

Efecto de tratamientos de desinfección sobre explantes de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para introducción *in vitro* *

Hernán David Ruiz-Berrío 

Investigador, Grupo de Investigaciones Agrícolas (GIA), Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia - Uptc - Sede Tunja - Colombia
hernan.ruiz@uptc.edu.co

Marilcen Jaime-Guerrero 

Investigador, Grupo de Investigaciones Agrícolas (GIA), Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia - Uptc - Sede Tunja - Colombia
marilcen.jaime@uptc.edu.co

Javier Giovanni Álvarez-Herrera 

Docente investigador, Grupo de Investigaciones Agrícolas (GIA), Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia - Uptc - Sede Tunja - Colombia
javier.alvarez@uptc.edu.co

RESUMEN

PALABRAS CLAVE

Apiaceae; biodiversidad;
magnoliofita; raíz;
propagación

La arracacha es una raíz andina con un alto contenido de almidón y constituye una fuente alternativa de seguridad alimentaria. En Colombia, la producción de este cultivo ha aumentado debido a la implementación de diversos materiales genéticos con fines comerciales en las diferentes regiones del país, sin embargo, debido a la forma de propagación se ha multiplicado la incidencia de plagas y enfermedades. El método de propagación *in vitro* de meristemas se ha utilizado con éxito en la multiplicación de plantas de apiaceae, por lo anterior, el objetivo fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos de desinfección e introducción de explantes de arracacha *in vitro*. Se realizaron dos fases de desinfección. En la primera fase, se dispusieron 14 tratamientos en un diseño completamente aleatorizado (DCA) en el que se evaluaron diferentes concentraciones y tiempos de inmersión de NaClO y OH. En la segunda fase, se tomó el tratamiento de (NaClO al 2%), el cual presentó los mejores resultados en la primera fase y se combinó con la aplicación de bactericidas como cloranfenicol y gentamicina con diferentes tiempos de inmersión para conformar 10 tratamientos. La desinfección de explantes de arracacha se debe realizar con el uso de NaClO al 2% durante 10 a 15 minutos, ya que presentó los menores porcentajes de contaminación. La exposición prolongada de los explantes a NaClO ocasionó los mayores porcentajes de muerte celular, mientras que la aplicación de OH disminuyó la muerte de los tejidos. El uso de cloranfenicol redujo el porcentaje de contaminación de los explantes de arracacha en la multiplicación *in vitro*.

Recibido: 24/05/2023 Evaluado: 20/07/2023 Aceptado: 05/09/2023

* Este es un artículo Open Access bajo la licencia BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Fuente de financiación: Minciencias, convocatoria 827, "Segunda convocatoria de innovación entre actores del sistema regional de ciencia y tecnología con empresas para la promoción y validación productos derivados del aprovechamiento sostenible de la biodiversidad en el departamento de Boyacá- 2018", proyecto "Validación e implementación de metodologías para la producción y comercialización de semilla de calidad seleccionada de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft), en la Provincia de Márquez, Boyacá". Código: 66043.

Contribución de los autores

- Autor 1: Investigación, análisis formal, metodología, redacción – borrador original.
- Autor 2: Investigación, metodología, redacción - revisión y edición.
- Autor 3: Conceptualización, análisis formal, adquisición de financiamiento, supervisión, redacción - revisión y edición.

Cómo citar este artículo/How to cite: RUIZ-BERRÍO, Hernán David; JAIME-GUERRERO, Marilcen; ÁLVAREZ-HERRERA, Javier Giovanni. Efecto de tratamientos de desinfección sobre explantes de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para introducción *in vitro*. *En:* Entramado. Enero-Junio 2024 vol. 20, no. 1e-10219 p. 1-10 <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.10219>

Effect of disinfection treatments on explants of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) for introduction *in vitro*

ABSTRACT

KEYWORDS

Apiaceae; biodiversity; magnoliophyta; root; propagation

The arracacha is an Andean root with a high nutritional content, serving as an alternative source for food security. In Colombia, crop production has seen an increase due to the adoption of various genetic materials for commercial purposes across different regions of the country. However, the chosen method of propagation has led to a multiplication in the incidence of pests and diseases. The successful application of *in vitro* meristem propagation methods in multiplying Apiaceae plants prompted the objective of assessing the impact of different disinfection treatments and the introduction of arracacha explants *in vitro*. Two disinfection phases were carried out. In the initial phase, a completely randomized design (CRD) involved 14 treatments, assessing various concentrations and immersion durations of NaClO and OH. Subsequently, the treatment involving NaClO at 2%, yielding the best results in the first phase, was selected and combined with the application of bactericides such as chloramphenicol and gentamicin, each with different soaking times, resulting in 10 treatments. Effective disinfection of arracacha explants requires the use of 2% NaClO for 10 to 15 minutes, as this approach yields the lowest contamination percentages. Prolonged exposure of explants to NaClO resulted in higher percentages of cellular death, whereas the application of OH diminished tissue mortality. The inclusion of chloramphenicol reduced the contamination percentage of arracacha explants during *in vitro* multiplication.

Efeito dos tratamentos de desinfecção em explantes de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para introdução *in vitro*

RESUMO

PALAVRAS-CHAVE

Apiaceae; Biodiversidade; Magnoliophyta; Raiz; Propagação

A mandioca é uma raiz andina com alto teor de amido e representa uma fonte alternativa de segurança alimentar. Na Colômbia, a produção desse cultivo tem aumentado devido à implementação de diversos materiais genéticos para fins comerciais em diferentes regiões do país. No entanto, devido à forma de propagação, houve um aumento na incidência de pragas e doenças. O método de propagação *in vitro* de meristemas tem sido empregado com sucesso na multiplicação de plantas da família Apiaceae. Como mencionado anteriormente, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes tratamentos de desinfecção e a introdução de explantes de mandioca *in vitro*. Foram conduzidas duas fases de desinfecção. Na primeira fase, foram implementados 14 tratamentos em um delineamento completamente aleatório (DCA), no qual foram avaliadas diferentes concentrações e tempos de imersão de NaClO e OH. Na segunda fase, o tratamento com NaClO a 2%, que apresentou os melhores resultados na primeira fase, foi selecionado e combinado com a aplicação de bactericidas, como cloranfenicol e gentamicina, com diferentes tempos de imersão, totalizando 10 tratamentos. A desinfecção de explantes de mandioca deve ser realizada utilizando NaClO a 2%, durante 10 a 15 minutos, pois isso resulta em menores percentagens de contaminação. A exposição prolongada dos explantes ao NaClO causou maiores taxas de morte celular, enquanto a aplicação de OH reduziu a morte do tecido. O uso de cloranfenicol diminuiu a porcentagem de contaminação dos explantes de mandioca durante a multiplicação *in vitro*.

I. Introducción

El cultivar de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) es una de las especies más ancestrales de los Andes, incluso antes que la papa (*Solanum tuberosum* L.), conocida también como apio criollo o zanahoria blanca (Castanha, Villar, Matta-Junior, Dos Anjos y Duarte, 2018). Tiene gran importancia económica y uso potencial debido al alto contenido de almidón y carotenoides, que la convierten en una opción económica importante para los pequeños productores (Choquechambi,

[Callisaya, Ramos, Bosque, Mújica, Jacobsen, Sørensen y Leidi, 2019](#)). Colombia es el segundo país productor de arracacha después de Brasil, con un rendimiento promedio de 12,95 t ha⁻¹, siendo los departamentos de Tolima, Boyacá y Norte de Santander los que presentan mayor producción y áreas de siembra para el año 2022, con 56.455, 17.234 y 8.989 t, respectivamente ([Agronet, 2023](#)).

La seguridad alimentaria y la nutrición son una de las principales preocupaciones de los países para lograr esquemas de alimentación sostenibles ante la eminente influencia del cambio climático ([Padhan, Biswas y Panda, 2020](#)). Los cultivos de raíces y tubérculos andinos son una fuente alternativa de alimentación, económicamente viables, localmente adaptables y presentan gran resistencia a las variaciones de las condiciones climáticas ([Rincón, Ruiz, Molano, Álvarez-Herrera y Pinto, 2021](#); [Pinto-Acero, Alvarado-Gaona y Álvarez-Herrera, 2012](#)), por lo que constituyen un recurso valioso que debe ser preservado y popularizado ([Tsehay, Admassu, Admassu y Gebeyehu, 2023](#)). En este sentido, el cultivo de arracacha podría considerarse para resolver problemas de hambre y desnutrición, ya que anteriormente, solo se ha considerado como alimento de “hambruna” ([Chandra, Narres, Thenua, Singh y Geethanjali, 2020](#)).

La arracacha es una planta perenne, perteneciente a la familia apiaceae que contiene apios o raíces tuberosas reservantes comestibles de importancia comercial, adaptada entre los 1500 a 3000 m sobre el nivel del mar ([Muñoz, Alvarado y Almanza-Merchán, 2015](#); [Atencio, Villamil, Garnica y Martínez, 2022](#)). La multiplicación de la arracacha se lleva a cabo mediante propágulos, conocidos como cormelos, que presentan yemas en su superficie. Estos cormelos varían en número de 9 a 48 y se obtienen de una planta adulta ([Matos, Marcano, Azócar y Mora, 2015](#)). Sin embargo, esta forma de propagación ha ocasionado una disminución en la producción, la cual está vinculada a la baja tecnificación y a problemas fitosanitarios ([Garnica, Rodríguez, Jaramillo y Vallejo, 2020](#)), ocasionados principalmente, por el uso de material contaminado en la siembra ([Atencio et al., 2022](#)), que dispersa la enfermedad a los nuevos cultivos. Del mismo modo, [Matos et al. \(2015\)](#) reportan que esta técnica de propagación disminuye la diversidad genética de los cultivares al mantener genotipos homogéneos entre individuos de manera prolongada durante varios ciclos de cultivo.

Aunado a lo anterior, la tradicional propagación vegetativa hace que la multiplicación de material sea lenta, pues se debe esperar entre 12 y 18 meses para que la planta genere propágulos (colinos), lo cual dificulta muchas veces la consecución de material para la siembra ([Matos et al., 2015](#)). Frente a esta problemática, la multiplicación *in vitro* es una alternativa para la obtención de material de calidad para la siembra ([Sliva, Viehmannova y Vitamvas, 2010](#)), ya que permite producir rápidamente una alta cantidad de material vegetal libre de enfermedades, no obstante, la contaminación microbiana usualmente ocurre durante el proceso de propagación en los medios de cultivo, causando muchos problemas, dentro de los que se destacan la reducción en la producción de material vegetal para la siembra y la muerte del propágulo ([Huh, Lee, Kim, Kang y Lee, 2015](#)), además, se reportan muy pocos estudios sobre técnicas de propagación para cultivares nativos *in vitro*, así mismo, la consecución de material de arracacha de calidad en el mercado es difícil, ya que se ha generado escasez de propágulos en el mercado, por lo que no se pueden asegurar siembras con altos rendimientos en las zonas productoras ([Atencio et al., 2021](#)).

En este sentido, el objetivo de esta investigación fue establecer un protocolo óptimo para la micropropagación de arracacha, a través de tratamientos de desinfección sobre explantes de arracacha para introducción *in vitro*, lo que permitiría la multiplicación rápida de clones con características adecuada.

2. Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Manejo de Control Biológico de Cultivos, de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Boyacá-Colombia), sede Tunja, el cual está ubicado a una altitud de 2703 m, con coordenadas 5° 33' 13" de latitud norte y 73° 21' 30" de longitud oeste.

Las plantas de arracacha empleadas corresponden al material ‘paliverde’, provenientes del municipio de Jenesano (Boyacá), las cuales, fueron sembradas bajo cubierta plástica a una temperatura ambiente promedio de 15,9 °C y humedad relativa del 65%. Se seleccionaron propágulos sanos y libres de daños, los cuales fueron lavados con agua destilada, para eliminar residuos. Posteriormente, se extrajeron explantes de 1 a 2 mm de longitud a partir de los propágulos, a los que se les realizaron los tratamientos de desinfección.

Se realizaron dos fases experimentales de tratamientos de desinfección. En la primera fase se aplicaron 14 tratamientos con diferentes dosis de hipoclorito de sodio (NaClO), alcohol (OH) y tiempos de inmersión ([Tabla 1](#)) seleccionadas a

partir de estudios realizados por [Bedoya-Pérez, Sánchez-Jaramillo, Bermúdez-Gómez, Ramírez-Restrepo \(2016\)](#) y [Ticona y Triguero \(2019\)](#). Cada tratamiento tuvo ocho repeticiones para un total de 112 unidades experimentales (UE). Los explantes desinfectados fueron sembrados en medio de cultivo Murashige y Skoog (con pH entre 5,7 y 5,8), suplementado con 3 mg.L⁻¹ de 6-Bencilaminopurina (BAP), 0,1 mg.L⁻¹ de ácido 1-naftalenacético (ANA) y esterilizado en autoclave Advance de 18 L (StarClave, Colombia) a 120 °C y 0,1 MPa de presión durante 20 minutos.

Tabla 1.
Tratamientos de desinfección de explantes de arracacha con diferentes dosis de desinfectante y tiempos de inmersión (fase uno)

Tratamiento	Tiempo (minutos)	Desinfectante	Concentración (%)
T1	15		
T2	10		3
T3	5		
T4	15		
T5	10		2
T6	5		
T7	15	NaClO	
T8	10		1
T9	5		
T10	15		
T11	10		0,5
T12	5		
T13	2,5	OH	70
T14	0,5		96

Nota: NaClO: hipoclorito de Sodio; OH: Alcohol

Fuente: Los autores

En la segunda fase, se escogió el tratamiento con mejores resultados en la primera fase, que correspondió a la aplicación de NaClO 2% y se mezcló con nuevas combinaciones de desinfectantes y diferentes tiempos de inmersión, que resultaron en la aplicación de ocho tratamientos con 10 repeticiones, para conformar un total de 80 UE (Tabla 2). A todos los tratamientos del segundo ensayo se les realizó el siguiente procedimiento: los propágulos provenientes de plantas madre fueron lavados 3 veces con jabón comercial y enjugados con agua destilada, posteriormente, se sumergieron en alcohol al 70% durante 1 min y luego fueron inmersos en los diferentes tratamientos. Los explantes fueron sembrados en medio B5 Gamborg (Sigma Aldrich, MO, USA) con pH entre 5,7 y 5,8 suplementado con las mismas dosis de BAP y ANA utilizadas en el medio Murashige y Skoog. Los tratamientos se aplicaron dentro de una cámara de flujo laminar vertical BBS-V700 (Biobase Biodustry, Shandong, China) y luego fueron enjugados tres veces con agua estéril y destilada.

Tabla 2.
Tratamientos de desinfección con bactericida y tiempos de inmersión (fase dos)

Tratamiento	Tiempo (minutos)	Desinfectante	Dosis
T21		CHL	2,5 mg.L ⁻¹
T22	30	CHL + NaClO	2 %
T23		GEN	2,5 mg.L ⁻¹
T24		GEN + NaClO	2 %
T25		CHL	2,5 mg.L ⁻¹
T26	20	CHL + NaClO	2 %
T27		GEN	2,5 mg.L ⁻¹
T28		GEN + NaClO	2 %

Nota: CHL: Cloranfenicol; NaClO: hipoclorito de sodio; GEN: Gentamicina

Fuente: Los autores

Se evaluó el porcentaje de contaminación de explantes, para lo cual se determinó el número de explantes contaminados por tratamiento y dividiéndolo en el total de explantes sembrados. El porcentaje de muerte celular se determinó como el número de explantes muertos al final de los ensayos, dividido en el total de explantes sembrados, expresado en porcentaje.

Se descartaron los datos atípicos mediante una prueba de normalidad de Kolomgorov-Smirnov. Posteriormente, los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (Anova) para diferenciar los tratamientos y mediante una prueba de comparación de diferencias mínimas significativas (DMS) ($P \leq 0,05$), estos fueron clasificados, usando el software SAS 9,2e (SAS Institute Inc, Cary, NC).

3. Resultados y Discusión

Fase Uno

Los tratamientos que presentaron mayor capacidad desinfectante en los explantes de arracacha fueron la aplicación de NaClO al 3% durante 5 y 15 min (T3 y T1), y de NaClO al 2% por 15 min (T4), mientras que, los tratamientos que reportaron mayor contaminación fueron T13 y T14, los cuales correspondían a la aplicación de alcohol al 70% y 96%, respectivamente (Figura 1). Lo anterior ocurre debido a que el hipoclorito de sodio causa daño en la membrana celular de las bacterias y origina lisis del microorganismo, debido a que el cloro libre en el compuesto es capaz de oxidar y dañar las estructuras celulares (Da Cruz-Nizer, Inkovskiy y Overhage, 2020).

Al respecto, el hipoclorito de sodio es capaz de dañar la membrana celular de varias maneras, mediante la oxidación de los lípidos, ya que el cloro puede reaccionar con los lípidos de la membrana celular, causando la oxidación y desestabilización de la bicapa lipídica, lo que provoca la pérdida de la integridad estructural de la membrana y conlleva la muerte celular. También, el hipoclorito de sodio modifica y desnaturaliza las proteínas de la membrana, lo que puede afectar su función y estructura, alterando el transporte de sustancias a través de la membrana, aumentar la permeabilidad y generar daño celular (Huang, Zhang, Wang, Gu, Zhou, Wu y Wang, 2023). Así mismo, genera aumentos de especies reactivas de oxígeno intracelulares, que son moléculas inestables y reaccionan con los componentes de la membrana celular, como los lípidos y las proteínas, para provocar daño oxidativo (Wang, Ni, Hou, Ma, Zhang, Li y Gao, 2023).

Del mismo modo, se observó que los tratamientos correspondientes a NaClO al 0,5% (T10, T11 y T12) presentaron altos porcentajes de contaminación (>70%), lo cual indica que las concentraciones de hipoclorito son un factor importante para ocasionar la lisis de las paredes celulares de las bacterias fitopatógenas. Además, se apreció que, al incrementar la concentración del desinfectante y el tiempo de exposición, el porcentaje de contaminación disminuyó, lo cual es similar a lo reportado por Bedoya-Pérez et al., (2016), quienes en establecimiento *in vitro* de *Aloysia triphylla* encontraron que porcentajes de 1,5% de NaClO durante 10 min, reducen el nivel de contaminación en un 74%. En este sentido, Wang et al. (2023) menciona que dosis superiores a 30 mg.L⁻¹ de NaClO son requeridas para remover cerca del 90% de las bacterias resistentes a antibióticos, por lo que concentraciones mayores no se pueden utilizar para la desinfección.

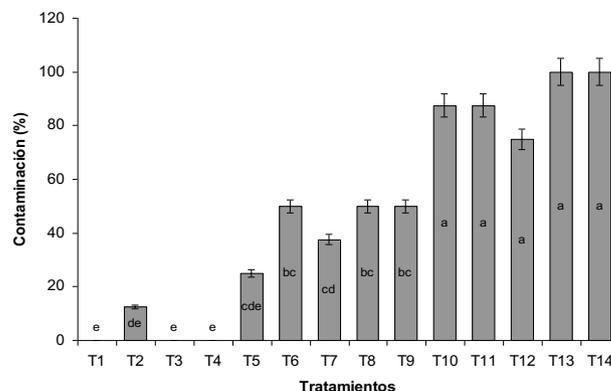


Figura 1. Porcentaje de contaminación de explantes de arracacha sometidos a diferentes tratamientos de desinfección. T1: NaClO 3%, 15 min; T2: NaClO 3%, 10 min; T3: NaClO 3%, 5 min; T4: NaClO 2%, 15 min; T5: NaClO 2%, 10 min; T6: NaClO 2%, 5 min; T7: NaClO 1%, 15 min; T8: NaClO 1%, 10 min; T9: NaClO 1%, 5 min; T10: NaClO 0,5%, 15 min; T11: NaClO 0,5%, 10; T12: NaClO 0,5%, 5 min; T13: OH 70%, 2,5 min; T14: OH 96%, 0,5 min. NaClO: Hipoclorito de Sodio; OH: Alcohol. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de DMS ($P \leq 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

La muerte celular mostró un comportamiento inversamente proporcional a la contaminación por hongos o bacterias (Figura 2), si bien los tratamientos con aplicación de OH al 70% y 96% no presentaron necrosis ni muerte celular, si obtuvieron altos porcentajes de contaminación. Por lo tanto, bajos porcentajes de contaminación se traducen en altos porcentajes de muerte celular, lo cual se explica por el elevado grado de oxidación de los explantes, que es generado a partir de las altas concentraciones de NaClO y un mayor tiempo de exposición, ya que estas causan el rompimiento de las paredes celulares tanto de bacterias y hongos como de las células vegetales, acorde a lo reportado por Wang et al. (2023). Al respecto, es probable que las concentraciones empleadas de NaClO sean muy altas, pues Huang, Yuan y Chen (2020) mencionan que la aplicación de 0,15% fue la más efectiva en la inducción de callos en los explantes de híbridos de *Anthurium*.

El porcentaje de supervivencia de explantes tiende a disminuir en el tiempo, como lo reportaron Matos et al. (2015), quienes encontraron que en arracacha cultivar 'Quiroreño' sembrado en medio de cultivo B5M se presentó a la sexta semana un 91,6% de supervivencia, mientras que en el cultivar 'Algodón' tan solo alcanzó un 17% de supervivencia bajo las mismas condiciones de establecimiento in vitro. Esta reducción en la supervivencia del explante se debe al deterioro tisular, el cual se manifiesta en la deshidratación de los tejidos (Raghu, Martín, Priya, Geetha y Balachandran, 2007; Shashikala, Shashidara y Rajashekarhan, 2005). Al respecto, Melo, Barbosa, Motoike, Sabino, Ventrella y Peternelli (2011) mencionan que la adición de 0,3 M de sacarosa al medio de cultivo es ideal para evitar la deshidratación del explante.

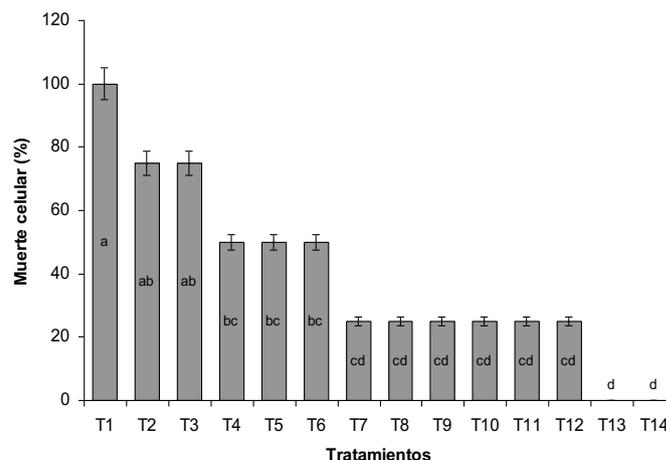


Figura 2. Porcentaje de muerte celular de explantes de arracacha sometidos a diferentes tratamientos de desinfección. T1: NaClO 3%, 15 min; T2: NaClO 3%, 10 min; T3: NaClO 3%, 5 min; T4: NaClO 2%, 15 min; T5: NaClO 2%, 10 min; T6: NaClO 2%, 5 min; T7: NaClO 1%, 15 min; T8: NaClO 1%, 10 min; T9: NaClO 1%, 5 min; T10: NaClO 0,5%, 15 min; T11: NaClO 0,5%, 10; T12: NaClO 0,5%, 5 min; T13: OH 70%, 2,5 min; T14: OH 96%, 0,5 min. NaClO: Hipoclorito de Sodio; OH: Alcohol. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de DMS ($P \leq 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

En general, los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, y T6 con las aplicaciones de 3% y 2% de NaClO mostraron las menores tasas de contaminación de explantes. De otra parte, la aplicación de OH generó los resultados con menor muerte celular y mayor contaminación, similar a lo reportado por Teixeira, Winarto, Dobránszki, Zeng (2015) quienes afirman que la aplicación de 80% de etanol durante 20 min combinado con NaClO al 1% fue usado para desinfectar hojas, peciolo, espadas, espádice y raíces de *Anthurium andreaeanum* y encontraron 100% de contaminación en espadas y espádice.

En contraste, Ticona y Triguero (2019) encontraron que utilizando hipoclorito de sodio al 1% de concentración durante 10 minutos se presentó un 39,8% de contaminación de yemas apicales por hongos y bacterias, mientras que cuando se utilizó alcohol al 70% se obtuvo mayor porcentaje de sobre vivencia con 82,1% y menor porcentaje de contaminación que bajó al 17,1% en explantes de yemas de papaya (*Carica papaya* L.) en propagación in vitro. Una alternativa recientemente empleada en *Valeriana officinalis* L., es la aplicación de nanoplate para la eliminación de la contaminación bacteriana de explantes, ya que al emplear 100 mg.L⁻¹ de nanoplate por 180 minutos, más 70% de etanol y 10% de hipoclorito al 1% por un minuto mostró un porcentaje contaminación de tan solo un 11% (Abdi, Salehi y Khosh-Khui, 2008).

En este sentido, los bajos porcentajes de contaminación contrastaron con la alta tasa de muerte celular, lo cual indica que, una exposición a altas concentraciones de hipoclorito de sodio reduce la supervivencia de los explantes.

Fase dos

De acuerdo a la fase uno, se determinó que los altos porcentajes de contaminación se deben principalmente a la presencia de bacterias, por lo que se realizó una fase dos, con la aplicación de bactericidas en la etapa de desinfección, los cuales fueron cloranfenicol y gentamicina en mezcla con hipoclorito de sodio al 2% para evitar el alto porcentaje de muerte celular. Los tratamientos que mostraron mejores resultados fueron el T22 y T26, con un 10% y 20% de contaminación, respectivamente (Figura 3). Se destaca la eficiencia del CHL combinado con la aplicación de NaClO al 2% en la disminución de la infección, ya que este último aditivo continúa mostrando los mejores resultados también en la fase dos. Similarmente, el CHL en dosis de 30 mg.L⁻¹ combinado con OH al 70% y NaClO al 0,82%, alcanzó a obtener un 15% de explantes sanos de *Mentha arvensis*, mientras que cuando el CHL no se aplicó, todos los explantes sufrieron de contaminación (Héctor Barrón, Godoy, Díaz, Hernández y Torres, 2005).

La gentamicina no logró disminuir de forma eficaz la contaminación a pesar de estar combinado con NaClO al 2% (T24 y T28) y presentó valores de infección promedio de 57,5% cuando fue aplicada, acorde a lo reportado por Salehi y Khosh-Khui (1997) quienes en explantes de rosa 'Baby Masquerade' tan solo alcanzaron una desinfección del 20%. Así mismo, Tewelde, Patharajan, Teka y Berthe-Sbhatu (2020) mencionan que al emplear dosis de gentamicina de 50, 100 y 200 mg.L⁻¹ solo se alcanzó a tener un 27% de microbrotes sanos en *Zingiber officinale* y afirman que el uso de antibióticos de forma individual no siempre es efectivo en controlar la contaminación bacteriana de los explantes o los medios, por lo que se recomienda la utilización combinada de antibióticos.

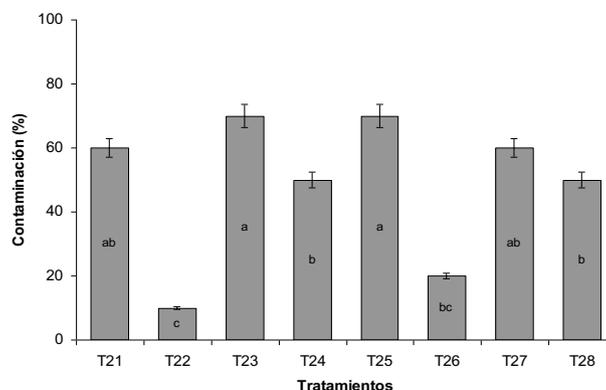


Figura 3. Porcentaje de contaminación de explantes de arracacha sometidos a diferentes tratamientos de desinfección. T21: CHL, 30 min; T22: CHL + NaClO 2% 30 min; T23: GEN, 30 min; T24: GEN + NaClO 2%, 30 min; T25: CHL, 20 min; T26: CHL + NaClO 2%, 20 min; T27: GEN, 20 min; T28: GEN + NaClO 2%, 20 min. NaClO: Hipoclorito de Sodio; OH: Alcohol; CHL: Cloranfenicol; GEN: Gentamicina. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de DMS ($P \leq 0,05$).

Fuente: Elaboración propia

4. Conclusiones

Para la desinfección de explantes de arracacha de 1 a 2 mm de longitud, se recomienda el uso de NaClO en concentraciones de 2% y 3%, sin embargo, la exposición prolongada de este desinfectante puede ocasionar la muerte celular. El uso de NaClO al 2% durante 10 a 15 minutos evita el deterioro celular, lo que permite mayor éxito en la introducción de explantes.

El uso de cloranfenicol reduce el porcentaje de contaminación, sin embargo, es necesario evaluar el crecimiento por más de 8 semanas para evaluar la muerte celular y la posible contaminación por bacterias endógenas que la desinfección en las primeras semanas no puede eliminar, pero que tampoco se observan en el medio de cultivo. Se recomienda replicar los tratamientos en nuevos medios de cultivo para inducir el enraizamiento de explantes. ≡

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

1. ABDI, Gholamreza; SALEHI, Hassan; KHOSH-KHUI, Morteza. Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. In: Acta Physiologiae Plantarum. 2008. vol. 30, p. 709-714. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0169-z>
2. Agronet. Área, producción y rendimiento nacional de arracacha en 2022. En: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural of Colombia, <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/default.aspx>
3. ATENCIO, Liliana Margarita; VILLAMIL, Jorge Enrique; GARNICA, Johanna Paola; MARTÍNEZ, Antonio María. Analysis of alternatives for the production of vegetative seed of *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft in Tolima, Colombia. In: Trends in Horticulture. 2022. vol. 5, no. 2, p. 12-20. <https://doi.org/10.24294/th.v5i2.1816>
4. BEDOYA-PÉREZ, Juan Carlos; SÁNCHEZ-JARAMILLO, Claudia Yaneth; BERMÚDEZ-GÓMEZ, Sandra Milena; RAMÍREZ RESTREPO, Sara. Estandarización de un protocolo de desinfección y establecimiento de cultivo in vitro de *Aloysia tryphilla*. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2016. vol. 14, no. 2, p. 38-46. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)38-46](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)38-46)
5. CASTANHA, Nanci; VILLAR, James; MATTA JUNIOR, Manoel Divino. DOSANJOS, Carlotta Boralli; DUARTE, Pedro Esteves. Structure and properties of starches from *Arracacha* (*Arracacia xanthorrhiza*) roots. In: International Journal of Biological Macromolecules. 2018. vol. 117, p. 1029-1038. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.015>
6. CHANDRA, Sarath; NARESH, R.K.; THENUA, O.V.S.; SINGH, Rajat; GEETHANJALI, D. Improving resource conservation, productivity and profitability of neglected and underutilized crops in the breadbasket of India: A Review. In: The Pharma Innovation Journal. 2020. vol. 9, no. 3, p. 685-696. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2020/vol9issue3/PartL/9-3-93-382.pdf>
7. CHOQUECHAMBI, Luz; CALLISAYA, Iber Roy; RAMOS, Alvaro; BOSQUE, Hugo; MÚJICA, Angel.; JACOBSEN, Sven-Erik; SØRENSEN, Marten; LEIDI, Eduardo. Assessing the nutritional value of root and tuber crops from Bolivia and Peru. In: Foods. 2019. vol. 8, no. 11, id. 526. <https://doi.org/10.3390/foods8110526>
8. DA CRUZ NIZER, Waleska; Stephanie, INKOVSKIY, Vasily; OVERHAGE, Joerg. Surviving reactive chlorine stress: Responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid. In: Microorganisms. 2020. vol. 8, no. 8, id. 1220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081220>
9. GARNICA, Johanna Paola; RODRÍGUEZ, Oscar Jair; JARAMILLO, Camilo Ignacio; VALLEJO, Franco Alirio. Diversidad morfológica y caracteres de selección del germoplasma de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) en Colombia. En: Ciencia y Agricultura. 2020. vol. 43, no. 3, p. 49-62. <https://doi.org/10.19053/01228420.v17.n3.2020.11150>
10. HÉCTOR, E., BARRÓN, Martha; GODOY, Lianette; DÍAZ, B., HERNÁNDEZ, María; TORRES, A. Un método para la desinfección y el establecimiento in vitro de la menta japonesa (*Mentha arvensis* L.). En: Cultivos Tropicales. 2005. vol. 26, suppl. 1, p. 69-71. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215916011>
11. HUANG, Ya-Ling; YUAN, Shih-Chang; CHEN, Fure-Chyi. Establishment of an efficient micropropagation system in anthurium hybrids through in vitro callogenesis and suspension culture. In: The Horticulture Journal. 2020. vol. 89, no. 1, p. 54-60. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-112>
12. HUANG, Rong; ZHANG, Tong; WANG, Qiaoying; GU, Hongbo; ZHOU, Zhen; WU, Zhichao; WANG, Zhiwei. New insights in to the cleaning mechanisms of conductive membrane by NaClO and electric field in terms of protein and polysaccharide degradation. In: Chemical Engineering Journal. 2023. vol. 453, no. 1, id. 139891. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139891>
13. HUH, Yoon Sun; LEE, Joung Kwan; KIM, Ik Jei; KANG, Bo Goo; LEE, Ki Yeol. Effect of biocide addition on plantlet growth and contamination occurrence during the in vitro culture of blueberry. In: Journal of Plant Biotechnology. 2015. vol. 42, no. 2, p. 111-116. <https://doi.org/10.5010/JPB.2015.42.2.111>
14. MATOS, Eduardo; MARCANO, María; AZÓCAR, Carmen Julia; MORA, Argenis. Establecimiento y multiplicación in vitro de cinco cultivares de apio (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) colectados en Venezuela. En: Bioagro. 2015. vol. 27, no. 2, p. 121-130. <https://ve.scielo.org/pdf/ba/v27n2/art08.pdf>
15. MELO, Cristiane Gamarano; BARBOSA, Marcio Henrique; MOTOIKE, Sérgio Yoshimitsu; SABINO, Marcone Vieira; VENTRELLA, Marilia Contin; PETERNELLI, Luiz Alexandre; OLIVEIRA, Marco Antonio. Preculture sugarcane tissue in sucrose-supplemented culture medium to induce desiccation tolerance. In: Crop Breeding and Applied Biotechnology. 2011. vol. 11, no. 4, p. 320-329. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000400005>
16. MUÑOZ, Astrid Lorena; ALVARADO, Álvaro; ALMANZA-MERCHÁN, Pedro José. Caracterización preliminar del cultivo de arracacha *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft en el departamento de Boyacá. En: Revista de Ciencias Agrícolas. 2015. vol. 32, no. 1, p. 3-11. <https://doi.org/10.22267/rcia.153201.20>
17. PADHAN, Bandana; BISWAS, Meghali; PANDA, Debabrata. Nutritional, anti-nutritional and physico-functional properties of wild edible yam (*Dioscorea* Spp.) tubers from Koraput, India. In: Food Bioscience. 2020. vol. 34, id. 100527. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100527>
18. PINTO-ACERO, Yomaira Liney; ALVARADO-GAONA, Alvaro Enrique; ÁLVAREZ-HERRERA, Javier Giovanni. Aplicación de ácido alfa-naftalen acético en colinos de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). En: Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 2012. vol. 6, no. 2, p. 213-22. <https://doi.org/10.17584/rcch.2012v6i2.1978>
19. RAGHU, A. V.; MARTIN, Gerald; PRIYA, V.; GEETHA, S.P.; BALACHANDRAN, Indira. Low cost alternatives for the micropropagation of Centella asiática. In: Journal of Plant Sciences. 2007. vol. 2, no. 6, p. 592-599. <https://doi.org/10.3923/jps.2007.592.599>

20. RINCÓN, Mayra Alejandra; RUIZ, Hernán David; MOLANO, Julián Mauricio; ÁLVAREZ-HERRERA, Javier Giovanni; PINTO, Liney. Postharvest characterization of seven arracacha cultivars (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). In: Revista Facultad Nacional de Agronomía. 2021. vol. 74, no. 3, p. 9745-9756. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v74n3.92658>
21. SALEHI, Hassan; KHOSH-KHUI, Morteza. A simple procedure for disinfection of 'Baby Masquerade' miniature rose explants. In: Scientia Horticulturae. 1997. vol. 68, no. 1-4, p. 145-148. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(96\)00978-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(96)00978-8)
22. SHASHIKALA, C.; SHASHIDARA, S.; RAJASHEKHARAN, P. In vitro regeneration of *Centella asiatica* L. In: Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 2005. vol. 6, no. 1-2, p.53-56. <https://ikpress.org/index.php/PCBMB/article/view/1840>
23. SLÍVA, S.; VIEHMANNNOVA, Iva; VITAMVAS, Jan. Micropropagation and morphogenesis of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bacroft). In: Agricultura tropica et subtropica. 2010. vol. 43, no. 3, p. 206-211. https://agriculturaitz.czu.cz/pdf_files/vol_43_3_pdf/sliva%20.pdf
24. TEIXEIRA, Jaime; WINARTO, Budi; DOBRÁNSZKI Judit; ZENG, Songjun. Disinfection procedures for in vitro propagation of Anthurium. In: Folia Horticulturae. 2015. vol. 27, no. 1, p. 3-14. <https://doi.org/10.1515/fhort-2015-0009>
25. TEWELDE, Selam; PATHARAJAN, Subban; TEKA, Zenebe; BERHE-SBHATU, Desta. Assessing the Efficacy of Broad-Spectrum Antibiotics in Controlling Bacterial Contamination in the In Vitro Micropropagation of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc). In: The Scientific World Journal. 2020. vol. 2020, id 6431301. <https://doi.org/10.1155/2020/6431301>
26. TICONA, Johnny; TRIGUERO, Mary Laura. Evaluación de tres métodos de desinfección para el establecimiento in vitro de papaya (*Carica papaya* L.) en la estación experimental Sapecho. En: Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales. 2019. vol. 6, no. 1, p. 24-29. http://www.scielo.org/bo/pdf/riarn/v6n1/v6n1_a05.pdf
27. TSEHAY, Eden Genetu; ADMASSU, Shimelis; ADMASSU, Habtamu; GEBEYEHU, Teshome. Nutritional composition and phytochemical content of wild edible tuber (*Amorphophallus abyssinicus*) crop. In: International Journal of Food Properties. 2023. vol. 26, no. 1, p. 974-990. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2197176>
28. WANG, Yan; NI, Xiaoyu; HOU, Xuan; MA, Defang; ZHANG, Bo; LI, Qian; GAO, Baoyu. The inactivation of antibiotic-resistant bacteria and the damage of antibiotic-resistant genes using an electrified carbon nanotube membrane-NaClO system. In: Chemical Engineering Journal. 2023. vol. 454, no. 1, id. 140183. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.140183>