma *in vitro*.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

La Dirección General de Diversidad Biológica del Ministerio del Ambiente, estableció los criterios para determinar las especies de importancia a fin de garantizar su bioseguridad, los criterios considerados son: las especies cuyo centro de origen es Perú y las especies transformadas que se encuentran actualmente en el mercado. Dentro del reporte del estado de especies cultivables y de interés agrícola se contempla al pepino dulce *Solanum muricatum* (Castillo, 2011).

El pepino dulce es una planta con un valor económico cada vez mayor, tiene un gran potencial de exportación futura y de excelente calidad de producción, pero no se ha extendido a otras partes del mundo. Hace solo unos años creció el interés por este cultivo y se ha intentado introducirlos en varios países, como Nueva Zelanda, Australia, Estados Unidos y España (Prohens et al., 1996).

Según el sexto informe del Ministerio del Ambiente, sobre la Diversidad Biológica del Perú, destaca que la investigación básica realizada en nuestro país está relacionada a sistemática, inventarios, caracterización genotípica, biología de especies y biología de la conservación, advirtiendo un limitado desarrollo. (MINAM, 2019). El Primer Informe Nacional sobre los Recursos Fitogenéticos de Perú presentado en la Cuarta Conferencia Internacional de la FAO, mencionó que existen pocos planes proyectados para la conservación *in situ* y *ex situ* de recursos fitogenéticos, los cuales son implementados frecuentemente por el INIA, las Universidades y el CIP, ejecutando parcialmente evaluaciones y caracterizaciones (INIA, 2009). La pérdida de la diversidad genética puede tener un impacto a futuro en el mundo; porque las especies silvestres de plantas albergan un remanente de genes, que pueden usarse a futuro en la generación

de nuevas variedades de especie forestales y cultivos, para hacer frente al cambio climático (INIA, 2009).

Según el trabajo de investigación titulado “Caracterización morfológica y molecular en pepino dulce (*Solanum muricatum*) y especies similares relacionadas”, se concluye que existe una gran variabilidad dentro de la especie *Solanum muricatum* y sus especies relacionadas (Torrent,2014).

En el trabajo de investigación “Caracterización de ecotipos de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton.) cultivados en Chile” se indica que la morfología del tallo y hojas de las cuatro selecciones en estudio no tuvo diferencias significativas, a excepción de la longitud de entrenudos y longitud de peciolo en la segunda y primera fecha de evaluación, respectivamente estas diferencias desaparecieron en fechas posteriores (Gambardella,1996).

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. El pepino dulce**

El pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton), pertenece a la familia de las solanáceas, es un cultivo oriundo de la región andina, su nombre científico fue otorgado por William Aiton, en el año 1789, se ubica dentro del género *Solanum*, donde se tiene especies cultivadas de importancia económica como: el tomate (*S. lycopersicum*), la papa (*S. tuberosum*) o la berenjena (*S. melongena*). En este género, el pepino dulce se incorpora en el subgénero *Potatoe*, en la sección *Basartrhum*, serie *Muricata* y es la única especie cultivada (Jana y Contreras, 2019; Torrent, 2014).

Estudiando la evolución del pepino dulce, se evidencia que está ampliamente relacionado con el tomate y la papa, según la taxonomía actual, tan solo se distinguen por mínimas características morfológicas, en general son especies con muy pocas diferencias, asimismo, se han obtenido híbridos somáticos entre pepino dulce y tomate, lográndose obtener frutos (Sakamoto y Taguchi, 1991).

## **2.2.2. Aspectos morfológicos de la planta**

La planta del pepino dulce es de tipo semiarbustivo, cuando se deja crecer libremente presenta un desarrollo rastrero. El sistema radicular es muy numeroso y ramificado, la vida de la planta puede extenderse de forma continua y ser perenne debido a su crecimiento indeterminado (Rodríguez, 2002).

### **2.2.2.1. Tallos y hojas**

Los tallos inicialmente son herbáceos, posteriormente se lignifican, generalmente en la base, manteniéndose herbáceas las zonas apicales. El color va depender de la variedad, pueden ser verdes con diferentes grados de pigmentación, frecuentemente en las zonas cercanas a los nudos. La sección del tallo con frecuencia es circular, sin embargo, en algunas variedades llegan a ser cuadrangular o incluso alada. También se resalta la gran facilidad que tiene el pepino dulce para generar raíces adventicias, este hecho se promueve cuando los entrenudos de los tallos tocan un sustrato húmedo (Jana et al., 2019).

Otras características son el tamaño y la forma de las hojas cambian según las distintas variedades, algunos presentan hojas de tipo simple, otros tienen hojas compuestas, con un variado número de folíolos que oscilan entre 3 a 7. También, es frecuente encontrar hojas sean compuestas al inicio del desarrollo, luego son solo simples y el tamaño de hojas fluctúa de 10 a 30 centímetros (Jana et al., 2019).

### **2.2.2.2. Flores**

Las características de las flores varían de acuerdo a la variedad y las condiciones ambientales donde se desarrollado. Las flores son hermafroditas y de corola pentámera y rotada, se presentan en racimos compuestos con 5 a 20 flores, aunque algunas veces se observan racimos con más de 50 flores. Los pétalos son de color blanco, con franjas moradas en diferente porcentaje. Generalmente presentan una ejerción estigmática (el pistilo sobresale del cono

formado por las 5 anteras, las cuales no están soldadas entre sí y muestra una dehiscencia apical (Jana et al., 2019).

### **2.2.2.3. Frutos**

El fruto es una baya, generalmente bicarpelar, en la cavidad central están contenidas las semillas. Sin embargo, algunas variedades producen frutos partenocárpicos (sin semillas). La forma del fruto varía de acuerdo al tipo de cultivar, generalmente son frutos de forma ovoide, también puede presentar formas acorazonadas, alargados casi cilíndricos e incluso casi esféricos (Jana et al., 2019).

Los frutos maduros tienen como color de fondo al amarillo, amarillo claro (casi crema) o amarillo dorado y va surcado por franjas de color púrpura, el color varía considerando la variedad y las condiciones ambientales, el veteado puede abarcar casi todo el fruto o ser casi inexistente. En algunas variedades el veteado es de color verde y no púrpura. El color de la carne fluctúa entre el amarillo pálido al anaranjado vivo (Torrent, 2014).

### **2.2.3. Cultivo de tejidos: Bases, técnicas y alcances**

La notable diversidad de la reproducción vegetativa natural de las plantas refleja el potencial impresionante de multiplicación que estas poseen. La capacidad intrínseca que poseen las plantas de reproducirse asexualmente constituye la base de para la multiplicación *in vitro* o cultivo de tejidos vegetales. No se inventa un proceso nuevo, la reproducción vegetativa ocurre de manera espontánea en la naturaleza y se incluyen en prácticas agrícolas convencionales y se da a partir de tallos, raíces u hojas. En este caso no hay mezcla de caracteres sexuales como el que se da a nivel de flores (Mejía, 1998).

Entonces, se puede afirmar que la multiplicación *in vitro* no crea procesos nuevos en la planta, sino que las técnicas que se aplican están destinadas a dirigir y asistir el potencial natural de la planta y lo dispone para un nuevo

crecimiento y reproducción con alta eficiencia y de un modo deseado y predecible.

La micropropagación o propagación clonal generara plantas idénticas o semejantes a la planta madre a partir de un pequeño segmento de tejido (Pierik,1997).

Lo anteriormente mencionado, abre una gran posibilidad de usos y aplicaciones en la agricultura con una amplia variedad de beneficios. El cultivo de tejidos es una técnica importante de la biotecnología, actualmente es muy utilizado en el sector agrícola, la versatilidad de esta herramienta permite hacer estudio sobre problemas básicos y aplicarlos a la biología de las plantas; generando de esta manera un nexo entre el laboratorio y el campo (Roca y Miroginski, 1991).

Es por ello que la técnica del cultivo de tejidos para propagar plantas, es un método cada vez más usado, pues une métodos tradicionales con métodos de alta vanguardia.

#### **2.2.4. Biotecnología vegetal y su importancia**

La biotecnología es toda técnica que emplea organismos vivos o partes de ellos para variar productos y convertirlos más útiles en la práctica de la medicina moderna, la agricultura y la industria. La biotecnología agrícola (o agrobiotecnología) puede utilizarse en el mejoramiento de plantas, para aumentar su rendimiento y mejorar el uso de insumos, también es muy utilizado en la caracterización y conservación de los recursos genéticos, así también en el diagnóstico de enfermedades y plagas de los cultivos (Ortiz, 2012).

#### **2.2.5. La micropropagación**

Según Rojas, García y Alarcón (2004), la micropropagación permite la multiplicación masal de un explante con potencial de diferenciarse en condiciones favorables, regenerando nuevos individuos similares a la planta

madre. Su principal objetivo es multiplicar una planta con eficacia, produciendo plantas idénticas a la planta madre (García et al.,1998).

La técnica de micropropagación ha sido aceptada rápidamente en la industria y se emplea tanto en especies hortícolas, ornamentales y aún en leñosas (Ábdelnour y Vincent, 1994). Cuando se logra establecer el protocolo de laboratorio, se evidencian importantes ventajas en comparación a los métodos convencionales, tales como:

- Incremento acelerado del número de plantas por cada genotipo.
- Reducción del tiempo de multiplicación.
- Producción permanente de material (no hay estacionalidad).
- Posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida (en tiempos y costos económicamente viables).
- Mayor control sobre la sanidad del material propagado.
- Facilidad para el transporte del material.
- Posibilidad de multiplicar con rapidez una variedad o ecotipo del cual se posean pocos individuos (Rojas et al., 2004).

El proceso de micropropagación de las plantas tiene varias etapas, entre las cuales se establecen protocolos de trabajo “*in vitro*” y “*ex vitro*”, que van en función a la especie que se está propagando (Delgado, 2012).

#### **2.2.5.1. Etapa 0: Preparativa**

En esta etapa se selecciona la planta madre que será la donante de explantes, dicho material vegetal debe cultivarse cuidadosamente para lograr plantas saludables y en estado fisiológico óptimo para su propagación “*in vitro*” (Pedroza, 2008).

### **2.2.5.2. Etapa 1: Introducción o de establecimiento**

Es la primera etapa del cultivo, aquí se promueve el desarrollo de los meristemos o la embriogénesis mediante el uso de citoquininas (García et al., 1998).

La etapa de establecimiento del cultivo "*in vitro*", se inicia seleccionando los explantes, para luego desinfectarlos y cultivarlos en condiciones de asepsia en un medio de cultivo de iniciación y son mantenidas bajo condiciones ambientales controladas, a fin de garantizar la viabilidad del cultivo (Pedraza, 2008).

### **2.2.5.3. Etapa 2: Multiplicación**

Cuando el explante se ha adaptado a las condiciones del laboratorio, sin existir ningún tipo de contaminación endógena o exógena, buen vigor, color, crecimiento o proliferación de callo, es transferido a un nuevo medio de cultivo, con la incorporación de ciertas hormonas cuyo balance casi siempre favorece a las citoquininas que son necesarias para el proceso de organogénesis (Rojas, 2004). En esta etapa se aprovecha el papel de las citoquininas como componente principal para el crecimiento de los brotes y de su antagonismo a la auxina que controla la dominancia apical (Pedroza, 2008).

Para multiplicar un explante, primero debe crecer, luego es segmentado, generándose nuevos explantes que será cultivado individualmente en un nuevo medio de cultivo, y cuando estos crezcan será nuevamente subdividido; el número de subdivisiones varía según la especie, sin embargo, hay que considerar que no puede exagerar este proceso, porque puede existir efectos negativos (variación somoclonal) en las vitroplantas (Rojas, 2004).

### **2.2.5.4. Etapa 3: Enraizamiento**

Los explantes propagados se dejan crecer y formar sus hojas, el tiempo requerido varía de acuerdo a la especie, posteriormente se cambian a un nuevo medio de cultivo con un balance hormonal modificado por el uso de auxinas, a

fin de inducir la formación y desarrollo de raíces. Al concluir esta etapa la vitroplanta deberá quedar completamente formada (Rojas, 2004).

#### **2.2.5.5. Etapa 4: Aclimatación**

Esta etapa es importante porque permite la adaptación de las vitroplantas a un ambiente *ex vitro*, donde los parámetros ambientales están controlados. Durante la aclimatación las vitroplantas son colocadas en ambientes climatizados durante una a dos semanas y a 10 000 lux, tanto la temperatura y el fotoperiodo son ajustados de acuerdo a la necesidad del especial vegetal propagada (Pedraza, 2008).

#### **2.2.6. Medios de cultivo**

El éxito del cultivo de tejidos vegetales se ve afectado en gran medida por la composición química de los medios empleados, y otros factores ambientales (FAO, 1990).

El medio de cultivo tiene el objetivo de suministrar óptimamente los requerimientos nutritivos para el crecimiento normal de las vitroplantas (Roca y Mroginski, 1993). Un medio de cultivo adecuado contiene sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento, aminoácidos, y otros suplementos orgánicos, los que van variando en composición y concentración (Mejía y Vittorelli, 1988, Pierik, 1990). El medio basal debe incluir los macroelementos (C, H, O, P, K, N, S, Ca, y Mg) y los microelementos (B, Zn, Mn, Cu, Mo, Fe, Cl); además, existe evidencia positiva del uso del níquel en el medio de cultivo (Roca y Mroginski, 1993).

Los medios básicos de Murashige y Skoog (1962) y de Linsmayer y Skoog (L. S. 1965) son los más utilizados en la regeneración *in vitro* de plántulas. Sin embargo, hay que considerar que estas soluciones nutritivas no siempre son las mejores para el crecimiento y desarrollo; algunas especies requieren otras concentraciones de macro y micronutrientes (Pierik, 1990).

### **2.2.6.1. Sales inorgánicas**

Constituida por macro y micronutrientes.

#### **2.2.6.1.1. Macronutrientes**

Los tejidos en cultivo requieren de una fuente continua de compuestos inorgánicos. Además de carbono, hidrógeno y oxígeno, los elementos más indispensables son el nitrógeno (N), fósforo (P), calcio (Ca), Potasio (K), magnesio (Mg), y azufre (S) (Mejía y Vittorelli, 1988, Pierik, 1990).

##### **2.2.6.1.1.1. El nitrógeno**

Es el componente de las proteínas, de la clorofila, influye en el crecimiento de las plantas. Se adiciona al medio de cultivo *in vitro* en grandes cantidades que oscila entre 25 a 60 mM en promedio y se incorpora en forma de nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) y nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ). Además, pueden incorporarse en forma orgánica como glutamina, caseína hidrolizada y aminoácidos, estructuralmente está implicado en la mayoría de moléculas catalíticas y está presente en proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas. En exceso como nitrógeno amoniacal puede reducir la tasa de crecimiento *in vitro*, la escasez de este elemento provoca el amarillamiento de las hojas y enanismo de la planta (Huisa, 2013).

##### **2.2.6.1.1.2. El fósforo**

La concentración varía de 1 a 3 mM. Su absorción ocurre como ion fosfato inorgánico monovalente ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) a partir del fosfato ácido de potasio. Es un constituyente estructural de los ácidos nucleicos, moléculas transportadoras de energía, fosfolípidos y constituyen un buffer de mayor importancia en el medio de cultivo.

### **2.2.6.1.1.3. Calcio**

Es tomado como catión divalente a partir del cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), es constituyente de la pared celular, su deficiencia permite la acumulación de células plurinucleadas e influye en la permeabilidad del plasmalema.

### **2.2.6.1.1.4. Magnesio**

Es tomado como catión divalente a partir del sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), es constituyente de la molécula de la clorofila, siendo por tanto esencial para la fotosíntesis.

### **2.2.6.1.2. Micronutrientes**

Para una adecuada actividad metabólica, las células vegetales requieren de:

#### **2.2.6.1.2.1. Hierro**

Es requerido para la formación de precursores de la clorofila y actúa como catalizador. Al medio de cultivo es incorporado previa solución de sulfato de hierro heptahidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), con el ácido etilendiamino tetracético (EDTA) agente quelanizante.

#### **2.2.6.1.2.2. Manganeso**

Necesario para el mantenimiento de la ultra estructura y el proceso fotosintético (la actividad del fotosistema II, es proporcional al contenido de manganeso). Es incorporado al medio en forma de sulfato tetra o monohidratado ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  o  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ).

#### **2.2.6.1.2.3. Cobre y Zinc**

Son requeridos para la oxidación e hidroxilación de compuestos fenólicos. El cobre es incorporado al medio como consecuencia de la solubilización del sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), el zinc es absorbido a partir del

sulfato de zinc hepta o monohidratado ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  o  $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ) su deficiencia se traduce en inhibición del crecimiento.

#### **2.2.6.1.2.4. Molibdeno y hierro**

Forma parte de las enzimas nitrato reductasa y nitrogenada.

#### **2.2.6.1.2.5. Boro**

Es necesario para el mantenimiento de la actividad meristemática, está involucrado en la síntesis de bases nitrogenadas, en particular el uracilo. Su deficiencia reprime a la síntesis de citoquininas, pero aumenta los niveles de auxina (FAO, 1990).

#### **2.2.6.1.3. Vitaminas**

Compuestos orgánicos necesarios para el normal metabolismo de la especie, pues lleva a cabo una serie de reacciones catalíticas, y son requeridas en pequeñas cantidades. Para el cultivo *in vitro* de órganos, tejidos o células aisladas, es fundamental el uso de vitaminas como:

- a. **Tiamina:** Constituyente esencial de las coenzimas. Esta es realmente la única vitamina esencial para el crecimiento de células vegetales.
- b. **Mioinositol:** Estimula el crecimiento y morfogénesis, posiblemente debido a su participación en la vía fotosintética del ácido galacturónico

#### **2.2.6.1.4. Reguladores de crecimiento**

Son compuestos orgánicos que promueven, inhiben o modifican de alguna forma cualquier proceso fisiológico vegetal y son utilizados en pequeñas cantidades.

- a. **Auxinas:** Ayudan a la elongación de los brotes de las células, cuya función principal es incrementar la plasticidad de las paredes celulares: Además es posible su participación en la síntesis de ARN y proteínas. Las auxinas más ampliamente usadas son: AIB (ácido indol butírico), AIA

(ácido indol acético), estos se utilizan en un rango de 0,1 a 10mg/L. ANA (ácido naftalenoacético), 2,4D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético), estos reutilizan en el rango de 0,001 a 10mg/L.

- b. Giberelinas:** Promueve la elongación y reprime la formación de brotes de cualquier clase de tejido organizado, estimula la división celular. Las Giberelinas (AG<sub>3</sub>) se emplean en algunas especies para obtener plantas libres de virus, principalmente en el cultivo de ápices o meristemos (FAO, 1990; Hurtado, 1994).
- c. Citoquininas:** Promueve la división celular y organización de callo. Los más utilizados son: bencilaminopurina (BAP), cinetina, dimetilaminopurina (2ip) y zeatina en concentraciones de 0,03 a 30mg/L. La BA es la citocinina de empleo generalizado. La kinetina estimula la formación de brotes y de yemas adventicias.

#### **2.2.6.1.5. Agentes solidificantes**

Para la preparación de medios sólidos o semisólidos frecuentemente se usa el agar como sistema de soporte. Es ampliamente utilizado por su estabilidad a toda temperatura de incubación, no se alterado por las enzimas vegetales, no reacciona con los demás ingredientes del medio y no interfiere con la movilización de los otros compuestos del medio (FAO, 1990).

Existe además otros agentes gelificantes como phytigel o gelrite que se puede utilizar en lugar de agar. El phytigel se añade en mitad de la concentración del agar y el gelrite se utiliza a un cuarto de la concentración del mismo; para la conservación a largo plazo se debe utilizar sólo agar (Toledo,1998).

#### **2.2.7. Importancia de la conservación in vitro de germoplasma vegetal**

La conservación *in vitro* es muy importante como estrategia para la conservación y el intercambio de recursos fitogenéticos a nivel mundial; Ofreciendo la oportunidad de acopiar gran número de muestras de diferentes especies en un área reducida, facilitando el acceso a ellas para su evaluación.

Las condiciones asépticas con las que se cultivan garantizan la sanidad de las muestras, por tanto, incrementa el intercambio de material vegetal sano. Sin embargo, para realizar la conservación *in vitro* es primordial el manejo de una metodología de propagación que permita obtener altos porcentajes de supervivencia.

Los bancos de germoplasma *in vitro* tienen como objetivo principal conservar las especies con semillas botánicas de corta y poca viabilidad, cultivos de propagación vegetativa o clonal con alta heterocigosis y requieren ser propagados vegetativamente para conservar su integridad genética. También se han incluido raíces y tubérculos de corta vida en el proceso de almacenamiento, como *Solanum tuberosum* L. (papa), *Ipomoea batata* L. (camote) y *Manihot esculenta* Crantz (yuca) (García et al., 2007).

#### **2.2.8. Métodos de conservación *in vitro***

Existen dos métodos de conservación *in vitro*, se diferencian por el tiempo de almacenamiento requerido. El método de crecimiento mínimo, permite la conservación a corto o mediano plazo, reduciendo la velocidad de crecimiento del explante; El otro método es la crioconservación que garantiza la conservación *in vitro* por tiempo prolongado (García et al., 2007; FAO, 2014).

##### **2.2.8.1. Método de crecimiento mínimo**

Este método es ampliamente utilizado para la conservación de germoplasma, lográndose generar bancos *in vitro* de papa, caña de azúcar, yuca, entre otros (García et al., 2007).

Este método puede garantizar el éxito de un programa de conservación, considerando que es relativamente sencillo y puede ser ejecutado con facilidad con el equipamiento que normalmente cuenta un laboratorio de cultivo de tejidos.

Para reducir la velocidad de crecimiento de las plantas *in vitro* es necesario alterar las condiciones óptimas de cultivo. Para ello se realizan modificaciones en la composición del medio de cultivo, como pueden ser la disminución del

contenido mineral (Rayas et al., 2002), la adición de agentes osmóticos activos y/o la incorporación de retardadores de crecimiento (García et al., 2007).

Este método es también denominado como crecimiento reducido, pues se basa en la disminución de la división celular y el metabolismo de la planta. Tiene como objetivos incrementar la longevidad *in vitro* de los cultivos sin que se produzcan cambios genéticos, por tanto, no hay una detención total de los procesos celulares sino una disminución en la velocidad con que ocurren los mismos y así se reduce la frecuencia de transferencia de las plantas a medio de cultivo fresco (Roca et al., 1994).

### **2.2.9. Bancos de germoplasma**

Los bancos de germoplasma desempeñan un papel fundamental en la conservación, la disponibilidad y el uso de una amplia diversidad fitogenética para la mejora de los cultivos y con ello la seguridad alimentaria y nutricional. Sirven de puente entre el pasado y el futuro, asegurando la disponibilidad continua de los recursos fitogenéticos para la investigación, la reproducción y la mejora del suministro de semillas para un sistema agrícola sostenible y resiliente. La conservación y el uso sostenible de los recursos fitogenéticos depende de una gestión eficaz de los bancos de germoplasma mediante la aplicación de normas y procedimientos (FAO, 2014).

## **2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

- a. **Cultivo de tejidos:** Conjunto de técnicas con las cuales se puede ejercer un control relativo sobre los procesos morfogénicos, fisiológicos y bioquímicos que se llevan a cabo en los tejidos bajo estudio (Ábdelnour y Vincent, 1994).
- b. **Micropropagación:** proceso que consiste en producir plantas a partir de tejidos o células cultivadas asépticamente en un tubo de ensayo o en otro recipiente en que se pueda controlar estrictamente las condiciones de ambiente y la nutrición. (Hartmann y Kester 1987).

- c. **Explante:** Es el órgano, tejido o fragmento de tejido, células, etc., extraído del material parental para iniciar el cultivo *in vitro* (Abdelnour y Escalant, 1994).
- d. **Marcador morfológico:** se hace referencia a las características fenotípicas que pueden identificarse con facilidad tales como la forma, el tamaño, el color, etc., (Azofeita-Delgado, 2006).
- e. **Caracterización:** La caracterización determina la expresión de caracteres altamente heredables que van desde las características morfológicas, fisiológicas o agronómicas hasta el contenido de proteínas y aceites de las semillas, pasando por los marcadores moleculares (FAO, 2014).
- f. **Totipotencia:** Potencialidad de las células o tejidos para formar todo tipo de células y/o regenerar una planta (, 1990). La totipotencialidad de la célula mantiene la posibilidad de expresar todo el potencial genético de la planta madre (Peña, 2002).

### **CAPÍTULO III**

#### **MARCO FILOSÓFICO**

Las plantas son parte vital de la diversidad biológica del mundo y juegan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio ambiental en la tierra y la estabilidad de los ecosistemas (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica, 2009).

La desaparición de una biodiversidad importante y masiva es uno de los mayores desafíos que enfrenta la comunidad internacional.

Actualmente se han descrito casi dos millones de especies vivas, aunque se calcula que hay al menos diez millones. Se sabe que más del 99% de todas las especies que alguna vez han vivido sobre la tierra se han extinguido sin dejar descendencia (Rodríguez y Shedden, 2009).

De las especies descritas, de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), aproximadamente 15 600 se encuentran amenazadas de extinción. La tasa de extinción supera a las de aparición de nuevas especies.

En nuestros días se reconoce que las especies tienen un valor inmenso para el ser humano como fuentes de alimento, medicina, materia prima para la construcción o combustibles. Adicionalmente, son innegables los valores recreativos, emocionales, culturales, estéticos y espirituales que proporcionan las distintas especies al hombre. (Rodríguez y Shedden, 2009).

Numerosas organizaciones internacionales consideran de vital importancia revertir la llamada “sexta ola” de extinción. “La sexta extinción” (1997). Este no es el primer libro que sostiene que los humanos se han convertido en la especie dominante. Puede estar a punto de causar una gran proporción de desastres biológicos al erosionar la biodiversidad en todo el mundo a una increíble velocidad. Por ejemplo, la deforestación y la invasión de los bosques tropicales

debido al desarrollo económico puede conducir rápidamente a la extinción de aproximadamente 100.000 especies cada año (Leakey y Lewin, 1997).

Cabe señalar como causante del desequilibrio ecológico es la primera revolución verde fue principalmente la selección genética de nuevas variedades de cultivos de alto rendimiento, que estuvo relacionada con el desarrollo intensivo del riego y el uso extensivo de fertilizantes químicos, pesticidas, herbicidas, tractores y otra maquinaria pesada.

Del mismo modo, el aspecto principal de la nueva revolución verde es la creación de Organismos Genéticamente Modificados (OGM), comúnmente llamados transgénicos (Ceccon, 2008).

Lo que inicialmente se consideró como un gran avance en la investigación y cubrió las necesidades básicas del mundo, lo que provocó una gran pérdida de la biodiversidad agrícola. La producción de variedades mejoradas de cultivos específicos ha llevado al abandono de muchas variedades tradicionales y locales, que se han extinguido u olvido (García y Serrano, 2011).

En América Latina se concentra la mayor diversidad de recursos naturales. Por consiguiente, en términos de conservación in situ y ex situ, el uso sostenible de los recursos, la seguridad alimentaria y la salud de las comunidades locales son las principales prioridades (Ladio, 2006).

En la actualidad, la etnobotánica tiene un papel protagónico en la conservación biológica y cultural; los avances de sus investigaciones nos dan como alternativa la generación de bancos de germoplasma para conservar nuestra biodiversidad autóctona y evitar la erosión genética por la introducción de especies exóticas.

## CAPÍTULO IV

### MARCO METODOLÓGICO

#### 4.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se ejecutó en dos etapas, una en el Centro Experimental Agrícola “La Agronómica” del Instituto Basadre de Investigación en Recursos Genéticos y Agrobiotecnología (IRGAB) de la UNJBG, donde se llevó a cabo la instalación de una parcela experimental con cultivo de pepino dulce ecotipo morado, colectado en la región de Tacna del cual se obtuvo el material vegetal para la caracterización morfológica y para el cultivo *in vitro*. La segunda etapa se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNJBG, aquí se desarrolló la micropropagación *in vitro* del pepino dulce eco tipo morado.

#### **CEA “La Agronómica”- IRGAB:**

Dirección : Av. Municipal s/n.  
Distrito : Gregorio Albarracín Lanchipa  
Provincia : Tacna  
Región : Tacna

#### **Laboratorio de Biotecnología Vegetal- FCAG:**

Dirección : Av. Jorge Basadre s/n. (Fundo los Pichones – Sur)  
Distrito : Tacna  
Provincia : Tacna

Región : Tacna

Coordenadas: latitud sur 17°59'38", longitud oeste 74°14'22", altitud 550 msnm (Google maps).

## **4.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo de investigación es un estudio de tipo experimental que busca encontrar los mejores medios de cultivo en las diferentes etapas de la micropropagación *in vitro*, con el fin de conservar el pepino dulce ecotipo morado colectado en la región de Tacna.

## **4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA**

La muestra para el proceso de caracterización morfológica, estuvo constituida por un total de 40 yemas nodales de pepino dulce ecotipo morado colectado en Pachía (El peligro). Para el proceso de cultivo *in vitro* (micropropagación) se distribuyó de la siguiente manera: en la etapa de establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro*, la muestra estuvo constituida por 40 explantes nodales para cada caso, y para la etapa de aclimatación 20 plántulas y finalmente para la etapa de conservación *in vitro* la muestra estuvo conformada por 40 explantes nodales .

## **4.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

### **4.4.1. Identificación de las variables**

#### **a. Cultivo in vitro tejidos vegetales: Micropropagación**

- **Etapas I: Establecimiento del cultivo**

#### **Variables dependientes (Y)**

Y1 : Contaminación de explantes (%).

Y2 : Supervivencia de explantes (%).

Y3 : Altura de brotes por explantes (cm).

Y4 : Número de brotes por explantes (N°).

**Variables independientes (X)**

A: Niveles de 6-bencil aminopurina (BAP)

a<sub>1</sub>: 0,0 mg/L

a<sub>2</sub>: 0,5 mg/L

a<sub>3</sub>: 1,0 mg/L

a<sub>4</sub>: 2,0 mg/L

- **Etapa II: Multiplicación**

**Variables dependientes (Y)**

Y1: Altura de brotes por explantes (cm).

Y2: Número de brotes por explantes (N°).

**Variables independientes (X)**

A: Niveles de 6-bencil aminopurina (BAP)

a<sub>1</sub>: 0,0 mg/L

a<sub>2</sub>: 0,5 mg/L

a<sub>3</sub>: 1,0 mg/L

a<sub>4</sub>: 2,0 mg/L

- **Etapa III: Enraizamiento**

**Variables dependientes (Y)**

Y1: Altura de brotes por explantes (cm).

Y2: Número de nudos por explantes(Nº).

Y3: Longitud de raíces (cm)

Y4: Número de raíces (Nº)

### **Variables independientes (X)**

A: Niveles de ácido indolbutírico (AIB)

a1: 0,0 mg/L

a2: 0,5 mg/L

a3: 1,0 mg/L

a4: 2,0 mg/L

- **Etapa IV: aclimatación**

### **Variables dependientes (Y)**

Y1: Supervivencia de plántulas (%).

### **Variables independientes (X)**

A: Tipo de sustrato

a1: Perlita

a2: Turba

## **b. Conservación *in vitro***

### **Variables dependientes (Y)**

Y1: Contaminación de explantes.

Y2: Altura de brotes por explantes (cm)

Y3: Número de nudos por explante

Y4: Número de raíces por explantes.

### **Variables independientes (X)**

A: Niveles de sorbitol

a<sub>1</sub>: 0,0 %

a<sub>2</sub>: 2,0 %

a<sub>3</sub>: 4,0 %

a<sub>4</sub>: 6,0 %

## **4.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **4.5.1. Metodología**

#### **4.5.1.1. Preparación de soluciones de hormonas**

##### **a. Preparación de una solución concentrada de hormona 6-bencil amino purina (BAP)**

- Pesar 0,01 g de BAP y disolver bien con algunas gotas de NaOH (1N) en un vaso precipitado de vidrio de 10 ml.
- Posteriormente agregar lo diluido en una fiola de 100 ml y enrasar con agua destilada.
- Finalmente agregarlo en un envase estéril debidamente rotulado y conservar a 0 °C.
- Un ml de la solución concentrada (1 000 ppm) contiene 0,1 mg de BAP.

## **b. Preparación de solución concentrada de la hormona ácido Indobutírico (AIB)**

- Pesar 0,01 g de AIB y disolver bien con algunas gotas de NaOH (1N) en un vaso de precipitados de 10 ml.
- Posteriormente agregar lo diluido en una fiola de 100 ml y enrasar con agua destilada.
- Finalmente agregarlo en un envase estéril debidamente rotulado y conservar a 0 °C.
- Un ml de la solución concentrada (1 000 ppm) contiene 0,1 mg de AIB.

## **c. Preparación de soluciones stock**

Las soluciones stock, utilizados en el presente trabajo de investigación son soluciones concentradas de nutrientes, el medio Murashige y Skoog (MS,1962) el medio de cultivo MS, tiene un elevado número de compuestos y alguno de ellos se emplean a muy baja concentración, ante esto es mucho más practico preparar soluciones madres o Stock concentradas. De esta forma se reduce el tiempo en la preparación del medio y minimiza los errores por pesadas de los componentes utilizados en mínimas cantidades (tabla 1).

### **• Solución stock "A" Medio Murashige & Skoog (MS)**

Pesar los siguientes reactivos:

NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>                      7,2 g

KNO<sub>3</sub>                              9,5 g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetado a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

- **Solución stock “B” Medio Murashige & Skoog (MS)**

Pesar los siguientes reactivos:

CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O                      2,2 g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetada a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

- **Solución stock “C” Medio Murashige & Skoog (MS)**

Pesar los siguientes reactivos:

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O                      1,85 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>                              0,68 g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetada a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

- **Solución stock “D” Medio Murashige & Skoog (MS)**

Pesar los siguientes reactivos:

FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O                      0,0278 g

Na<sub>2</sub>EDTA                            0,373 g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetada a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

- **Solución stock “E” Medio Murashige & Skoog (MS)**

Pesar los siguientes reactivos (microelementos):

MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,223	g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,086	g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,062	g
KI	0,0083	g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,0025	g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,00025	g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,00025	g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetada a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

- **Solución stock “F” Medio Murashige & Skoog(MS)**

Vitaminas

Pesar los siguientes reactivos:

Ácido nicotínico	0,001	g
Piridoxina HCl	0,0005	g
Glicina	0,002	g
Tiamina HCl	0,0001	g
Myo-inositol	0,1	g

Disolver en 500 ml de agua destilada y conservar la solución en un envase debidamente etiquetada a 4 °C.

50 ml de la solución contienen los reactivos para un litro de medio de cultivo.

**Tabla 1**

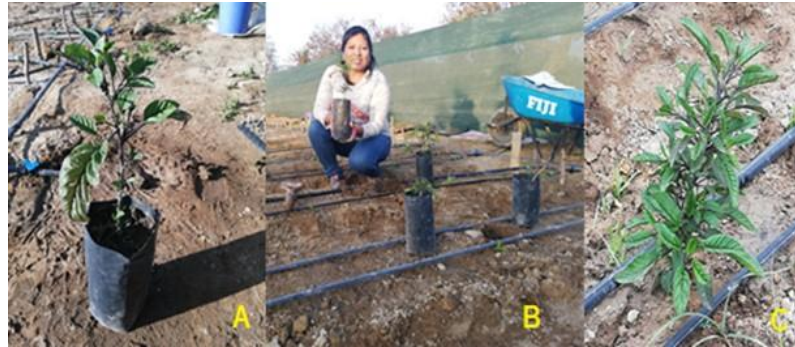
*Composición de sales minerales del medio MS*

Compuesto	g/L	Compuesto	g/L
(NH <sub>4</sub> )NO <sub>3</sub>	1,65	KI	0,00083
KNO <sub>3</sub>	1,9	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,00025
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,44	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,000025
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,37	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,000025
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,17	Mioinositol	0,1
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0278	Tiamina HCl	0,0001
Na <sub>2</sub> EDTA. 2H <sub>2</sub> O	0,0372	Ácido nicotínico	0,0005
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,0169	Piridoxina HCl	0,0005
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0086	Glicina	0,002
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,0062		

Fuente: Mejia, 1994

#### **4.5.1.2. Actividad 1: Caracterización morfológica**

El ensayo se realizó en el Fundo la Agronómica - IRGAB, para establecer el ensayo se recolectaron esquejes de plantas de pepino dulce ecotipo morado de la provincia de Tacna. Los esquejes fueron enraizados directamente en bolsas, utilizando un sustrato de tierra y arena en la proporción 2/3 y 1/3 respectivamente y estaquillado en bandejas germinadoras en un sustrato de turba y en condiciones de invernadero. Luego de 40 días, cuando las plantas alcanzaron 20 cm. de altura, se llevaron al campo, se utilizaron hileras simples con una distancia de plantación de 1 m entre hileras y 0,8 m entre plantas. El manejo del cultivo se efectuó de acuerdo al sistema tradicional de la zona.



**Figura 1.** Instalación de parcela de investigación de pepino dulce ecotipo morado

Nota: (a) plantón de pepino dulce (b) instalación en campo definitivo de plántones de pepino dulce (c) cultivo de pepino dulce.

Fuente: Elaboración propia

Para obtener una caracterización morfológica de las plantas estudiadas se realizaron evaluaciones durante todo el periodo vegetativo y reproductivo. Para las evaluaciones del periodo vegetativo se escogieron 10 plantas. Las observaciones se realizaron en el tallo principal de cada planta y en hojas de cada una, y se iniciaron cuando el 50 % de floración, es decir con un 50 % de las flores existentes estuvieron en antesis.

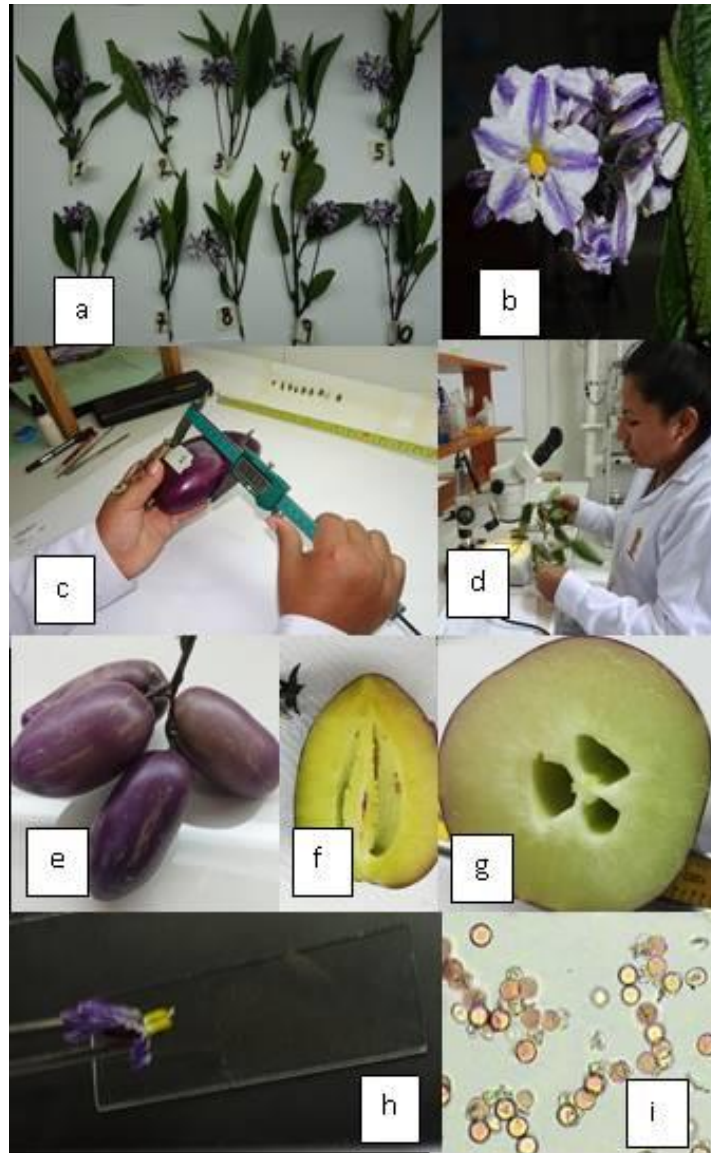


**Figura 2.** Evaluación del crecimiento y desarrollo del cultivo de pepino dulce ecotipo morado

Fuente: Elaboración propia

Para las evaluaciones del periodo reproductivo se consideraron diez flores completamente abiertas de cada selección de pepino dulce y 10 frutos al

momento de presentar cambios en el color. (Gambardella,1996). Los descriptores morfológicos que se utilizaron fueron los del IPGRI.



**Figura 3.** Caracterización morfológica del pepino dulce ecotipo morado

Nota: (a) evaluación de la inflorescencia del pepino dulce (b) evaluación de la flor (c) evaluación del fruto (d) evaluación de tallo y hoja (e) evaluación de la forma del fruto (f) corte longitudinal del fruto (g) evaluación de los lóculos del fruto (h) cantidad de polen (i) viabilidad del polen.

Fuente: Elaboración propia

### 4.5.1.3. Actividad 2: Cultivo *in vitro* (Micropropagación)

#### 4.5.1.3.1. Actividad 2.1: Establecimiento *in vitro*

Al ser un experimento que consta de diferentes niveles hormonales, se procedió a preparar los mismos de manera individual; cada tratamiento está constituido de 250 ml de medio de cultivo con su respectiva concentración hormonal.

#### ***Preparación del medio de cultivo***

Se pesó en una balanza analítica la sacarosa la cual se colocó en un vaso precipitado de 500 ml que contenía 100 ml de agua destilada se procedió a diluir y luego se agregó las soluciones stock del “A” al “F” ml de medio de cultivo, inmediatamente se procedió a agregar el nivel de la fitohormona BAP respectivo a cada tratamiento. Seguidamente se completó con agua destilada enrazando la solución en una fiola de 250 ml; luego se devolvió el medio al vaso precipitado para medir el pH y ajustarlo 5,6, para lograr esto se utilizó gotas de NaOH (1N) para subir el pH y para bajarlo HCl(1N); después se agregó el agente gelificante Phytigel y se le llevó al microondas por 59 segundos a una temperatura de 190 °C hasta que el medio empiece a hervir. Luego se dispensó rápidamente en tubos de ensayo, el medio caliente para evitar que se gelifique, posteriormente se taparon los tubos con papel aluminio y se autoclavó a 15 libras de presión por 15 min., de esta manera se logra tener listo para la siembra.



**Figura 4.** Preparación del medio de cultivo

Nota: (a) sales para la preparación de soluciones madres (b) pH-metro (c) medio de cultivo esterilizado.

Fuente: Elaboración propia

El establecimiento *in vitro* del pepino dulce ecotipo morado se realizó por siembra de yemas uninodales. Para realizar la siembra en el medio de cultivo con los respectivos tratamientos de BAP, las yemas fueron sometidas a un protocolo de desinfección para cuidar la asepsia.

El protocolo consistió en lavar en una solución de jabón líquido neutro por 15 min. Se enjuagó con agua corriente, luego se los colocó en etanol a 70 % por 3 s<sup>-1</sup> y se enjuagó en agua destilada estéril y por último en una solución a 20 % de hipoclorito de sodio comercial por 10 min., y se enjuagó tres veces en agua destilada estéril, de esta manera fueron colocadas en el medio de cultivo. Asimismo, se señala que durante el proceso de siembra que se realizó en la cámara de flujo laminar en total asepsia utilizando todo los materiales e instrumental estéril según sea el caso; a calor seco (estufa) o calor húmedo (autoclave), la asepsia es una condición muy importante que influye en el éxito del experimento.

Después de la siembra los tubos son sellados con film, rotulados y llevados al cuarto de cultivo donde permanecen a una temperatura de 18 °C a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad. Luego se procedió a realizar las evaluaciones de las variables establecidas en el tiempo señalado 15 y 30 días.

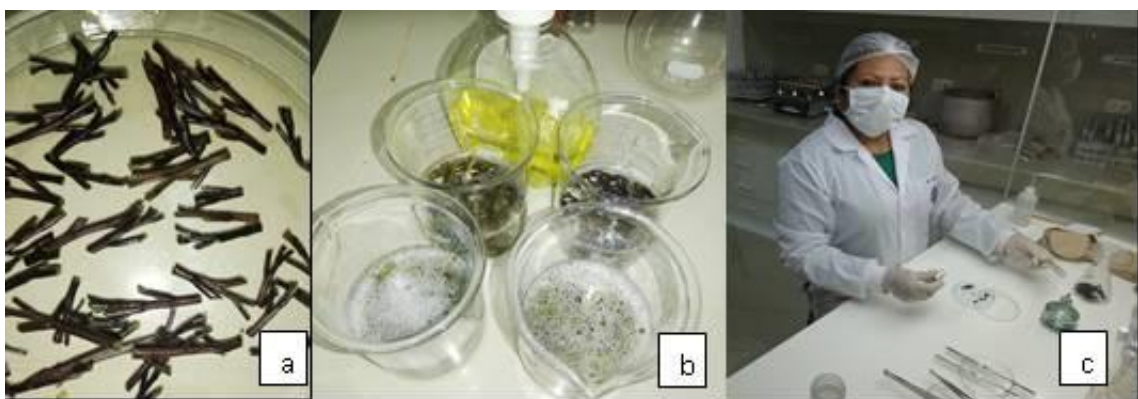


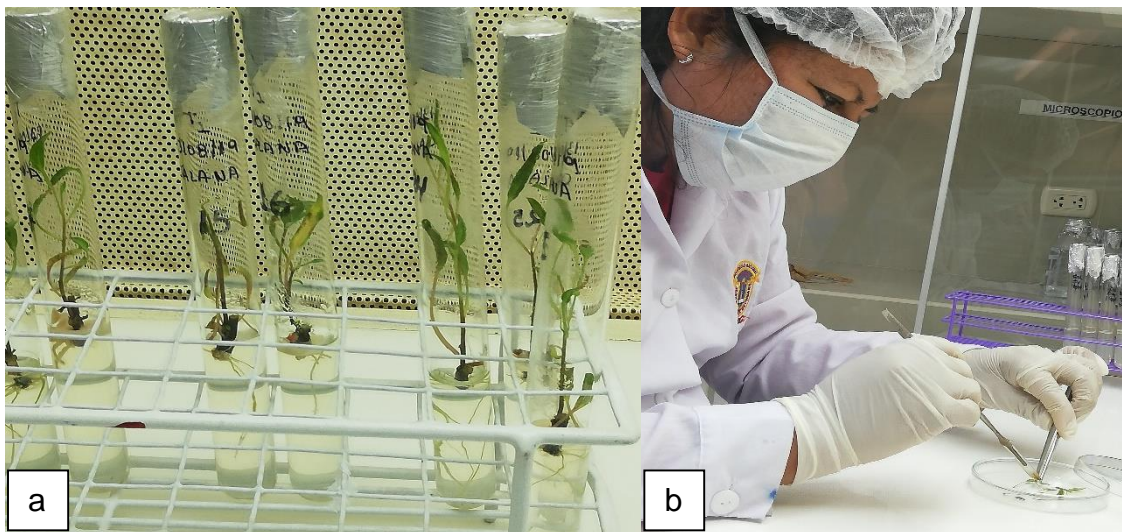
Figura 5. **Protocolo de desinfección para iniciar el establecimiento *in vitro***

Nota: (a) segmentos nodales de pepino dulce (b) desinfección de las yemas de pepino dulce (c) establecimiento *in vitro*

Fuente: Elaboración propia

#### 4.5.1.3.2. Actividad 2.2: Multiplicación *in vitro*

En esta etapa se utilizó segmentos uninodales de los explantes establecidos *in vitro* que se sembraron en medio de cultivo MS suplementado con diferentes concentraciones de BAP, el cual se preparó de la misma forma de actividad anterior y bajo las mismas condiciones de asepsia y de cultivo. Esta etapa se llevó a cabo para seleccionar el mejor medio.



**Figura 6.** Multiplicación *in vitro*

Nota: (a) vitroplantas de pepino dulce (b) segmentación de yemas uninodales.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.5.1.3.3. Actividad 2.3: Enraizamiento *in vitro*

En esta etapa se utilizó segmentos uninodales de los explantes multiplicados *in vitro* para ser colocados en medio de cultivo MS suplementado con diferentes concentraciones de la auxina AIB, con la finalidad de seleccionar el mejor medio de cultivo para lograr el enraizamiento del pepino dulce ecotipo morado, la evaluación se realizó a los 45 días.



**Figura 7.** Enraizamiento *in vitro*

Fuente: Elaboración propia

#### **4.5.1.3.4. Actividad 2.4: Aclimatación**

La aclimatación se realizó de la siguiente manera:

Se seleccionaron plántulas mayores de 3 cm de longitud, se abrió los tubos y se eliminó todo el medio del cultivo de sus raíces y se trasplantaron en vasos para aclimatar, los cuales contenían los dos sustratos que se utilizaron como tratamiento, siguiendo con el proceso de aclimatación se disminuyó paulatinamente la humedad relativa, que consiste en abrir poco a poco la cubierta de la bandeja, el proceso de aclimatación duró 30 días.

Durante este periodo se realizaron riegos con pulverizaciones (Ávila y Salgado, 2006). La aclimatación se realizó inicialmente en la cámara de termoterapia donde las condiciones de humedad (75 %), temperatura (23 °C) estuvieron controladas, el fotoperiodo fue de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, posteriormente fueron trasladados a condiciones de invernadero, la temperatura osciló entre 15 a 23 °C.



**Figura 8.** Aclimatación de plántulas *in vitro*

Fuente: Elaboración propia

#### 4.5.1.4. Actividad 3: Conservación *in vitro*

La conservación *in vitro* a mediano plazo del pepino dulce ecotipo morado fue utilizando el método del mínimo crecimiento, se utilizó segmentos uninodales de los explantes multiplicados *in vitro* para ser colocados en medio de cultivo MS suplementado con diferentes concentraciones de sorbitol, con la finalidad de seleccionar el mejor medio de cultivo para lograr la conservación del pepino dulce ecotipo morado. Las evaluaciones se realizaron en un periodo de 2 meses.

Asimismo, una ventaja de la conservación *in vitro* mediante la técnica de cultivo de tejidos es la eliminación de patógenos vegetales (Lizárraga, 1991); Por ello, se obtuvo plantas sanas.



**Figura 9.** Conservación *in vitro*

Fuente: Elaboración propia

## **4.5.2. Materiales y/o instrumentos**

### **4.5.2.1. Material biológico**

Explantos nodales de pepino dulce *Solanum muricatum* Aiton ecotipo morado, proveniente del sector de Peligro del distrito de Pachía, provincia de Tacna.

### **4.5.2.2. Material de laboratorio**

#### **4.5.2.2.1. Material de vidrio**

- Placas Petri de 70 x 10 mm y 200 x 15 mm
- Matraces Erlenmeyer 250 ml, 500 ml y 1 000 ml
- Vaso de precipitado de 50 ml y 100 ml
- Balones de 1 000 ml y 2 000 ml
- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Tubos de ensayo de 15 x 125 mm
- Fiolas de 500 ml y 1 000 ml
- Mechero
- Baguetas

#### **4.5.2.2.2. Material de plástico**

- Pizetas
- Tapas de propileno
- Guantes
- Cinta parafilm

#### **4.5.2.2.3. Material de metal**

- Pinzas
- Mango de bisturí
- Hojas de bisturí
- Tijeras

- Gradillas
- Espátula

#### **4.5.2.3. Medios de cultivo, reactivos, equipos y otros**

##### **a. Medios de cultivo**

- Medio Murashige & Skoog
- Sucrosa
- Phytigel
- Mioinositol

##### **b. Reactivos**

- HCl 0,1 N
- Na<sub>2</sub>OH 0,1 N

##### **c. Equipos**

- Autoclave
- Estufa
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- pH-metro
- Destilador de agua

##### **d. Otros**

- Mascarillas
- Guantes
- Alcohol de 70 % y 96 %
- Termómetro

#### **4.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS**

Se calculó el promedio y la media total de los datos obtenidos. Se aplicó un análisis de varianza de un solo factor y comparación múltiple de medias ( $< 0,05$ ) utilizando el programa estadístico INFOSTAT v25 Para el análisis de varianza, se utilizó el método de transformación raíz cuadrada ( $\sqrt{Y}$ ), para estandarizar los datos. Los promedios de los datos obtenidos se utilizaron con la prueba de comparaciones múltiples.

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS

#### 5.1 RESULTADO DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL PEPINO DULCE ECOTIPO MORADO

En este capítulo se presentan los resultados que se obtuvieron en la investigación y que permiten la demostración de la hipótesis.

##### Tabla 2

*Caracterización morfológica del tallo de pepino dulce ecotipo morado, evaluado utilizando los descriptores para pepino (*Solanum muricatum*) del IPGRI*

Nro.	Descriptores del tallo	Mínimo	Máximo	Promedio	Diferencia significativa (prueba T Student $P \leq 0,05$ )
1	Longitud de tallo (cm)	24	42	35	*
2	Longitud de entrenudos (cm)	1	3	2,34	*
3	Grado de ramificación (escala IPGRI)	Intermedio	Intermedio	Intermedio	NS
4	Intensidad de antocianina de la punta del brote	Ausente	Ausente	Ausente	NS
5	Densidad de pubescencia del tallo	Escaso	Escaso	Escaso	NS
6	Color del tallo	Púrpura oscuro	Púrpura oscuro	Púrpura oscuro	NS
7	Protuberancia de raíces en los nudos	Intermedio	Intermedio	Intermedio	NS

(\*): Si existe diferencia significativa

NS: No existe diferencia significativa

Fuente: Elaboración propia

##### Interpretación

En la tabla 2, se observa el resultado de la caracterización del tallo del Pepino (*Solanum muricatum* L) ecotipo morado de diez tallos evaluados y dan como resultado que un 71,4 % de las variables evaluadas no presentan diferencias significativas (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ) y corresponden específicamente a las variables cualitativas, a diferencia de los descriptores cuantitativos donde sí existe diferencia significativa (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ), obteniéndose un promedio para longitud de tallo y longitud de entrenudos de 35 cm y 2.34 cm respectivamente.

**Tabla 3**

*Variable cualitativa y cuantitativa de la hoja de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para Solanum muricatum del IPGRI*

Nro.	Descriptores de la Hoja	Mínimo	Máximo	Promedio	Diferencia significativa (Prueba T Student $P \leq 0,05$ )
1	Color del peciolo	Púrpura verdoso	Púrpura verdoso	Púrpura verdoso	NS
2	Color de la hoja (envés)	Verde Claro	Verde Claro	Verde Claro	NS
3	Color de la hoja (haz)	Verde Oscuro	Verde Oscuro	Verde Oscuro	NS
4	Coloración de antocianinas de las venas de la hoja (envés)	Vena principal purpura y 1/3 de las venas 2darias de color verde	Vena principal purpura y 1/3 de las venas 2darias de color verde	Vena principal purpura y 1/3 de las venas 2darias de color verde	NS
5	Coloración de antocianinas de las venas de la hoja (haz)	Venas principales de color púrpura y el resto verde	Venas principales de color púrpura y el resto verde	Venas principales de color púrpura y el resto verde	NS
6	Actitud de la hoja	Semi erecta	Semi erecta	Semi erecta	NS
7	Posición de la parte más ancha de la lámina de la hoja	Medio	Medio	Medio	NS
8	Tipo de hoja	Simple	Simple	Simple	NS
9	Forma de hoja	Alargada	Alargada	Alargada	NS
10	Forma del ápice	Agudo	Agudo	Agudo	NS
11	Variabilidad en el tamaño de la hoja	Bajo	Bajo	Bajo	NS
12	Tipo de vellosidad de la hoja haz	Hirsuto	Hirsuto	Hirsuto	NS
13	Tipo de vellosidad de la hoja envés	Hirsuto	Hirsuto	Hirsuto	NS
14	Actitud de la superficie de la hoja	Plana	Plana	Plana	NS
15	Longitud del peciolo (cm)	7	9,5	8,35	*
16	Rugosidad de la hoja	Medio	Medio	Medio	NS
17	Largo de la hoja (cm)	9,5	18	14,68	*
18	Ancho de la hoja (cm)	4	6,5	5,63	*
19	Relación de largo / Ancho de la hoja	2,1	3,1	2,61	*

(\*): si existe diferencia significativa      NS: no existe diferencia significativa.  
Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En la tabla 3, se observa el resultado de las evaluaciones para los descriptores cualitativos y cuantitativos de la hoja del Pepino (*Solanum muricatum* L) ecotipo morado, de diez hojas evaluadas y dan como resultado que un 78,95 % de las variables evaluadas no presentan diferencia significativa

(prueba T Student  $P \leq 0,05$ ) y corresponden específicamente a las variables cualitativas, a diferencia de los descriptores cuantitativos donde sí presenta diferencias significativas (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ). Las variables cuantitativas donde se encontraron diferencias significativas fueron: Longitud de peciolo, largo de la hoja, ancho de la hoja, relación de largo/ancho de Hoja; obteniéndose los promedios de 8,35 cm; 14,68 cm; 5,63 cm; 2,61 cm respectivamente.

#### Tabla 4

*Variable cualitativa y cuantitativa de la flor de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para Solanum muricatum del IPGRI*

Nro.	Descriptores de la flor	Mínimo	Máximo	Promedio	Diferencia significativa (prueba T Student $P \leq 0,05$ )
1	Número de flores por inflorescencia	14	24	17,5	*
2	Forma de la corola	Semi estrellado	Semi estrellado	Semi estrellado	NS
3	Longitud del pétalo de la base hasta la punta (A) (mm)	14,08	16,82	14,08	*
4	Longitud del pétalo de la base hasta el seno (B) (mm)	7,96	13,08	10,57	*
5	Relación entre A y B	1,14	1,91	1,459	*
6	Color de la corola	Combinación (Blanco 25-50% y morado 50-75%)	Combinación (Blanco 25-50% y morado 50-75%)	Combinación (Blanco 25-50% y morado 50-75%)	NO
7	Longitud del sépalo (mm)	5,89	8,5	7,324	*
8	Longitud del estambre (mm)	6,01	7,75	6,792	*
9	Exposición del estilo (mm)	5,89	8,50	6,792	SI
10	Producción de polen	Medio	Alto	Medio	SI
11	Tipo de inflorescencia	Generalmente múltiparas	Generalmente múltiparas	Generalmente múltiparas	NO

(\*): si existe diferencia significativa      NS: no existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración propia

#### Interpretación

En la tabla 4, se observa el resultado de las evaluaciones para los descriptores cualitativos y cuantitativos de la flor del pepino (*Solanum muricatum* L) ecotipo morado, de diez flores evaluados y dan como resultado que el 75 % de las variables cualitativas evaluadas no presentan diferencias significativas (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ), a diferencia de los descriptores cuantitativos donde el 100 % sí presentan diferencia significativa (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ).

**Tabla 5**

*Variable cualitativa y cuantitativa del fruto de pepino dulce ecotipo morado evaluado utilizando los descriptores para Solanum muricatum del IPGRI*

Nro.	Descriptores del fruto	Mínimo	Máximo	Promedio	Diferencia significativa (prueba T Student P≤0,05)
1	Número de frutas por infrutescencia	3	4	3,5	*
2	Número de frutos por planta.	3	4	3,5	*
3	Rendimiento de fruta por planta [g]	360	560	473,55	*
4	Peso medio de la fruta [g]	121,90	150,00	135,23	*
5	Uniformidad del tamaño del fruto	Alto	Alto	Alto	NS
6	Longitud del fruto [cm]	8,70	9,50	9,1	*
7	Ancho del fruto [cm]	4,40	5,50	5	*
8	Posición de la parte más ancha de la fruta	Menos de 1/3 de la base a la punta	Entre ¼ y ½ de la base a la punta	Entre ¼ y ½ de la base a la punta	*
9	Relación largo / ancho de fruta	1,60	2,10	1,83	*
10	Curvatura de la fruta	Ninguna	Ligeramente corvada	Ninguna	*
11	Forma de la sección transversal de la fruta	elíptica	Triangular	Triangular	*
12	Forma predominante de la fruta	Obovada	Obovada	Obovada	NS
13	Superficie del fruto	Suave	Suave	Suave	NS
14	Forma del ápice de la fruta	Sobresaliente	Sobresaliente	Sobresaliente	NS
15	Forma de hombro de fruta	Muy deprimido	Muy deprimido	Muy deprimido	NS
16	Longitud del pedicelo de la fruta (mm)	14,00	16,00	15,25	*
17	Color de fruta inmadura	Verde con rayas moradas	Verde con rayas moradas	Verde con rayas moradas	NS
18	Color predominante de la fruta en la madurez comercial	Púrpura negro	Púrpura negro	Púrpura negro	NS
19	Color secundario de la fruta en la madurez comercial	No tiene	No tiene	No tiene	NS
20	Distribución secundaria del color del fruto en la madurez comercial	-	-	-	-
21	Superficie de fruta cubierta por color adicional de fruta	-	-	-	-
22	Brillo de la epidermis de la fruta	Brillante	Brillante	Brillante	NS
23	Firmeza del fruto en la parte más amplia	Firme	Firme	Firme	NS
24	Número de lóbulos por fruta.	2	4	3	*
25	Longitud del área placentaria interna [cm]	5,50	7,20	6,22	*
26	Anchura placentaria interna [cm]	1,50	2,20	1,75	*
27	Relación de longitud / amplitud placentaria interna	3,30	4,10	3,57	*
28	Densidad de pulpa de fruta	Densa	Densa	Densa	NS
29	Color de pulpa de fruta	Amarillo anaranjado	Amarillo anaranjado	Amarillo anaranjado	NS
30	Intensidad del color de la pulpa de la fruta	Intermedio	Intermedio	Intermedio	NS
31	Sabor a frutas	Moderadamente dulce	Moderadamente dulce	Moderadamente dulce	NS
32	Presencia de mal sabor amargo	Ausente	Ausente	Ausente	NS
33	Sensibilidad de la fruta (susceptibilidad) a los hematomas	Resistente	Resistente	Resistente	NS
34	Capacidad de pelar frutas	Difícil	Difícil	Difícil	NS
35	Número de semillas por fruto	No tiene	No tiene	No tiene	NS
36	Color de semilla	-	-	-	-
37	Diámetro de la semilla	-	-	-	-
38	Tipo de semilla	-	-	-	-
39	Peso de 100 semilla [g]	-	-	-	-

(\*): si existe diferencia significativa.

NS: no existe diferencia significativa

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 5, se observa el resultado de las evaluaciones para los descriptores cualitativos y cuantitativos del fruto del pepino (*Solanum muricatum* L) ecotipo morado, dando como resultado que un 52,94 % de las variables evaluadas no presentan diferencia significativa (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ) y corresponden específicamente en su mayoría a las variables cualitativas, a diferencia de los descriptores cuantitativos donde sí existe diferencia significativa (prueba T Student  $P \leq 0,05$ ).

## 5.2. RESULTADO DE LA ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO DE CULTIVO *IN VITRO* DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum* Aiton) ECOTIPO MORADO

### 5.2.1. Etapa de establecimiento *in vitro*

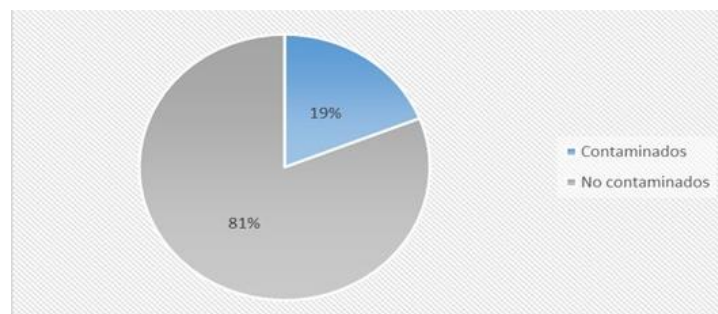
Evaluación del cultivo *in vitro* en la etapa de establecimiento del pepino dulce ecotipo morado a los 30 días después de la siembra.

**Tabla 6**

*Evaluación del porcentaje de contaminación de explantes de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de establecimiento in vitro*

	Pepino dulce- ecotipo morado				Total	%
	T1	T2	T3	T4		
Contaminados	7	1	5	6	19	19
No contaminados	18	24	20	19	81	81

Fuente: Elaboración propia



**Figura 10.** Porcentaje de contaminación de explantes

## Interpretación

En la figura 10, se puede observar que a la semana de establecimiento *in vitro* de *Solanum muricatum* ecotipo morados el 19 % de explantes instalados presentaba contaminación por hongos y/o bacterias.

### Tabla 7

*Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 30 días en la etapa de establecimiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

F.V.	gl	SC	CM	Fc	P-valor
Tratamiento	3	44,42	14,81	153,33	0,0001
Error	28	2,70	0,10		
Total	31	47,12			

CV=25,17 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 7, se observa los resultados de análisis de varianza para la altura de planta de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de establecimiento donde el medio de cultivo fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina BAP (Tratamientos: 0; 0,5; 1; 2 mg de BAP/L de medio de cultivo). Según los resultados los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 25,17 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

### Tabla 8

*Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de la Establecimiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

Orden de merito	Tratamiento	Promedio (cm)	Significancia
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	3,10	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	1,35	B
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	0,36	C
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	0,03	D

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

Según la tabla 8, la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, la altura de planta (cm) obtenido en los tratamientos T1 (0,0 mg de BAP/L), T2 (0,5 mg de BAP/L), T3 (1,0 mg de BAP/L) y T4 (2,0 mg de BAP/L) presentaron diferencias significativas entre sí.

En los tratamientos T1 y T2, se alcanzaron los valores más altos 3,10 cm y 1,35 cm de altura respectivamente. El Tratamiento T1 (0,0 mg de BAP/L) obtuvo el mejor valor con 3,10 cm de altura de vitroplanta, lo que favorece para realizar la siguiente etapa de multiplicación *in vitro*.

## Tabla 9

*Análisis de varianza para el número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra en la etapa de establecimiento in vitro.*

F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	6,31	3	2,10	47,99	<0,0001
Error	1,23	28	0,04		
Total	7,54	31			

CV=13,45 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 9, se observa los resultados de análisis de varianza para el número de nudos/ vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de establecimiento donde el medio de cultivo fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina BAP (Tratamientos: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo) son significativamente diferentes.

El coeficiente de variación es de 13,45 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 10**

*Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra – etapa de establecimiento in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio Nro. de nudos	Significancia
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	4,00	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	2,00	B
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	0,88	C
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	0,00	D

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, la variable número de nudos/explante evaluados en los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4: 2 mg de BAP/L de medio de cultivo.

Asimismo, el número de nudos/vitroplanta obtenido en los tratamientos T1, T2, T3 y T4 sí presentaron diferencias significativas entre sí.

En los tratamientos T1 alcanzó el valor más alto 4 nudos/vitroplanta y el más bajo fue el T4 con un valor de 0, lo que el medio que es más recomendado es el T1 que no se encuentra suplementado con BAP porque en promedio tiene más de 2 nudos por vitroplanta, mínimamente se contará con 2 explantes en la etapa de multiplicación.

**Tabla 11**

*Análisis de varianza para el número de raíces/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra en la etapa de establecimiento in vitro*

F.V.	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	3	9,60	3,20	48,58	<0,0001
Error	28	1,84	0,07		
Total	31	11,44			

CV=17,74 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 11, se observan los resultados de análisis de varianza para el número de raíces/ vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de establecimiento, el medio de cultivo utilizado fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina BAP (tratamientos: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo) son significativamente diferentes.

El coeficiente de variación es de 17,74 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

### Tabla 12

*Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/ vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 30 días de la siembra – etapa de establecimiento in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio	Significancia
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	4,88	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	0,88	B
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	0,25	B
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	0,00	B

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 12, se observa los resultados de la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, la variable número de raíces/vitroplanta evaluados en los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo. Asimismo, el número de nudos/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado obtenido en los tratamientos T1 y T2 si presentaron diferencias significativas entre sí, pero los tratamientos T2, T3, T4 no presentaron diferencias significativas entre ellos.

En los tratamientos T1 se alcanzó el valor más alto de 4,88 raíces/vitroplanta y el más bajo fue el T4 con un valor de 0.

### 5.2.2. Etapa de multiplicación *in vitro*

Evaluación de la respuesta al cultivo *in vitro* del pepino dulce ecotipo morado a los 45 días después de la siembra en la etapa de multiplicación *in vitro*.

**Tabla 13**

*Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 45 días en la etapa de multiplicación in vitro de Solanum muricatum ecotipo morado*

F.V.	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	3	118,93	39,64	27,98	0,0001
Error	24	34,00	1,42		
Total	27	152,93			

CV=14,24 %

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En la tabla 13, se observa los resultados de análisis de varianza para la altura de planta *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de multiplicación, el medio de cultivo utilizado fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina (BAP), los Tratamientos fueron: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo los resultados muestran que los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 14,244 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 14**

*Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de multiplicación in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio (cm)	Significancia
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	10,21	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	10,00	A
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	8,14	B
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	5,07	....C

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

Según la tabla 14, se presentan los resultados de la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, la variable altura de planta (cm) evaluados en los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo.

Asimismo, la altura de planta(cm) de *Solanum muricatum* ecotipo morado obtenido en los tratamientos T1 y T2 no presentaron diferencias significativas entre sí, pero sí con relación a los tratamientos T3, T4.

En los tratamientos T1 se alcanzó el valor más alto 10,21 cm y el más bajo fue el T4 con un valor de 5,07 cm.

## Tabla 15

*Análisis de varianza para el número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de multiplicación in vitro.*

F.V.	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	3	1,35	0,45	24,28	<0,0001
Error	24	0,45	0,02		
Total	27	1,80			

CV=5,26 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 15, se observa los resultados de análisis de varianza para el número de nudos/ vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de multiplicación donde el medio de cultivo fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina (BAP) Tratamientos: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo, los resultados demuestran que los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 5,26% %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 16**

*Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de multiplicación in vitro*

Orden de merito	Tratamiento	Promedio	Significancia $\alpha$ 0,05
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	7,14	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	6,86	A
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	5,43	B
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	4,43	B

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

Según la tabla 16, los resultados de la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable número de nudos /vitroplanta evaluados en los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo a los 45 días después de la multiplicación

Se observa que la variable número de nudos/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T1(0,0 mg de BAP/L) y T2 (0,5 mg de BAP/L) no presentaron diferencias significativas entre sí, tampoco entre T3(1,0 mg de BAP/L), T4(2,0 mg de BAP/L), pero sí presentaron diferencias significativas entre ellos.

En los tratamientos T1 (0,0 mg de BAP/L) se alcanzó el valor más alto 7,14 nudos /vitroplanta y el más bajo fue el T4 (2,0 mg de BAP/L) con un valor de 4,43 nudos.

**Tabla 17**

*Análisis de varianza para el número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de multiplicación in vitro*

F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	1,14	3	0,38	9,76	0,0002
Error	0,93	24	0,04		
Total	2,07	27			

CV=9,80%

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 17, se observan los resultados de análisis de varianza para el número de raíces / vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado en la etapa de multiplicación donde el medio de cultivo fue un MS suplementado con cuatro niveles de 6-bencil aminopurina (BAP) Tratamientos: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo, los resultados demuestran que las diferencias entre los tratamientos son altamente significativas. El coeficiente de variación es de 9,80 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

### Tabla 18

*Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de multiplicación in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio	Significancia
1	T1 (0,0 mg de BAP/L)	4,71	A
2	T2 (0,5 mg de BAP/L)	3,14	B
3	T3 (1,0 mg de BAP/L)	2,57	B
4	T4 (2,0 mg de BAP/L)	2,43	B

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 18, se presentan los resultados de la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable número de raíces / vitroplanta evaluados en los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de BAP/L de medio de cultivo a los 45 días después de la multiplicación, se observa que la variable número de raíces/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T1 y T2 si presentaron diferencias significativas entre sí. Sin embargo, los tratamientos T2 T3, T4, no presentaron diferencias significativas entre ellos. En los tratamientos T1 se alcanzó el valor más alto 4,71 raíces/vitroplanta y el más bajo fue el T4 con un valor de 2,43 raíces/vitroplanta.

### 5.2.3. Etapa de enraizamiento *in vitro*

Evaluación del cultivo *in vitro* del pepino dulce ecotipo morado en la etapa Enraizamiento a los 45 días después de la siembra.

**Tabla 19**

*Análisis de varianza para la altura de planta (cm) a los 45 días en la etapa de Enraizamiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

F.V.	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	3	157,03	52,34	21,79	0,0001
Error	24	51,64	2,20		
Total	27	214,67			

CV=13,20 %

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En la tabla 19, se observan los resultados de análisis de varianza para altura de planta *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de enraizamiento, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de ácido indol butírico (AIB), los Tratamientos fueron: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de AIB/L de medio de cultivo, los resultados muestran que los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 13,20 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 20**

*Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de enraizamiento in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio (cm)	Significancia
1	T4 (2,0 mg de AIB/L)	13,14	A
2	T3 (1,0 mg de AIB/L)	11,50	A B
3	T2 (0,5 mg de AIB/L)	10,86	B
4	T1 (0,0 mg de AIB/L)	6,71	C

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

Según la tabla 20, los resultados de la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable altura de planta (cm) evaluados para los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de AIB/L de medio de cultivo de enraizamiento a los 45 días después de la siembra, se observa que la variable altura de planta (cm) de *Solanum muricatum* ecotipo morado en los tratamientos T1 y T2 no presentaron diferencias significativas entre sí. Asimismo, los tratamientos T2y T3 tampoco presentaron diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, T1 y T4 presentan una diferencia altamente significativa. El tratamiento T1 alcanzó el valor más alto de 13,14 cm y el más bajo fue el T4 con un valor de 6,71 cm.

## Tabla 21

*Análisis de varianza para el número de nudos/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de enraizamiento in vitro.*

F.V.	gl	SC	CM	Fc	P-valor
Tratamiento	3	0,37	0,12	1,77	0,1805
Error	24	1,66	0,07		
Total	27	2,02			

CV=9,24 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 21, se observan los resultados de análisis de varianza para número de nudos/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de enraizamiento, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de ácido indol butírico (AIB), los tratamientos fueron: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de AIB/L de medio de cultivo, los resultados muestran que entre los tratamientos no existe diferencia significativa. El coeficiente de variación es de 9,24 %.

**Tabla 22**

*Análisis de varianza para el número de raíces/explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra en la etapa de enraizamiento in vitro.*

F.V.	gl	SC	CM	Fc	P-valor
Tratamiento	3	5,70	1,90	24,90	< 0,0001
Error	24	1,83	0,08		
Total	27	7,53			

CV=10,33%

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En la tabla 22, se observan los resultados de análisis de varianza para número de raíces/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de enraizamiento, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de ácido indol butírico (AIB), los tratamientos fueron: T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de AIB/L de medio de cultivo, los resultados muestran que en los tratamientos si existen diferencias significativas. El coeficiente de variación es de 10,33 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 23**

*Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 45 días de la siembra – etapa de enraizamiento in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio	Significancia
1	T4 (2,0 mg de AIB/L)	9,00	A
2	T3 (1,0 mg de AIB/L)	7,43	A B
3	T2 (0,5 mg de AIB/L)	6,57	B
4	T1 (0,0 mg de AIB/L)	2,86	C

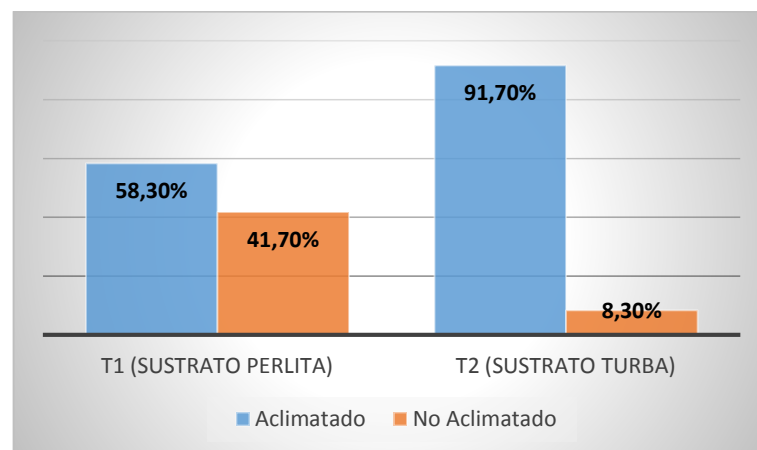
Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

Según la tabla 23, la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable número de raíces /vitroplanta evaluados para los tratamientos T1: 0; T2: 0,5; T3: 1; T4:2 mg de AIB/L de medio de cultivo de enraizamiento a los 45 días después de la siembra, se observa que la variable número de raíces de *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T4 y T3 no presentaron diferencias significativas entre sí. Sin embargo, los tratamientos T1 y T2 sí presentaron diferencias significativas entre ellos. El tratamiento T4 alcanzó el valor más alto 9,0 nudos/vitroplanta y el más bajo fue T1 con un valor de 2,86 nudos /vitroplanta.

### 5.2.4. Etapa de aclimatación

En esta etapa del trabajo de investigación se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de plántulas de *Solanum muricatum* a la aclimatación en dos sustratos diferentes.



**Figura 11.** Evaluación de dos tipos de sustratos en el porcentaje de aclimatación de plántulas de pepino dulce ecotipo morado producto del cultivo

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la figura 11, se puede observar que a la semana de haber iniciado la etapa de aclimatación de *Solanum muricatum* ecotipo morado el mejor sustrato fue turba con 91,70 % de explantes aclimatados en comparación al sustrato perlita donde solo le lograron aclimatar un 58,30 %.

### 5.3. CONSERVACIÓN IN VITRO DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum* Aiton) ECOTIPO MORADO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CRECIMIENTO MÍNIMO

Evaluación del cultivo *in vitro* del pepino dulce ecotipo morado en la etapa conservación.

**Tabla 24**

*Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en la etapa de conservación in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

F.V.	gl	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	3	324,25	108,08	58,66	<0,0001
Error	24	44,22	1,84		
Total	27	368,47			

CV=23,90 %

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 24, se observan los resultados de análisis de varianza para la altura de planta *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de conservación, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de Sorbitol, los tratamientos fueron: T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de cultivo, los resultados muestran que los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 23,90 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 25**

*Prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0,05$ ): Altura de planta (cm) en la etapa de conservación in vitro del pepino dulce ecotipo morado*

Orden de merito	Tratamiento	Promedio (cm)	Significancia
1	T1 (0,0 g de sorbitol /L)	9,89	A
2	T2 (20 g de sorbitol /L)	8,19	A
3	T3 (40 g de sorbitol /L)	2,67	B
4	T4 (60 g de sorbitol/L)	2,00	B

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

Según la tabla 25, la prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 95 %, para la variable altura de planta (cm) evaluados para los tratamientos T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de cultivo de conservación mediante el método de crecimiento mínimo, se observa que la variable altura de planta (cm) de *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T1 y T2 no presentaron diferencias significativas entre sí. Asimismo, los tratamientos T4 y T3 tampoco presentaron diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, T1 y T4 presentan una diferencia altamente significativa.

El tratamiento T4 (60 g de sorbitol/L) alcanzó para la variable altura de vitroplanta el valor más bajo 2,00 cm y el más alto fue el T1 (0,0 g de sorbitol/L) con un valor de 9,89 cm.

**Tabla 26**

*Análisis de varianza para el número de nudos/ explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro*

F.V.	gl	SC	CM	Fc	P-valor
Tratamiento	3	3,76	1,25	20,10	<0,0001
Error	24	1,50	0,06		
Total	27	5,26			

CV=9,58%

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

En la tabla 26, se observan los resultados de análisis de varianza para número de nudos/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de enraizamiento, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de sorbitol, los tratamientos fueron T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de cultivo, los resultados muestran que entre los tratamientos son significativamente diferentes. El coeficiente de variación es de 9,58 %. Al obtener diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar la prueba de comparación de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

### Tabla 27

*Prueba de significación de Tukey, para número de nudos/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 60 días en medio de conservación in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio	Significancia
1	T1 (0,0 g de sorbitol /L)	9,14	A
2	T2 (20 g de sorbitol /L)	5,71	B
3	T3 (40 g de sorbitol /L)	5,14	B
4	T4 (60 g de sorbitol /L)	4,29	B

Fuente: Elaboración propia

## Interpretación

Según la tabla 27, la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable número de nudos/vitroplanta evaluados para los tratamientos T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de conservación *in vitro*, se observa de número de nudos/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T2, T3 y T4 no presentaron diferencias significativas entre sí. Sin embargo, tratamiento T1 (0,0 g de sorbitol/L) obtuvo el mayor número de nudos 9,14.

**Tabla 28**

*Análisis de varianza para el número de raíces/ explante in vitro de pepino dulce ecotipo morado evaluado a los 60 días en medio de cultivo In Vitro de conservación.*

F.V.	gl	SC	CM	Fc	P-valor
Tratamiento	3	1,03	0,34	4,43	0,0130
Error	24	1,85	0,08		
Total	27	2,88			

CV=11,50%

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

En esta tabla, se observa los resultados de análisis de varianza para número de raíces/vitroplanta de *Solanum muricatum* ecotipo morado en la etapa de enraizamiento, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con cuatro niveles de ácido indol butírico (AIB), los tratamientos fueron: T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de conservación *in vitro*, los resultados muestran que entre los tratamientos no existe diferencia significativa. El coeficiente de variación es de 11,50 %. Finalmente, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 29**

*Prueba de significación de Tukey, para número de raíces/vitroplanta de pepino dulce ecotipo morado evaluado en la etapa de conservación in vitro*

Orden de mérito	Tratamiento	Promedio	Significancia
1	T1 (0,0 g de Sorbitol /L)	6,14	A
2	T4 (60 g de Sorbitol/L)	5,86	A
3	T3 (40 g de Sorbitol/L)	4,57	A B
4	T2 (20 mg de Sorbitol/L)	4,00	B

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación

Según la tabla 29, la prueba de Tukey con un intervalo de confianza al 95 %, para la variable número de nudos/vitroplanta evaluados para los tratamientos T1: 0; T2: 20; T3: 40; T4:60 g de sorbitol/L de medio de conservación *in vitro*, se

observa de número de nudos/vitroplanta *Solanum muricatum* ecotipo morado los tratamientos T1 y T2, T3 y T4 no presentaron diferencias significativas entre sí.

El tratamiento T1 alcanzó el valor más alto de 6,14 raíces y el más bajo fue el T2 con un valor de 4,00 raíces. Los resultados muestran que el T1 (0,0 g de sorbitol /L) tiene la mayor cantidad de raíces, que no necesariamente sería el mejor puesto que en este medio de cultivo de conservación lo que se quiere es retrasar el crecimiento.

**Protocolo de cultivo in vitro de pepino dulce *Solanum muricatum***  
**Aiton, ecotipo morado**

**ETAPA DE ESTABLECIMIENTO**

El mejor medio para esta etapa es el medio de cultivo MS completo sin BAP (T1), mantener condiciones de asepsia y condiciones de fotoperiodo 16 horas de luz y 8 de oscuridad, 23 °C y 3 000 lux



**ETAPA DE MULTIPLICACIÓN**

El mejor medio para esta etapa es el medio de cultivo MS completo sin BAP (T1), mantener condiciones de asepsia y condiciones de fotoperiodo 16 horas de luz y 8 de oscuridad, 23 °C y 3 000 lux



**ETAPA DE ENRAIZAMIENTO**

El mejor medio para esta etapa es el medio de cultivo MS completo y suplementado con 2,0 mg /l AIB (T4), mantener condiciones de asepsia y condiciones de fotoperiodo 16 horas de luz y 8 de oscuridad, 23 °C y 3 000 lux.



**ETAPA DE ACLIMATACIÓN**

El mejor sustrato para aclimatar es turba, la aclimatación debe realizarse en la cámara de termoterapia donde las condiciones de humedad (75 %), temperatura (23 °C) condiciones controladas, el fotoperiodo fue de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, posteriormente deben ser trasladados a condiciones de invernadero, con una temperatura entre 15 a 23 °C.

## **CAPÍTULO VI**

### **DISCUSIÓN**

#### **6.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL PEPINO DULCE (*SOLANUM MURICATUM* AITON) ECOTIPO MORADO**

La caracterización morfológica fue realizada para tallo, hojas, flores y fruto tanto para sus variables cuantitativas y cualitativas.

##### **Tallo**

Según la caracterización del tallo de *Solanum muricatum* Aiton ecotipo morado del 100% de las muestras evaluadas se obtuvo que el tallo es de color púrpura oscuro. Sin embargo, Nuez et al. (1996), reporta que los tallos en la mayoría de los cultivares de pepino dulce son de color verde, con algo de pigmentación oscura en la zona cercana al nudo. Torrent (2014) reporta que el color de los tallos depende de la variedad, aunque suelen ser verdes y más o menos pigmentados, asimismo Ramos (2009) reporta que los tallos son verdes y algunas variedades tienen un tono púrpura más oscuros; Zapana (2014) señala que hay algunos cultivares toda la superficie del tallo presenta una fuerte pigmentación, esto concordaría con los resultados obtenidos

##### **Hojas**

De acuerdo con los resultados de la caracterización de las hojas de *Solanum muricatum* presenta hojas simples y de forma alargada, Nuez et al. (1996) señalan que existe una gran diversidad entre los cultivares específicamente el tamaño y la forma de las hojas, pueden ser simples o compuestas, el número de folíolos varía entre 3 a 7. Asimismo, señala que los cultivares de hojas simples, presentan forma alargada, más o menos lanceolada.

Ramos (2009) reporta que las hojas generalmente son simples y lanceoladas, pero puede encontrarse hojas compuestas con folíolos que varían en un número de 3 y 7.

Torrent (2014) reporta que algunos *Solanum muricatum*, son de hoja simple de forma lanceolada o alargada, en otros casos presentan hojas compuestas de entre 3 y 7 folíolos. Además, es frecuente que las hojas sean compuestas al inicio del desarrollo y luego solamente simples.

Leiva, Gayoso y Chang (2015), reportan que las hojas son alternas o bifoliolada (aparentemente opuestas), o en rosetas basales; generalmente pecioladas o raras veces sin pedúnculo; sin estípulas, laminas simples y enteras o pinnatilobuladas o pinnaticompuestas, sin dientes agudos.

Lo aseverado por Nuez et al. (1996), Ramos (2009), Torrent (2014) Leiva, Gayoso y Chang (2015), se ajusta a los resultados obtenidos en la caracterización cualitativa de la hoja de *Solanum muricatum* ecotipo morado, donde el resultado de la evaluación del pepino dulce ecotipo morado es de hoja simple y de formas alargada en un 100 % de las evaluaciones.

Con respecto a la longitud de hoja, Nuez et al. (1996), Zapana (2014) y Torrent (2014) reportan que la longitud fluctúa entre unos 10 a 30 cm, la variación depende de la ubicación de la hoja en la planta y , con gran incidencia, de las condiciones agroclimáticas en que se desarrolla la planta.

En contraste con los resultados para longitud de hoja de *Solanum muticatum* ecotipo morado están en un rango de 9,5 a 18 cm, lo cual estaría dentro lo reportado por (Nuez et al.,1996; Zapana, 2014; Torrent, 2014).

## **Flores**

Según los resultados obtenidos en la evaluación del color de la corola para *Solanum muricatum* ecotipo morado, se identificó que es la combinación del color blanco 25 a 50 % y morado 50 a 75 %, no existe reporte de la evaluación morfológica en este ecotipo, pero haciendo una comparación con lo que reporta

Nuez et al. (1996) para pepino dulce, señala que los pétalos son de color blanco con presencia de vetas purpuras, algunos cultivares son de color blanco en su totalidad, mientras que en otros las vetas moradas cubren totalmente el pétalo (corola). Como se puede apreciar el color de la corola del pepino dulce ecotipo morado se incluiría en el primer tipo de color de corola que es blanca con vetas moradas.

Leiva, Gayoso y Chang (2015) reportan que la inflorescencia básicamente en cimas racemosas helicoides, axilares o extraaxilares, a veces con fascículos axilares o panículas, con muchas flores. Asimismo, las flores bisexuales, actinomorfas. El cáliz es tubular, campanulado, verde por fuera, verdoso por dentro, glabros, glabrescentes o pubescentes externamente, glabros, o con papilas interiormente, a veces acrescente; limbo lobulado, lóbulos triangulares. Corola simpétala, campanulada, vertríciosa, rotada, tubular, hipocrateriforme, blancas, cremosas, moradas, amarillas, lilas, anaranjadas, verdes, glabras externa e interiormente o glabrescentes o pubescente externamente, glabrescente interiormente.

Por lo tanto, el color de pepino dulce ecotipo morado, está dentro de los grupos de color de corola reportados por Nuez et al. (1996), Leiva, Gayoso y Chang (2015) para *Solanum muricatum* Aiton.

Con respecto, a la variable cuantitativa número de flores por inflorescencia el pepino dulce. Nuez et al. (1996), Torrent (2014) y Ramos (2009), reportan que el número de flores por racimo generalmente varían entre 5 y 20 flores; Torrent (2014), reporta también que ocasionalmente puede llegar a haber más de 50 flores por racimo. Asimismo, Nuez et al. (1996) mencionan que casi siempre son pocas las flores del racimo que llegan a cuajar y solo algunas de ellas logran culminar el desarrollo del fruto totalmente.

En comparación a los resultados obtenidos para pepino morado (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado se obtuvo en promedio 18 flores, dichos resultados obtenidos de la evaluación está dentro lo que se reporta por Nuez et

al. (1996), Torrent (2014) y Ramos (2009), a pesar de que reporte no es exclusivo para el ecotipo morado.

## **Fruto**

Según Sanjinés et al. (2006), el fruto del pepino dulce es una baya carnosa, esférica, ovoide a redondeada o elipsoide, internamente está dividido por un tabique central (cóncavo), dando origen a dos celdas, donde están adheridas las semillas, las cuales no están bien desarrolladas, pero a pesar de ello pueden germinar.

Asimismo, en la caracterización realizada para el fruto de *Solanum muricatum* Aiton ecotipo morado, si es una baya carnosa, pero de forma obovada, la cantidad de lóculos varía entre 2 a 4 donde van adheridas las semillas, que no están desarrolladas (frutos partenocarpicos). León (1964) manifiesta que a pesar que no llegan a formar semillas fértiles el crecimiento del fruto es normal, Asimismo, señala que la esterilidad de las semillas puede deberse a que después de la primera y segunda división el citoplasma se arruga, la cromatina se concentra en un área pequeña y las paredes celulares se encogen, deteniéndose el desarrollo normal de la semilla. León (1964) y Kowalczyk (2008) reportan que gran parte de los clones cultivados no presentan semilla fértil, debiéndose probablemente a la baja capacidad germinativa del polen y el efecto de la temperatura alta, mostrando una elevada tendencia a cuajar frutos partenocarpicos.

Según Amaya (2006), la longitud de los frutos de pepino dulce varía entre 5 y 15 cm, a diferencia de las evaluaciones para esta variable los frutos de *Solanum muricatum* ecotipo morado varía entre 8,70 a 9,50 cm.

Con respecto a la variable diámetro del fruto, Cruz (2013) manifiesta que varía entre 6 a 8 cm, a diferencia del ecotipo morado el diámetro de fruto oscilaba entre 4,40 a 5,5 cm; para el caso de la variable peso de fruto, Cruz (2013) señala que varía entre 100 a 200 g los más pequeños y de 300 a 400 g los más grandes, según los resultados para el peso del fruto el ecotipo morado obtuvo un rango

de 122 g a 150 g por lo que estaría en la categoría de frutos pequeños. Cabe señalar que los resultados de esta caracterización morfológica pueden estar influenciados por la variedad o ecotipo y por las condiciones agroclimáticas de donde se cultiva esta especie.

Cruz (2013) y Torrent (2014) mencionan que la cáscara del fruto es lisa, suave y delgada, el color cambia de verde claro al blanco cremoso, para finalmente volverse amarillo claro con manchas o vetas longitudinales continuas o dispersas de color púrpura, en algunos casos casi negras cuando maduran los frutos, aunque algunos clones no presentan vetas y otros logran cubrir todo el fruto. La variación del color es según el cultivar y las condiciones ambientales, sobre todo influye la temperatura y la iluminación. Para el caso de *Solanum muricatum* Aiton ecotipo morado de Tacna, la baya es de superficie lisa y suave con cáscara delgada, el color del fruto inmaduro es de color verde con rayas moradas y cuando el fruto está maduro es de color púrpura casi negro completamente, no existiendo color secundario.

## **6.2 CULTIVO *IN VITRO* DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum* Aiton) ECOTIPO MORADO**

### **6.2.1. Etapa de establecimiento *in vitro***

Según los resultados obtenidos en la etapa de establecimiento *in vitro* de *Solanum muricatum* ecotipo morado, evaluado a los 30 días para las variables altura de planta (cm), número de nudos/vitroplanta y número de raíces/vitroplanta, el mejor tratamiento fue el T1 cuyo medio de cultivo estaba constituido por MS suplementado con 0,00 mg de BAP /L, los resultados para las variables evaluadas fueron de 3,10 cm; 2,20 y 2,38 y el peor tratamiento fue el T4 (MS+2mg de BAP/L) con 0,03 cm; 1 y 1 respectivamente.

Cavusoglu y Sulusoglu (2013) reportaron que en la etapa de establecimiento *in vitro* de *Solanum muricatum* el tratamiento T3 (MS+3mg de BAP/L) obtuvo el mejor resultado con una altura de 2,25 cm. Como se puede apreciar existe diferencias en los resultados entre los dos trabajos de investigación en la etapa

de establecimiento *in vitro* de *Solanum muricatum*, esto se puede deber a que el material vegetativo utilizado no son los mismos.

En consecuencia en la etapa de establecimiento *in vitro* de *Solanum muricatum* ecotipo morado la altura de planta disminuye cuando se incrementa los niveles de BAP, esto es explicado por Cruz et al., (2016) quienes mencionan que para el caso del cultivo *in vitro* de *Musa acuminata* las longitudes de sus brotes disminuyen a medida que se incrementa la dosis de BAP; así mismo, Pandey et al., (2014) reporta que la longitud de los brotes de *Bacopa monnieri* disminuyen en concentraciones mayores a 1,0 mg·L<sup>-1</sup> de BAP. Por lo contrario, Ngomuo, Mneney y Ndakidemi, (2013). señalan que no existe diferencia en la longitud de los brotes de *Musa sp.* cuando son cultivados con 0,0; 2,0; 4,0; 6,0 y 8,0 mg·L<sup>-1</sup> de BAP. Ante la diversidad de respuestas Mazid et al., (2011) señalan que podría deberse a que el BAP no comparte totalmente todos los mecanismos de acción con las citoquininas naturales.

### **6.2.2. Etapa de multiplicación *in vitro***

Según los resultados obtenidos en la etapa de multiplicación *in vitro* de *Solanum muricatum* ecotipo morado, evaluado a los 45 días para las variables altura de planta (cm), número de nudos/vitroplanta y número de raíces/vitroplanta, el mejor tratamiento fue el T1 cuyo medio de cultivo estaba constituido por MS suplementado con 0,0mg de BAP /L, los resultados para las variables evaluadas fueron 10,21 cm; 2,83 y 2,34 respectivamente y el peor tratamiento fue el T4 (MS+2mg de BAP/L) con 5,07 cm; 2,29 y 1,84. Este resultado es similar en la multiplicación *in vitro* de *Alstroemeria* donde los tratamientos con BAP y sin hormona, no mostró efectos significativos para la variable número de brotes (Seyyedyousefi, Kaviani y Dehkaei, 2013).

Laguna-Ibarra et al (2019) mencionan que el BAP tiene un efecto positivo en los cultivos *in vitro*, debido a una red de vías de señalización y activación de genes que regulan las respuestas al estrés ambiental. Ha, Vankova, Yamaguchi-shinozaki, Shinozaki y Tran (2012) indican que el uso exógeno de citoquininas

durante el cultivo *in vitro* favorece la división celular, promueve la formación de clorofila y eleva los procesos energéticos y de fotosíntesis. George et al. (2008), Ha et al. (2012) y Mazid et al. (2011) manifiestan que BAP fue necesario solo después de la introducción al cultivo *in vitro*, luego en los siguientes subcultivos no fue necesario. Como ejemplo tenemos a *S. calvus*, donde se logró la adaptación de nuevos explantes.

Finalmente, se coincide con lo señalado por Borges et al. (2011) y que los resultados en esta etapa del trabajo de investigación pudieran deberse a un contenido endógeno de hormonas de las yemas de segmentos uninodales de *Solanum muricatum* ecotipo morado, los cuales son suficientes para mejorar significativamente los indicadores de desarrollo de las vitroplantas, como altura de planta, número de nudos y raíces.

### **6.2.3. Etapa de enraizamiento *in vitro***

Según los resultados obtenidos en la etapa de enraizamiento *in vitro* de *Solanum muricatum* ecotipo morado, evaluado a los 45 días para las variables altura de planta (cm), número de nudos/vitroplanta y número de raíces/vitroplanta, el mejor tratamiento fue el T4 cuyo medio de cultivo estaba constituido por MS suplementado con 2,0 mg de AIB /L, los resultados para las variables evaluadas fueron de 13,4 cm; 2,83 y 3,16 y el peor tratamiento fue el T1 (MS+ 0,0 mg de AIB/L) con 6,71 cm; 2,94 y 1,94 respectivamente.

Cavusoglu y Sulusoglu (2013) reportaron que, para el pepino dulce en la etapa de enraizamiento, el mejor tratamiento es el suplementado con 1mg/L de AIB y el peor fue el tratamiento control con 0,0 mg de AIB.

Esto indica que para el *Solanum muricatum* ecotipo morado los más altos porcentajes de enraizamiento se obtienen a elevadas concentraciones de auxina (AIB).

Para Uribe (2012) la utilización exógena de auxinas naturales como ácido 3-indolbutírico (AIB) evita problemas en la etapa de enraizamiento, permitiendo la

estimulación de células indiferenciadas y, por tanto, promueve el inicio del enraizamiento o emergencia de raíces adventicias.

García (2015) manifiesta que, se puede obtener un alto porcentaje de plántulas *in vitro* con raíces, incluso en ausencia de reguladores de crecimiento, asimismo es importante considerar las variables como el número de raíces formadas, la longitud y funcionalidad de estas, para determinar una buena formación del sistema radical; pues según Alvarenga et al. (1999), el éxito de la aclimatación de las plántulas *in vitro* depende de la existencia de un sistema radical bien desarrollado.

#### **6.2.4 Etapa de aclimatación**

Se determinó la influencia del sustrato en la sobrevivencia de vitroplantas de pepino dulce, la mortandad en esta etapa es un factor de alto riesgo debido al estrés que sufren las vitroplantas por proceso de adaptación.

Para lograr el proceso de adaptación, se debió reducir gradualmente la humedad relativa, aumentar la luz y lograr un crecimiento autotrófico, todo ello en medio aséptico.

Manteniendo la condición de alta humedad relativa y evitando el exceso de transpiración las plantas se logra obtener un buen desarrollo de los estomas y la cutícula (Indacochea-Ganchozo et al., 2017).

El mejor tratamiento para la aclimatación del pepino dulce desarrollado en el presente trabajo fue el sustrato turba con 91,70 % de explantes aclimatados en comparación al sustrato perlita donde solo se lograron aclimatar un 58,30 %.

Se realizó la búsqueda de reportes sobre aclimatación de vitroplantas de pepino dulce, el resultado de ello fue que no existen trabajos de investigación al respecto; por ello, se revisó reportes sobre aclimatación para otras especies, como lo presentado por Gil, López y López (2017) quienes afirman que el sustrato conformado por humus, arena y musgo, mostro los mejores resultados

por tanto, es el sustrato más óptimo para realizar la aclimatación de plántulas *in vitro* de *S. ionantha* H. Wendl “violeta africana” en condiciones de invernadero.

Una causa que provoca la mortandad durante el proceso de aclimatación, se debería a la alta tasa de transpiración que poseen las plantas *in vitro*, provocando una gran pérdida de agua, debido a que tienen una delgada capa de cera epicuticular y un funcionamiento anormal de los estomas. El estrés hídrico es la causa principal de la muerte de las plantas *in vitro* durante el trasplante (Indacochea-Ganchozo et al., 2017).

Otro problema que afecta la aclimatación de plántulas es la poca funcionalidad de las raíces formadas *in vitro*, debido a la presencia de una epidermis no suberizada y una limitada cantidad de pelos radicales, que suelen morir después del trasplante y deben ser renovados (Indacochea-Ganchozo et al., 2017; Montes et al., 2016).

El ambiente *in vitro* provoca cambios morfológicos, anatómicas y fisiológicas en las vitroplantas, hacen que las plántulas sean incapaces de controlar la pérdida de agua durante las primeras semanas de aclimatización, lo que conduce a un incremento excesivo de la transpiración y que puedan reducir la tasa fotosintética (Indacochea-Ganchozo et al., 2017; Valencia et al., 2019).

### **6.3 CONSERVACIÓN *IN VITRO* DEL PEPINO DULCE (*Solanum muricatum* Aiton) ECOTIPO MORADO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CRECIMIENTO MÍNIMO**

En la variable altura de planta (cm) el mejor tratamiento fue el T4 con 60 g de sorbitol por /L de medio MS, 0,27 cm porque retrasó el crecimiento de planta en comparación al T1 (0 g de sorbitol/L) que fue el control, la altura fue de 0,61cm.

Según Ventura (2019), la reducción del número de subcultivos en la etapa de conservación *in vitro* es una parte importante de estrategia general de conservación e intercambio de recursos genéticos.

Roca et al. (1994) señalan que el método de crecimiento mínimo también es llamado crecimiento reducido, porque se basa en una reducción en la división celular y el metabolismo de las plantas. Su propósito es aumentar la longevidad *in vitro* de los cultivos sin causar cambios genéticos, por tanto, no se detendrá completamente el proceso celular, solo se consigue la reducción en la velocidad con que ocurren los mismos y de esta manera se logra reducir la frecuencia de transferencia de las plantas a medio de cultivo fresco.

Se realizó la búsqueda de información y/o reportes sobre medios de cultivo *in vitro* para conservación por método de crecimiento mínimo de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aitón) y no se ha encontrado y más aún para el ecotipo morado. Pero se comparó con los resultados del presente trabajo, donde en un medio de cultivo de establecimiento (MS completo con 0,0 de BAP) a los 30 días de evaluación se obtuvo 3,10 cm de altura de planta. Sin embargo, el medio de cultivo *in vitro* de conservación mediante el método de crecimiento mínimo, el cual estuvo compuesto por MS completo y suplementado con 60 g de sorbitol (T4), obtuvo a los 30 días una altura de planta de 0,8 cm, y lo que demuestra que se reduce el crecimiento de la planta en un 25 %, lográndose reducir la periodicidad de transferencia de las vitroplantas a medio de cultivo fresco.

## CONCLUSIONES

1. El pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) ecotipo morado se caracterizó según los descriptores IPGRI.
2. El mejor protocolo para el cultivo *in vitro* de *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado, incluye los medios de cultivo óptimo para todas las etapas de la micropropagación *in vitro*, en la etapa de establecimiento, el medio de cultivo que obtuvo mejor resultado para las variables evaluadas a los 30 días, corresponde al T1, el cual es MS + 0,0 mg/L BAP. En la etapa de multiplicación al igual que el caso anterior el medio de cultivo que obtuvo mejores resultados para las variables evaluadas a los 45 días corresponde al T1, el cual es MS + 0,0 mg/L BAP; para la etapa de enraizamiento el mejor tratamiento fue el T4 con 2,0 mg /L AIB; en la etapa de aclimatación el sustrato que mejor resultado obtuvo fue la turba logrando un 91,79 % de plántulas aclimatadas. Por lo tanto, si es posible conservar *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado utilizando la técnica del cultivo *in vitro*.
3. Se estableció un banco de germoplasma *in vitro* donde se conserva *Solanum muricatum* Aiton, ecotipo morado mediante el método de crecimiento mínimo, el medio de cultivo óptimo corresponde al que estuvo suplementado con 60 g Sorbitol/L de medio de cultivo MS, porque fue el tratamiento que más retrasó el crecimiento de las plántulas reduciendo de esta manera el número de subcultivos.

## RECOMENDACIONES

1. Generar bancos de germoplasma *in situ* y *ex situ* de toda la diversidad genética de pepino dulce de la región Tacna a fin de evitar su extinción.
2. Realizar ensayos para ajustar el protocolo de desinfección utilizado para la etapa de establecimiento *in vitro*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelnour, A., y Vincent, J. (1994). Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales. CATIE. México. RESPONSE1 Ethylene Receptor of Arabidopsis Important for Functional Divergence. *Plant Physiology*, 169, 219-232.
- Ambriz, J. (1995). *Micropropagación de brotes de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) a partir de plántulas germinadas in vitro* (Tesis Doctoral) Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Andrango, J. C. (2015). *Determinar el rendimiento a la aplicación de tres niveles de fertilización con dos bioestimulantes enraizadores en el cultivo de pepino dulce (Solanum muricatum Aiton.) en la zona de Ibarra, provincia de Imbabura*. (Tesis de Grado). Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.
- Arévalo, K. Y. (2016). *Conocimiento ancestral e identificación de uso de la flora útil existente en bosques intervenidos de tres centros poblados de la cuenca del río Ucayali, con fines de manejo y conservación. Loreto- Perú*. (Tesis de Grado). Universidad de la Amazonia Peruana, Iquitos, Perú.
- Ávila, I., y Salgado, R. (2006). Propagación y mantenimiento in vitro de orquídeas mexicanas, para colaborar en su conservación. *Biológicas*, 8, 138-149.
- Balladares, J. (2018). Una etnofilosofía como fundamento de las etnociencias. *Nuevo Pensamiento. Revista de Filosofía del Instituto de Investigaciones Filosóficas de la Facultad de Filosofía de la Universidad del Salvador*, 8(11), 1-16.
- Beaucage, P.(2000). La etnociencia, su desarrollo y sus problemas actuales. *Cronos*, 3(1) 47-92.

- Blanca, J. M., Prohens, J., Anderson, G. J., Zuriaga, E., Cañizares, J., y Nuez, F. (2007). AFLP and DNA sequence variation in an Andean domesticate, pepino (*Solanum muricatum*, Solanaceae): implications for evolution and domestication. *American Journal of Botany*, 94(7), 1219-1229.
- Bonilla, M. M., Mancipe, C., y Aguirre, A. C. (2015). Conservación in vitro: una perspectiva para el manejo de los recursos fitogenéticos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(1), 67-82.
- Borges, M., Destrade, R., Meneses, S., Gómez, R., Malaurie, B., Hamon, P., y Demenorval, L. C. (2011). Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(2), 221-228.
- Cadmo, R. (1990). *Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales* (No. 574.82 F35Y). FAO. Roma. ISBN: 92-5-302996-X
- Cavusoglu, A., y Sulusoglu, M. (2013). In vitro propagation and acclimatization of pepino (*Solanum muricatum*). *Journal of Food Agriculture Environment*, 11(1), 410-415.
- Ceccon, E. (2008). La revolución verde: tragedia en dos actos. *Ciencias*, 91(1), 21-29.
- Concha, L. (2000). *Cultivo de Plantas In Vitro: Manual de Laboratorio*. FONDEF-UNAP. 98 p.
- Chilón, E. (2017). Revolución Verde Agricultura y suelos, aportes y controversias. *Apthapi*, 3(3), 844-859.
- Cruz, E. (2013). *Estudio del pepino dulce y análisis de sus beneficios para la implementación gastronómica*. (Tesis de Grado). Universidad tecnológica Equinoccial, Ecuador.

- Cruz-Rosero N, et al. (2016). Propagation in vitro of banana variety Orito (M. acuminata AA). *Biología Aplicada*, 33, 4201-4204.
- Díaz, L. C., Carmona, O. E., y Beltrán, J. D. (2015). Optimización de la conservación in vitro de germoplasma de *Dioscorea spp* por crecimiento mínimo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1), 32-39.
- Eldredge, N. (2001). *La vida en la cuerda floja la humanidad y la crisis de la biodiversidad*. Barcelona: Tusquets. 277 pp.
- Franco, T. L., Hidalgo, R. (2003). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. (Boletín técnico IPGRI: N°. 8). Bioversity International. Cali, Colombia. 89 p.
- Gobierno Regional la Libertad (GRLL) (2006). *Pepino dulce (Solanum muricatum Aiton)*. Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión del Medio Ambiente. La Libertad, Perú. 11 pp.
- Gambardella, M., Botti, C., Faúndez, L., y Nario, A. (1996). Caracterización de ecotipos de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton.) cultivados en Chile. *Agricultura técnica*, 56(3), 193-200.
- García-Águila, L., de Fera, M., y Acosta, K. (2007). Aspectos básicos de la conservación in vitro de germoplasma vegetal. *Biología Vegetal*, 7(2), 67-79.
- García, L. (1992). *Cultivo de tejidos vegetales in vitro*. España: Acribia.
- García, M., Toledo, E., Alarcón, M., Marín, E., López, A., y Cuadrado, I. (2009). *Cultivo de pepino dulce alternativa a hortícolas en invernadero*. Fundación para la investigación Agraria en la provincia de Almería (FIAPA). Almería, España.

- García, M., y Serrano, H. (2011). La revolución verde y sus consecuencias *TecnoAgro*, 72. Recuperado de <https://tecnoagro.com.mx/no.-72/la-revolucion-verde-y-sus-consecuencias>.
- García, J. G., Salas, E., y Azofeifa, J. (2015). Efecto del AIA y el AIB sobre el enraizamiento *in vitro* de brotes de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *Biotecnología vegetal*, 15(1), 3-7.
- García-García, M.C., Gómez, P., Font, R., del Rio-Celestino, M. (2017). *Pepino dulce una solanácea por descubrir-IFAPA. XL Foro Colab. Público-Privada. Nuevas Materias Primas Sostenibles en la Alimentación*, Madrid, España.
- Gil, A. E., López, S. E., y López, A. (2017). Aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl.(Gesneriaceae)" violeta africana" a condiciones de invernadero. *Arnaldoa*, 24(1), 343-350.
- Ha, S., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. (2012). Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. *Trends in plant science*, 17(3), 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.12.005>
- Herraiz, F. J., Vilanova, S., Andújar, I., Torrent, D., Plazas, M., Gramazio, P., y Prohens, J. (2015). 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), 301-318.
- Herraiz, F. J., Vilanova, S., Plazas, M., Gramazio, P., y Prohens, J. (2016). Relaciones del pepino dulce (*Solanum muricatum*) con otras solanáceas cultivadas a partir de secuencias del transcriptoma e implicaciones para la mejora genética. *Hortícola II*, 74, 249-250.

- Hurtado, D. V. y Merino, M. E. (1994). *Cultivo de tejidos vegetales*. México: Trillas. 232 pp.
- Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). (2009). *Segundo informe sobre el estado de los recursos filogenéticos para la alimentación la agricultura*. Sub dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Lima, Perú. 94 pp.
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). (2013). *Puesta en valor de pepino dulce (Solanum muricatum), producido en el valle de Limarí, a través de la caracterización del recurso genético local asociado a su origen geográfico y el rescate de ecotipos promisorios*. Intihuasi, Coquimbo, Chile.
- Indacochea, B., Parrales, J., Castro, C., Vera, M., y Gabriel, J. (2017). *Aclimatación in vitro de especies forestales nativas del Sur de Manabí en peligro de extinción*. Journal of the Selva Andina Research Society, 8(2), 124-134.
- IPGRI and COMAV. (2004). *Descriptors for pepino (Solanum muricatum)*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, and Centro de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Valencia; Spain.
- Jain, A., Pandey, K., Benjamin D., Meena, A. y Singh, R. K. (2014). In-vitro Approach of Medicinal Herb: Bacopa monnieri. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 3 (5), ISSN: 2319-8753
- Kowalczyk, K. (2008). *El tipo de polinización y la capacidad de partenocarpia del pepino (Solanum muricatum Ait.)*. Folia Horticulturae, 20 (1), DOI: [10.2478 / fhort-2013-0103](https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0103)

- Ladio, A. (2006). *Los desafíos actuales de la etnobotánica*. (Boletín: vol. 5. N° 2). Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. p. 27.
- Laguna, Y., Cueva, J., Tamariz, C., y Olivera, P. (2019). Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento in vitro de *Senecio calvus* (asteraceae), planta medicinal altoandina, endémica del Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(2), 111-121.
- León, J. (1968). *Fundamentos botánicos de cultivos tropicales*. San José, Costa Rica: IICA.
- Leakey, R y Roger, L. (1998). *La sexta extinción: El futuro de la vida y de la humanidad*. (2ª. Ed.). Barcelona: Tusquets. 296 p.
- Leiva, S., Gayoso, G., y Chang, L. (2015). *Solanum lycopersicum* L. “tomate” y *Solanum muricatum* Aiton “pepino” (Solanaceae) dos frutas utilizadas en el Perú Prehispánico. *Arnaldoa*, 22(1), 201-224.
- Mahato, S. K., Gurung, S., Chakravarty, S., Chhetri, B., y Khawas, T. (2016). An introduction to Pepino (*Solanum muricatum* Aiton). *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 1(2), 143-148.
- Mazid, M., Ahmed K., y Mohammad, F. (2011). Cytokinins, a classical ds a multifaceted hormone in plant system. *Journal of Stress Physiology y Biochemistry*, 7(4). 347-368.
- Medina, E. (1977). *Introducción a la ecofisiología vegetal*. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.
- Mejía, R. (1994). *Propagación comercial - 312 especies de plantas por cultivo in vitro*. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Biblioteca Agrícola Nacional, (BAN). 364.p.

- Mejía, R., y Vittorelli, C. (1988). *Cultivo in vitro de plantas de papa: manual de laboratorio*. Instituto Nacional de Investigación Agrícola y Agroindustrial. Cali, Colombia. 111 p.
- MINAM. (2019). *Sexto informe nacional sobre diversidad biológica la biodiversidad en cifras*. Ministerio del Ambiente. Lima, Perú.
- Montes, S., Lalama, J., Echevarría, J., y Salazar, S. (2016) *Factores bióticos y abióticos que influyen en la aclimatación de las vitroplantas en invernadero* ISSN-e 2477-8818, Vol. 2, N°. Extra 2, 2016 , págs. 63-89.
- Muñoz de Malajovich, M. (2012). *Biotecnología*. (2ª ed.). Bernal, Buenos Aires: Universidad Nacional de Quilmes.
- Muñoz, C., Pertuzé, R., Balzarini, M., Bruno, C., y Salvatierra, A. (2014). Genetic variability in Chilean pepino (*Solanum muricatum* Aiton) fruit. *Chilean journal of agricultural research*, 74(2), 143-147.
- Murashige, T., y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Ngomuo, M., Mneney, E. y Ndakidemi P. Los efectos de las auxinas y citoquininas en el crecimiento y desarrollo de (*Musa* sp.) Var.“ Yangambi ”explantes en cultivo de tejidos, *American Journal of Plant Sciences* , vol. 4, núm. 11, 2013, págs. 2174-2180. doi: [10.4236 / ajps.2013.411269](https://doi.org/10.4236/ajps.2013.411269) .
- Nuez, F. y Ruiz, J. J. (1996). *El pepino dulce y su cultivo*. Roma. FAO. 154 p.
- Ortiz, R. (2012). La adopción de la biotecnología moderna y su compatibilidad con una agricultura sustentable. *Idesia*, 30(3), 3-10.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2013). *Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos*

*para la alimentación y la agricultura.* Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Roma.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1996). *Cumbre mundial sobre la alimentación: Enseñanzas de la revolución verde.* Recuperado de <http://www.fao.org/3/w2612s/w2612s06.htm>.

Paccha M. S. (2018). *Determinar los requerimientos hídricos del pepino dulce (Solanum muricatum Aiton) mediante el lisímetro volumétrico en la parroquia malacatos sector "El porvenir".* (Tesis de Grado) Universidad Nacional de Loja, Ecuador. 98 p.

Pedroza J. (2008). *Aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales en condiciones in vitro.* Universidad distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia.

Pierik, R. L. M. y Mateo, L. A. (1990). *Cultivo in vitro de plantas superiores.* España: Mundi-Prensa.

Pierik, R. L. M. (1997). Micropropagación de *Solanum muricatum* Ait. (Pepino). En: Bajaj YPS (eds) Alta tecnología y micropropagación V. Biotecnología en agricultura y silvicultura, Vol 39. Springer, Berlín, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-07774-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-662-07774-0_11)

Prohens, J., Ruiz, J. J., & Nuez, F. (1996). The pepino (*Solanum muricatum*, Solanaceae): A "New" crop with a history. *Economic Botany*, 50(4), 355-368.

Ramos, J. C. (2009). *Efecto de cuatro niveles de potasio en el rendimiento de dos cultivares de pepino dulce (Solanum muricatum Ait.) en el CEA. III Los Pichones.* (Tesis de Grado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna. 94 p.

- Rayas, A., López, J., Medero, V. R., Basail, M., Santos, A., y Gutiérrez, Y. (2019). Conservación in vitro de cultivares de Ipomoea batatas (L.) Lam por crecimiento mínimo con el uso de manitol. *Biotecnología Vegetal*, 19(1), 43-51.
- Roca, W. y Miroginski, L. (1991). *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 969 p.
- Rodríguez-Luna, E. y Shedden A. (2009). El concepto de especie y la explicación de la extinción. *La ciencia y el hombre*. (3):15-20.
- Rojas, M., y Ramírez, H. (1993). *Control hormonal del desarrollo de las plantas: fisiología-tecnología-experimentación*. México: Limusa.
- Seyyedyousefi, SR, Kaviani, B. y Dehkaei, NP (2013). El efecto de diferentes concentraciones de NAA y BAP sobre la micropropagación de Alstroemeria. *Revista europea de biología experimental*, 3.
- Solís, M. G. (2015). *Evolución de los parámetros de calidad en frutos de pepino dulce (Solanum muricatum Ait.) durante las fases de crecimiento, maduración y post-cosecha* (Tesis Doctoral). Universitat Politècnica de València, España.
- Suárez de Castro, F. (1993) *Agricultura, Biotecnología y Propiedad Intelectual*. San José, Costa Rica: IICA. 134 p.
- Toledo, V. M. (2009). ¿Contra nosotros? La conciencia de especie y el surgimiento de una nueva filosofía política. *Polis. Revista Latinoamericana*, (22), URL: <http://journals.openedition.org/polis/2668>
- Torrent, D. (2015). *Caracterización morfológica y molecular en pepino dulce (Solanum muricatum) y especies silvestres relacionadas*. (Doctoral dissertation). Universitat Politècnica de València. España. 71 p.

- Uribe, M. E., Ulloa, J., Delaveau, C., Sáez, K., Muñoz, F., y Cartes, P. (2012). Influencia de las auxinas sobre el enraizamiento in vitro de microtallos de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Gayana. Botánica*, 69(1), 105-112.
- Valencia, M., Escobedo, D., Díaz, L., y González, E. (2019). Aclimatación ex vitro de plántulas de *Fragaria x ananassa* Duch.. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(1), 91-100. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1633>
- Vallejo F. (2015). *Los cultivos exóticos como alternativa a hortícolas en invernadero: Solanum muricatum* (Trabajo de fin de grado en ingeniería Agrícola). Universidad de Almería, España.
- Ventura J. (2019). *Uso de manitol y sorbitol en la conservación in vitro de dos ecotipos comerciales del aguaymanto (Physalis peruviana)*. (Tesis de Grado). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. 62 p.
- Weaver R. (1996). *Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura*. México: Trillas.
- Zapana Churata, L. E. (2015). *Comportamiento del cultivo de pepino dulce (Solanum Muricatum) en diferentes densidades de siembra y sistemas de manejo en la Irrigación Majes, 2013*. (Tesis de Grado). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú. 156 p.

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Formato de caracterización cualitativa y cuantitativa de tallo de pepino dulce

Ecotipo: \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nro.	Descriptores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Longitud de tallo (cm)										
2	Longitud de entrenudos (cm)										
3	Grado de ramificación										
4	Intensidad de antocianina de la punta del brote										
5	Densidad de la pubescencia en el tallo										
6	Color de tallo										
7	Protuberancias de raíz en los nodos										

Fuente; Elaboración propia

### Descriptores cualitativos del tallo

3 | Grado de ramificación

- 3 Bajo
- 5 Intermedio
- 7 Alto

4 | Intensidad de Antocianinas de la punta al brote

- 0 Ausente
- 3 Débil
- 5 Intermedio
- 7 Fuerte

5 | Densidad de pubescencia del tallo

- 0 Glabro
- 3 Escaso
- 5 Intermedio
- 7 Denso

6 | Color del Tallo

- 0 Ausente
- 3 Pocos
- 5 Intermedio
- 7 Muchos

7 | Protuberancias de la raíz en los nodos

- 1 Verde
- 2 Verdoso con manchas púrpuras
- 3 Púrpura verdoso
- 4 Púrpura
- 5 Púrpura oscuro

Fuente: IPGRI (2004).

## Anexo 2. Formato de caracterización cualitativa y cuantitativa de frutos de pepino dulce

Ecotipo: \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nro.	Descriptores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Número de frutas por infrutescencia										
2	Número de frutos por planta.										
3	Rendimiento de fruta por planta [g]										
4	Peso medio de la fruta [g]										
5	Uniformidad del tamaño del fruto										
6	Longitud del fruto [cm]										
7	Ancho del fruto [cm]										
8	Posición de la parte más ancha de la fruta										
9	Relación largo / ancho de fruta										
10	Curvatura de la fruta										
11	Forma de la sección transversal de la fruta										
12	Forma predominante de la fruta										
13	Superficie del fruto										
14	Forma del ápice de la fruta										
15	Forma de hombro de fruta										
16	Longitud del pedicelo de la fruta										
17	Color de fruta inmadura										
18	Color predominante de la fruta en la madurez comercial										
19	Color secundario de la fruta en la madurez comercial										
20	Distribución secundaria del color del fruto en la madurez comercial										
21	Superficie de fruta cubierta por color adicional de fruta										
22	Brillo de la epidermis de la fruta										
23	Firmeza del fruto en la parte más amplia										
24	Número de lóbulos por fruta.										
25	Longitud del área placentaria interna [cm]										
26	Anchura placentaria interna [cm]										
27	Relación de longitud / amplitud placentaria interna										
28	Densidad de pulpa de fruta										
29	Color de pulpa de fruta										
30	Intensidad del color de la pulpa de la fruta										
31	Sabor a frutas										
32	Presencia de mal sabor amargo										
33	Sensibilidad de la fruta (susceptibilidad) a los hematomas										
34	Capacidad de pelar frutas										
35	Contenido de sólidos solubles [%]										
36	Número de semillas por fruto										
37	Color de semilla										
38	Diámetro de la semilla										
39	Tipo de semilla										
40	Peso de 100 semilla [g]										

Fuente: Elaboración propia

## Descriptorios cualitativos del fruto

5	Uniformidad del tamaño del fruto
3	Bajo
5	Intermedio
7	Alto
8	Posición de la parte más ancha de la fruta
3	Menos de 1/4 de la base a la punta
5	Entre 1/4 y 1/2 de la Base a la punta
7	Más de 1/2 de la base a la punta
10	Curvatura de la fruta
0	Ninguna (fruta recta)
3	Ligeramente curvada
5	Curvada
7	En forma de hoz
11	Forma de la sección transversal de la fruta
1	Circular
2	Elíptica
3	Ovalada
4	Triangular
5	Irregular
12	Forma predominante de la fruta
1	Aplanada
2	Redondeada
3	Elipsoide
4	Obovada
5	Cordiforme
6	Cónica
7	Alargada
13	Superficie del fruto
1	Suave
2	Áspero
3	Verrucosa
14	Forma del ápice de la fruta
3	Sobresaliente
5	Redondeada
7	Deprimida
15	forma de hombro de fruta
1	Plano
3	Ligeramente deprimido
5	Moderadamente deprimido
7	Muy deprimido
17	Color de fruta inmadura
1	Blanco
2	Verde
3	Verde con Rayas verde oscuro
4	Verde con rayas moradas
18	Color predominante de la fruta en la madurez comercial
1	Verde oscuro
2	Verde Claro
3	Blanco como la leche
4	Amarillo Pálido

5	Amarillo dorado
6	Amarillo anaranjado
7	Lila
8	Púrpura
9	Púrpura negro
19	Color secundario de la fruta en la madurez comercial
1	Verde oscuro
2	Verde Claro
3	Blanco como la leche
4	Amarillo Pálido
5	Amarillo dorado
6	Amarillo anaranjado
7	Lila
8	Púrpura
9	Púrpura negro
20	Distribución secundaria del color del fruto en la madurez comercial
1	Moteado
2	Red
3	Combinado
22	Brillo de la epidermis de la fruta
3	Sin brillo
5	Intermedio
7	Brillante
23	Firmeza del fruto en la parte más amplia
3	Suave
5	Intermedio
7	Firme
28	Densidad de pulpa de fruta
1	Muy suelta
3	Suelta
5	Intermedia
7	Densa
9	Muy densa
29	Color de pulpa de fruta
1	Verde oscuro
2	Verde claro
3	Blanco
4	Amarillo pálido
5	Amarillo dorado
6	Amarillo anaranjado
7	Naranja
8	Salmón
30	Intensidad del color de la pulpa de la fruta
3	Claro
5	Intermedio
7	Oscuro
31	Sabor a frutas
1	Muy ácido
3	Acido
5	Moderadamente dulce
7	Dulce
9	Muy dulce
32	Presencia de mal sabor amargo

0	Ausente
3	Débil
5	Intermedio
7	Fuerte
33	Sensibilidad de la fruta (susceptibilidad) a los hematomas
3	Sensible
5	Intermedio
7	Resistente
34	Capacidad de pelar frutas
3	Fácil
5	Intermedio
7	Difícil
36	Número de semillas por fruto
1	Muy pocas(1-5)
2	Pocas (6-25)
3	Intermedias (26-75)
4	Muchas (76-250)
5	Muy Muchas (>250)
37	Color de semilla
1	Blanco
2	Amarillo claro
3	Amarillo gris
4	Amarillo parduzco
5	Marrón
6	Marrón negro
7	Negro
39	Tipo de semilla
1	Sin alas
2	Intermedio
3	Alado

Fuente: IPGRI (2004).

### Anexo 3. Formato de caracterización cualitativa y cuantitativa de la hoja de pepino dulce

Ecotipo: \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nro.	Descriptor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Color de peciolo										
2	Color de hoja (envés)										
3	Color hoja (haz)										
4	Coloración de antocianinas de las venas de las hojas (envés)										
5	Coloración de antocianinas de las venas de las hojas (haz)										
6	Actitud de la hoja										
7	Posición de la parte más ancha de la lámina de la hoja										
8	Tipo de hoja										
9	Forma de hoja										
10	Forma del ápice										
11	Variabilidad en el tamaño de la hoja										
12	Tipo de vellosidad de la hoja haz (lado abaxial)										
13	Tipo de vellosidad de la hoja (envés)										
14	Actitud de la superficie de la hoja										
15	Longitud del peciolo de la hoja (cm)										
16	Rugosidad de la hoja										
17	Longitud de la hoja (cm)										
18	Ancho de hojas (cm)										

Fuente: Elaboración propia

#### Descriptor cualitativo de la hoja

1	Color del peciolo
1	Verde
2	Verdoso con manchas púrpuras
3	Púrpura verdoso
4	Púrpura
5	Púrpura oscuro
2	Color de la hoja (envés)
1	Verde claro
2	Verde claro
3	Verde Oscuro
4	Púrpura verdoso
5	Púrpura
3	Color de la hoja (haz)
1	Verde claro
2	Verde claro
3	Verde Oscuro
4	Púrpura verdoso
5	Púrpura
4	Coloración de antocianinas de las venas de la hoja (envés)
3	Verde
5	Venas principales de color púrpura y el resto verde
7	Púrpura
5	Coloración de antocianinas de las venas de la hoja (haz)
3	Verde

5	Venas principales de color púrpura y el resto verde
7	Púrpura
6	Actitud de la hoja
1	Semi erecta
2	Horizontal
3	Caída
7	Posición de la parte más ancha de la lámina de la hoja
1	Base
3	Inferior 1/3
5	Medio
7	Superior 1/3
8	Tipo de hoja
1	Simple
2	Compuesto
9	Forma de hoja
1	Alargado
2	Lanceolada
3	Ovalado
4	Obovado
5	Cordiforme
6	Elíptico
7	Redondeado
10	Forma del ápice
1	Agudo
2	Intermedio
3	Obtuso
11	Variabilidad en el tamaño de la hoja
3	Bajo
5	Medio
7	Alto
12	Tipo de vellosidad de la hoja haz(lado abaxial)
1	Glabro
2	Pubescente
3	Velutinoso
4	Piloso
5	Hirsuto
13	Tipo de vellosidad de la hoja envés (lado abaxial)
1	Glabro
2	Pubescente
3	Velutinoso
4	Piloso
5	Hirsuto
14	Actitud de la superficie de la hoja
3	Plana
5	Intermedia
7	Muy Convexa
16	Rugosidad de la hoja
1	Liso
2	Bajo
3	Medio
4	Alto

Fuente: IPGRI (2004).

## Anexo 4. Formato de caracterización cualitativa y cuantitativa de la flor de pepino dulce

Ecotipo: \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nro.	Descriptor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Número de flores por inflorescencia										
2	Forma de la corola										
3	Longitud del pétalo de la base hasta la punta (A)										
4	Longitud del pétalo de la base hasta el seno (B)										
5	Relación entre A y B										
6	Color de la corola										
7	Longitud del sépalo										
8	Longitud del estambre										
9	Exposición del estilo (mm)										
10	Producción de polen										
11	Tipo de inflorescencia										

Fuente: Elaboración propia

### Descriptor cualitativo de la flor

2	Forma de la corola
1	Estrellado
2	Semi-estrellado
3	Rotácea
6	Color de la corola
1	blanco
2	Combinación (Blanco > 75% y morado < 25%)
3	Combinado (Blanco 50-75% y morado 25-50%)
4	Combinado (Blanco 25-50% y morado 50-75%)
5	Combinado (Blanco < 25% y morado > 75%)
6	Purpura
10	Producción de polen
0	No hay
3	Bajo
5	Medio
7	Alto
11	Tipo de inflorescencia
1	Generalmente Uníparo
2	Ambas (parcialmente uníparas, parcialmente múltiparas)
3	Generalmente múltiparas

Fuente: IPGRI (2004)