

1 Journal:
2 ISSN:
3 País:
4 SJR2015:
5 FIN2015:
6 Caracterización
7

8 **ACLIMATACIÓN NO CONVENCIONAL DE PLANTAS DE UCHUVA**

9 **(*Physalis peruviana* L.) Y LULO (*Solanum quitoense* Lam.)**

10 **SOLANÁCEAS PROPAGADAS *IN VITRO***

11 **Luz M. Perez¹□ , Sandra Constantino Chuairé²□**

12 ¹□□ Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales, Grupo de Investigación en Agricultura Biológica,
13 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C.,
14 Colombia.

15 ²□□ Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales, Grupo de Investigación en Agricultura Biológica,
16 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias , Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C.,
17 Colombia.

18 [△]These authors contributed equally in this work

19
20 *Corresponding authors

21
22 **Luz Mireya Perez J.**
23 Associate Professor
24 E-mail: luzperez@javeriana.edu.co
25 Pontificia Universidad Javeriana
26 Facultad de Ciencias
27 Departamento de Biología
28 Carrera 7 No. 40 - 62
29 Código Postal: Bogotá 110-23
30 Phone: 3208320 Ext. 4101
31

32 **Resumen**

33 La micropropagación técnica *In vitro* que beneficia la producción masiva de especies vegetales
34 comerciales o de interés científico, presenta riesgos que implican, bajos porcentajes de supervivencia
35 durante la fase de aclimatación (proceso de adaptación gradual de las plantas al ambiente). El objetivo
36 del estudio fue evaluar el efecto de diferentes sustratos y la aplicación de un inóculo comercial en la
37 fase de aclimatación de *Physalis peruviana* L. (uchuva) y *Solanum quitoense* Lam. (lulo). Se
38 sembraron 800 segmentos nodales de uchuva y lulo, sobre medio MS ([Murashige & Skoog](#)). Una vez
39 alcanzaron altura promedio (5cm) fueron trasferidos en condiciones controladas a frascos de vidrio,
40 aislados con una lámina de aluminio sobre la formulación de 5 sustratos (turba, suelo negro y 3

41 mezclas 1:1 de suelo negro/turba, suelo negro/cascarilla de arroz, suelo negro/piedra pómez), más la
42 aplicación de un inóculo comercial compuesto por *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* y
43 *Rhodopseudomona palustris*, activados en 1L de agua con 6g de melaza. La aplicación del riego se
44 realizó de acuerdo a las réplicas de cada uno de los sustratos (n=80), repartidas en dos diluciones del
45 inóculo 10^{-1} (n=20), 10^{-2} (n=20) y dos controles (H_2O (n=20) y melaza sin inóculo (n=20)), con
46 frecuencia de irrigación cada 8 días. Los resultados señalaron el tratamiento de Suelo negro/Turba
47 inoculado con 10^{-1} como el tratamiento más eficiente para uchuva en invernadero, para lulo el
48 crecimiento se evidenció en el tratamiento Suelo negro/Cascarilla de arroz inoculado con 10^{-2} . Dado
49 que los experimentos de esta aclimatación no convencional mostraron efectos sustanciales y
50 favorables sobre el crecimiento y supervivencia de las plantas, se recomienda el empleo de esta
51 biotecnología para otras especies vegetales, ya que es posible, aliviar el estrés producto del proceso
52 *In vitro*, iniciando su adaptación en el cuarto de incubación en condiciones controladas, simulando
53 agrosistemas óptimos semejantes al cultivo en campo y culminando su aclimatación en invernadero.

54 **Palabras claves:** micropropagación, aclimatación, sustrato, enraizamiento, inóculo.

55 **Abstract**

56 *In vitro* technical micropropagation that benefits mass production of commercial or scientifically
57 interesting plant species presents risks that imply low percentages of plant survival during the
58 acclimatization phase (process of gradual adaptation of plants in the environment). The objective of
59 study was to evaluate the effect of different substrates and the application of a commercial inoculum in
60 the acclimation phase of plants *Physalis peruviana* L. (uchuva) and *Solanum quitoense* Lam. (Lulo).
61 Initially 800 nodal segments of uchuva and lulo were planted, micropropagated on MS medium
62 (Murashige & Skoog), once they reached an average height of 5 cm, they were transferred under
63 controlled conditions to glass jars isolated with an aluminum foil on the formulation of 5 substrates
64 (peat, black soil and 3 mixtures of 1:1 black soil/peat, black soil/Rice, black soil/pumice) plus an
65 application of a commercial inoculum compound (*Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* y
66 *Rhodopseudomona palustris*, activated in 1 liter of water with 6 grs of molasses). The application of
67 irrigation was made according to the replicates of each of the substrates (n = 80), distributed in two
68 dilutions of the inoculum 10^{-1} (n = 20), 10^{-2} (n = 20) and two controls (H_2O (n = 20) and molasses
69 without inoculum (n = 20)), with a mechanical irrigation frequency every 8 days. The results
70 indicated the treatment of black soil/ peat inoculated with 10^{-1} as the most efficient greenhouse
71 treatment for uchuva plants, for lulo the growth was evidenced in the treatment Black soil/ Cascara
72 of rice inoculated with 10^{-2} . Since the experiments of this unconventional acclimatization showed
73 favorable effects on the characteristics of plant growth and survival, it could be recommended to use
74 this type of biotechnology for other plant species, since it is possible to alleviate the stress of plants
75 produced *In vitro*, initiating their gradual adaptation under controlled conditions before transplanting
76 them to greenhouse and simulating cultivation systems on optimal substrates similar to field
77 cultivation.

78 **Keywords:** micropropagation, acclimatization, substrate, rooting inoculum

79 **Introducción**

80 Colombia es un país biodiverso en fauna y flora, este último aspecto se refleja en la variedad de
81 especies alimenticias que elevan la producción agrícola comparada con la de otros países del mundo,
82 es por ello que formamos parte del sector. Elevar el nivel de producción de estos cultivos a través de
83 los avances biotecnológicos, representa una herramienta estratégica para la investigación y el
84 mejoramiento de las condiciones morfofisiológicas de estas especies vegetales. En consecuencia
85 existen algunos riesgos, presentando bajos porcentajes de supervivencia en la fase de aclimatación
86 ([Çakmak et al., 2016](#)), lo que afecta su posterior transferencia a campo, y se convierte en un verdadero
87 cuello de botella ([Pedroza, 2008](#)).

88 Estudios recientes ([Adelberg et al., 2013, 2015](#)) indican que el crecimiento de los diferentes órganos
89 de las plantas producidas *in vitro* se ve afectado durante el enraizamiento. Adicional a ello estas
90 plantas son vulnerables ante la presencia de patógenos y por su condición *in vitro* son desprovistas de
91 una microbiota que les ayude a afrontar el estrés producido en la transición durante la fase de
92 aclimatación, la cual, una vez ha iniciado no garantiza ni la existencia ni la calidad en la producción
93 de los cultivos ([Hawaz et al., 2016](#)).

94 A partir de lo anterior surge el interés por plantear alternativas que permitan aliviar el estrés de las
95 plantas durante su propagación, brindándoles condiciones de aclimatación óptimas y semejantes a las
96 condiciones edáficas naturales, en un agrosistema prometedor que permita predecir las interacciones
97 entre plantas-suelo y la simbiosis con los microorganismos, de tal manera que repercuta directamente
98 en el crecimiento y supervivencia de las especies vegetales.

99 El sustrato empleado en la aclimatación juega un papel importante como reserva nutricional y lecho
100 de las plantas. Y debe proveer las condiciones necesarias de pH, conductividad eléctrica, capacidad
101 de campo y textura ([Merhaut & Newman, 2005](#)), para el óptimo desarrollo de las plantas. Sin embargo
102 no todos los sustratos presentan estas propiedades, es posible formular mezclas con otros materiales
103 que complementen los requerimientos deseados. Otro factor de tipo biológico que incide en la
104 estructura del suelo e induce el crecimiento de las plantas es la presencia de microorganismos
105 ([Malfanova, 2013](#)).

106 En este sentido evaluar el efecto fisicoquímico de algunos sustratos y la aplicación de un inóculo
107 comercial de microorganismos eficientes, en la aclimatación no convencional de las plantas, inducida
108 previamente al trasplante a invernadero, puede ser una opción exitosa en el campo de la biotecnología
109 vegetal. Se tiene la seguridad que las plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) y lulo (*Solanum*
110 *quitoense* Lam.) por tratarse de especies con un gran valor nutricional, despertar interés comercial
111 para el mercado de Colombia y responder favorablemente a la regeneración *in vitro*, se convierten en
112 modelo experimental de este estudio.

113 Por tanto simular un ambiente de aclimatación que ofrezca las condiciones biológicas, físicas y
114 químicas necesarias y semejantes al medio natural, permite establecer cultivos con mayor biomasa y
115 características fisiológicas con mayor resistencia a su adaptación en campo ([Koffi et al., 2015](#)).

116

117

118

119 **Materiales y métodos**

120 **Material vegetal**

121 En este estudio se emplearon plantas originadas de semillas certificadas de uchuva (*Physalis*
122 *peruviana* L.) procedentes de Cundinamarca - Colombia, con 70% de pureza, viabilidad de
123 germinación entre 65 - 80%, durante 20 a 25 días (Reg. ICA 2443. Lote 1772) y semillas de lulo
124 (*Solanum quitoense* Lam.) procedentes de Huila - Colombia, con 99% de pureza, viabilidad de
125 germinación entre 50 - 75% durante 30 a 35 días (Reg. ICA 2442. Lote 159), ([Semicol, 2015](#)).

126 La germinación se realizó con la técnica de cámara húmeda, las semillas fueron previamente
127 humidificadas durante 24 horas a temperatura ambiente, se sometieron a protocolo de desinfección
128 en la cámara de flujo laminar ([Yucesan, et al., 2015](#), [Kameswara et al., 2007](#)), y riego por inyección
129 (10mL de agua destilada) cada 3 días hasta la formación de brotes ([Kameswara et al., 2007](#)). Las
130 semillas de lulo por presentar dormancia fueron sometidas a punción de testa para asegurar su
131 germinación ([ISTA, 2005](#)).

132 **Sustratos**

133 Para la selección de los sustratos se tuvo en cuenta su disponibilidad, costo y uso en el país,
134 encontrándose entre los más empleados a) Turba: utilizada en invernadero, b) Suelo negro: sustrato
135 natural y de uso convencional en diversos cultivos, c) Cascarilla de arroz: desecho orgánico de la
136 industria arrocera de empleo frecuente en la agricultura y d) Piedra pómez: mineral de diversos usos
137 industriales y agrícolas ([Mora, 1999](#)). Los tratamientos seleccionados para el experimento fueron dos
138 controles: Turba (T) y Suelo negro (Sn) y tres mezclas: Suelo negro/Turba (Sn/T), Suelo
139 negro/Cascarilla de arroz (Sn/Ca) y Suelo negro/Piedra pómez (Sn/Pp).

140 Se determinaron las propiedades fisicoquímicas de cada uno de los sustratos: granulometría, pH,
141 conductividad eléctrica (CE), contenido de materia orgánica (MO), capacidad de intercambio
142 catiónico (CIC), macroelementos (Ca, Mg, K y Na) y microelementos (**Cu, Fe, Mn, Zn, B**), nitrógeno
143 y fósforo disponibles. Todos los análisis se hicieron en el laboratorio del Instituto Geográfico Agustín
144 Codazzi de Colombia ([IGAC, 2016](#)).

145 **Inóculo**

146 El riego se realizó con el inóculo comercial EM•1® (Higa, 1993), recomendado en el mercado como
147 un bioinsumo ([ICA. Res.698/2011-02-04](#)) de alta rotación en el campo de la agricultura, con registro
148 ICA No. 5480 y ficha técnica Código: E-GPR-06: V:1. La Tecnología EM•1® corresponde a un
149 cultivo de microorganismos eficientes, sin modificación genética, obtenidos de la naturaleza,
150 seleccionados por sus efectos positivos y su capacidad de coexistir, capaces de mejorar las
151 condiciones del sustrato y aliviar el estrés pos- *in vitro* de las plantas. Compuesto biológicamente por
152 una bacteria fototrófica: *Rhodopseudomonas palustris* (2.5 x 10⁶ UFC/ml), una bacteria ácido láctica:
153 *Lactobacillus casei* (1.0 x 10⁶ UFC/ml) y una levadura: *Saccharomyces cerevisiae* (2.0 x 10⁴
154 UFC/ml).

155 Para la aplicación del inóculo se realizaron dos diluciones de 10⁻¹ y 10⁻² la primera recomendada
156 por el productor para usos agrícolas y la segunda una alícuota de 100mL de la solución 10⁻¹, juntas
157 diluidas en una solución de H₂O y melaza hasta completar volumen de 1000mL. (NTC 5842/2011-
158 04-13) y riego aplicado por inyección de 10mL cada 8 días.

159 **Cultivo *in vitro***

160 Para la producción de material vegetal bajo condiciones *In vitro*, se aplicó la técnica de
161 micropropagación de acuerdo con la metodología descrita por [Pedroza, \(2008\)](#).

162

163 **Fase 0:** Selección de plantas madre. A partir de la germinación en cámara húmeda se seleccionaron
164 las plantas que presentaban raíz primaria y brote, se sometieron a protocolo de desinfección para la
165 siembra *in vitro* durante 45 días en condiciones controladas (temperatura: $24 \pm 1^\circ\text{C}$, humedad relativa:
166 60 - 70%, fotoperiodo: 16h luz - 8h oscuridad).

167 **Fase I:** Establecimiento del cultivo aséptico. El medio enriquecido sin suplementos hormonales
168 seleccionado por la respuesta positiva de regeneración de las plantas fue MS ([Murashige & Skoog,](#)
169 [1962](#)), se ajustó pH a 5.8, esterilizado en autoclave a 15 psi y 121°C durante 20 minutos ([Ramar et](#)
170 [al., 2014](#)).

171 **Fase II:** Micropropagación de plantas establecidas *in vitro*. Las plantas de uchuva y lulo a los 45 días,
172 fueron retiradas del cultivo *in vitro* en la cámara de flujo laminar para ser clonadas por medio de
173 segmentos nodales de 3cm de longitud que fueron sembrados en medio MS bajo condiciones
174 controladas, durante 21 días.

175 **Fase III:** Enraizamiento. Al cabo de los 21 días los segmentos nodales de las dos especies
176 presentaron regeneración de raíces y brotes, se retiraron del medio basal (MS) y se midieron las
177 variables de crecimiento (longitud en tallo, raíz principal, secundaria, pesos fresco y seco), se
178 evaluaron promedios de supervivencia y contenido hídrico.

179 **Fase IV:** Aclimatación. Se llevó a cabo en dos etapas, la primera en el cuarto de incubación durante
180 28 días, donde se tomaron 400 plantas de uchuva y 400 de lulo provenientes del enraizamiento (fase
181 III), se transfirieron individualmente a frascos de vidrio de 1000mL, previamente esterilizados, que
182 contenían los tratamientos (sustratos esterilizados/inóculos) y sus respectivas réplicas (n=80)
183 repartidas en dos diluciones del inóculo comercial EM: 10^{-1} (n=20), 10^{-2} (n=20) y dos controles:
184 H_2O (n=20) y melaza sin inóculo (n=20) (solución activadora de los microorganismos). Las unidades
185 experimentales fueron cubiertas con una lámina de aluminio, la fluctuación en la humedad relativa
186 se controló haciendo 2 orificios de 0.5cm cada 7 días sobre la lámina hasta el día 21 en el que fue
187 retirada totalmente ([Yucesan et al., 2015](#)).

188 Una vez finalizado este tiempo se midieron en las 20 plantas (n=20) de cada tratamiento las variables
189 de crecimiento evaluadas, más el índice de supervivencia y capacidad hídrica, para el peso seco total
190 se sacrificaron 10 de las plantas tomadas al azar.

191 En la segunda etapa de la aclimatación las plantas restantes fueron trasplantadas en bolsas negras de
192 polietileno de 40cm x 40cm, conservando los mismos tratamientos y trasladadas al invernadero en
193 condiciones controladas de temperatura entre $18 - 22^\circ\text{C}$, en el día y no mayor a los 16°C en la noche
194 y una humedad relativa de 35 - 45%. Durante 28 días las plantas completaron su ciclo de desarrollo y
195 se registraron los últimos datos representados en las variables de crecimiento, más el promedio de
196 supervivencia y capacidad hídrica.

197 **Análisis de datos**

198

199 **Parámetros evaluados**

200 Para determinar el efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de las plantas de uchuva y lulo
 201 obtenidas en la aclimatación, las variables evaluadas fueron representadas por:

202
 203 **Crecimiento:**

204 **-Longitud del tallo (LT) (cm):** medida desde la inserción de la base del tallo con las raíces hasta la
 205 yema apical. (Promedio plantas de uchuva y lulo 5 - 6cm).

206 **-Longitud de la raíz principal (LR₁) (cm):** medida desde su inserción de la base del tallo hasta la
 207 cofia (promedio plantas de uchuva y lulo 15 -30cm).

208 **-Longitud de la raíz secundaria (LR₂) (cm):** medida desde el punto de inserción en el tallo hasta la
 209 cofia (promedio plantas de uchuva y lulo 8 – 15cm).

210 **-Peso fresco (PF) (g):** medición total de la masa vegetal en balanza analítica (modelo SCALTEC spb
 211 54), (uchuva 82,70 ± 92,06% y lulo 75,25 ± 92,45%).

212 **-Peso seco (PS) (g):** secado a 70°C, durante 24 horas, (promedio uchuva 0.05 ± 0.10g. y lulo 0.07 –
 213 0.16g.).

214
 215 Los registros de los datos de estas variables de crecimiento para las dos especies (uchuva y lulo)
 216 presentaron dispersión y un número importante de valores atípicos, así mismo se logró identificar
 217 cierta asimetría en cada una de las variables, lo que corroboró el resultado encontrado al verificar que
 218 los supuestos de normalidad no se cumplieron. De acuerdo con los resultados anteriores, se realiza
 219 un análisis de comparaciones múltiples para verificar cuales tratamientos presentaron
 220 significancia (p≤0,05). Dado que el enfoque es no paramétrico, se realizan comparaciones para cada
 221 pareja de tratamientos con el procedimiento comparación de la media de los rangos” conocido como
 222 “Kruskal-Wallis– post-hoc tests after Nemenyi” (p≤0,05). Para el análisis estadístico se utilizó el
 223 programa computacional R (versión 3.3.1), para las pruebas no paramétricas sobre cada factor y
 224 variable, XLSTAT (versión 2014.5.03).

225
 226 Tabla 1. Análisis fisicoquímico de sustratos evaluados para la aclimatación de uchuva y lulo.
 227 Laboratorio de suelos ([IGAC. 2016](#)).

228

Sustratos	(%Granulometría)			Textura	%Capacidad Intercambio Catiónico	Saturación de Bases %	Materia Orgánica %	pH	CE (dS/m)
	Arena	Limo	Arcilla						
Suelo negro	63,5↑	28,8	7,7↓	Franco/arenosa	38.00↑	16,8↓	11,9↑	6,68 _N	0,68 _{Nr}
Piedra pómez	67,2↑	26,7	6,1↓	Franco/arenosa	10.30↓	36,2↑	0,20↓	6,65 _N	0,65 _{Nr}
Turba	NA	NA	NA	NA	106.00↑	78,3↑	38,6↑	6,2 _N	0,67 _{Nr}
Cascarilla de arroz	NA	NA	NA	NA	ND	ND	ND	6,3 _N	0,30 _{Nr}

229 ↑: Promedios altos, ↓: Promedios bajos, **N:** pH Neutro, **Nr:** Promedio normal, **NA:** No aplica,
 230 **ND:** No detectado

231 **Sn:** Suelo negro, **Pp:** Piedra pómez, **T:** Turba, **Ca:** Cascarilla de arroz. **A:** Arena, **L:** Limo, **A:** Arcilla **NA:** No aplica, **ND:** No
 232 detectado, **CIC:** Capacidad de intercambio catiónico, **SB:** Saturación de bases, **CO:** Contenido de materia orgánica, **pH:**
 233 Potencial de hidrógeno, **CE:** Conductividad electrica.

234

235 **Contenido hídrico**

236 Determinó la cantidad de agua que absorben las plantas con relación a la cantidad de agua que pudo
237 contener cada sustrato, fue expresado como porcentaje del peso fresco.

238

239 **Supervivencia**

240 Porcentaje de plantas que sobrevivieron al finalizar la aclimatación en el invernadero de las especies
241 vegetales uchuva y lulo. Todos los procedimientos descritos en el registro de los parámetros
242 evaluados se, efectuaron en el laboratorio de tejidos vegetales de la Pontificia Universidad Javeriana.

243

244 **Resultados y discusión**

245

246 La supervivencia de las plantas micropropagadas depende en gran medida de la aclimatación y la
247 toma de nutrientes quienes regulan el crecimiento y la producción de biomasa ([Barrales et al. 2015](#)).
248 Las características físicas y químicas de los suelos junto con las técnicas de riego del cultivo son
249 importantes para el establecimiento de las plantas y su posterior desarrollo. ([Liu et al. 2008](#)).

250

251 Para tal efecto el análisis físico-químico de los sustratos determinó las condiciones edáficas que
252 requirieron los cultivos de uchuva y lulo para su crecimiento las cuales fueron comparadas con los
253 En concordancia con ello se pudo deducir que los datos reflejaron diferencias que condicionaron el
254 empleo de estos materiales como sustratos, por tanto el suelo negro (Sn) y la piedra pómez (Pp) por
255 su textura franco-arenosa presentaron mayor absorción de agua y agilidad en el drenaje. El pH se
256 mantuvo constante en la mayoría de los sustratos a lo largo del experimento dentro de los rangos
257 óptimos reportados para estos cultivos por [Angulo, \(2003\)](#) y [Perea et al, \(2010\)](#), quienes indicaron
258 que tanto uchuva como lulo crecen en cultivos a campo abierto a pH de 5.5 – 6.5, evidenciándose que
259 esta fue una condición que no afectó el crecimiento y la supervivencia en plantas de uchuva y lulo.
260 La conductividad eléctrica si registro cambios en todos los sustratos a lo largo del tiempo de la
261 aclimatación con valores >2 según el rango optimo, lo que indicó que todos presentaron salinidad
262 media, excepto Suelo negro/Piedra pómez inoculado con 10^{-1} que presentó valores de salinidad
263 extrema (13,42 dS- mo1) que no afectaron las plantas, ya que este sustrato manifestó una
264 supervivencia del 95% en uchuva y 100% en lulo.

265 Estos hechos se les podrían atribuir a la acción de los microorganismos inoculados, pues provienen
266 de estar activados en una solución de melaza a pH 3.5 lo que indica que la acidez de Suelo
267 negro/Cascarilla no afecta su establecimiento ni densidad poblacional.

268 *Lactobacillus cassei* presente en el inóculo tiene como función remover sales de calcio y regular la
269 acidez del sustrato manteniendo el pH estable, por tanto lo que puede resultar como una debilidad
270 para el suelo y las plantas, puede ser una fortaleza para los microorganismos, quienes en últimas
271 proporcionan equilibrio al suelo y alivio para el estrés de las plantas ([Malfanova, 2013](#)).

272 La capacidad de intercambio catiónico y el contenido de materia orgánica junto a los valores de los
273 micro y los macroelementos, representaron en conjunto las condiciones nutricionales disponibles
274 para el crecimiento de las plantas y el establecimiento de los microorganismos. Tal es el caso de la
275 turba (T) y el suelo negro (Sn) que presentaron mayor interacción química en la capacidad de
276 intercambio catiónico (CIC), es determinante resaltar el contenido de materia orgánica (CO) presente

277 en cada sustrato, debido a que esta fracción es la que contribuye a retener eficazmente los elementos
 278 necesarios para la nutrición de las plantas. De tal manera que entre más CO mayor es la fertilidad y
 279 aportes de un sustrato al cultivo (Garrido, 1994).

280 De acuerdo a lo anterior la Turba con 38,60 % de CO, superó a Suelo negro con 11,90%, por tanto
 281 los contenidos de CIC y CO junto a los valores de los microelementos y macroelementos,
 282 representaron en conjunto las condiciones nutricionales disponibles para el crecimiento de las plantas
 283 y el establecimiento de los microorganismos. (Tablas 2 y 3).

284
 285 La tabla 2 registró la relación catiónica presente en cada sustrato concluyéndose que las relaciones
 286 conjuntas de Ca, Mg y K son deficientes (IGAC, 2016) ya que ningún sustrato se ubicó cerca al valor
 287 ideal por tanto la disponibilidad de los mismos para ser absorbidos por las plantas, presumiblemente,
 288 pudo haberse convertido en un problema nutricional.

289
 290 Tabla 2. Relaciones catiónicas entre el complejo de cambio (CIC) presente en los sustratos:

291 **T:** Turba, **Pp:** Piedra pómez y **Sn:** Suelo negro.

Relaciones (R)	Rango ideal	Sustratos (ppm)		
		Turba	Piedra pómez	Suelo negro
(R) Ca/Mg	2 -4	2.98	8↓Mg	1.37↓Mg
(R) Mg/K	3	6.39↓Mg	0.19↓Mg	0.84↓Mg
(R) Ca/K	6	19.06↓Ca	1.54↓Ca	1.16↓Ca
(R)(Ca+ Mg)/K	10	25.45↓	1.39↓	3.04↓

292 ↓: Deficiencia del catión indicado

293
 294 De acuerdo a la escala de valoraciones (Tabla 3) Suelo negro, Turba y Piedra pómez presentaron
 295 deficiencias y excesos en los contenidos de microelementos pues ninguno se encontró dentro de los
 296 rangos reportados, por ejemplo el Hierro (Fe) con 49,70ppm presente en Suelo negro y Manganeso
 297 (Mn) con 20,50ppm presente en Turba son elementos que se encuentran en exceso respecto a los
 298 rangos óptimos correspondientes entre 15 a 30ppm.

299
 300 Tabla 3. Niveles de microelementos y macroelementos presentes en los sustratos. Laboratorio
 301 de suelos (IGAC, 2016).

Sustratos	Microelementos (ppm)					Macroelementos (ppm)			
	Mn	Fe	Zn	Cu	B	S	P	N-NH ₄	N-NH ₃
Sn	4,6↓	49,8↑	0,95↓	0,09↓	0,71	49,7↑	10,7↓	43,4	17,0↓
Pp	0,47↓	2,7↓	1,00↓	0,10↓	0,36↓	132,0↑	ND	47,0	3,30↓
T	20,5	10↓	1,70↓	0,29↓	1,30↑	49,3↑	251,0↑	ND	ND
Ca	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

302 ↑: Alta concentración ↓: Baja concentración ND: No detectado

303
 304
 305 Lo anterior apunta a que una deficiencia de micronutrientes puede limitar el rendimiento y/o afectar
 306 la calidad de las plantas, ya que son sustancias claves en su crecimiento y por tanto no pueden ser

307 sustituidos por algún otro nutriente, las plantas los absorben en cantidades minúsculas por ende su
308 rango de provisión óptima es muy pequeño, si hay exceso pueden llegar a ser tóxicos para las plantas
309 ocasionando daños irreversibles en los cultivos (FAO, 2002).

310

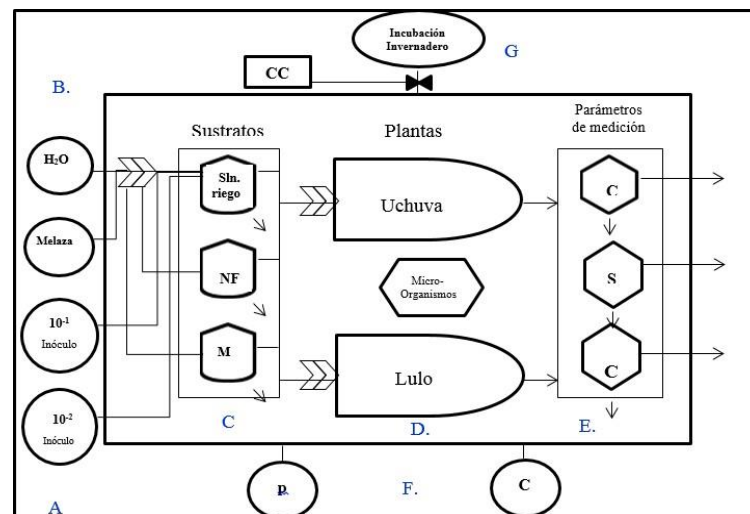
311 Como consecuencia de los resultados de los análisis anteriores para cada sustrato se formularon las
312 mezclas de Sn/T, Sn/Ca y Sn/Pp para equilibrar sus características físico químicas, Suelo negro fue
313 seleccionado como el sustrato control ya que respondió a todas las pruebas aplicadas y por ende ser
314 el sustrato natural por excelencia para cualquier especie vegetal y Turba por su utilización como
315 sustrato tradicional en invernadero.

316

317 **Aclimatación de las plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) y lulo (*Solanum quitoense* 318 **Lam.**)**

319 Luego de 21 semanas de establecimiento y aclimatación de las plantas de uchuva y lulo
320 micropropagadas sobre los tratamientos formulados (sustratos y solución de riego), se analizaron
321 todos los parámetros registrados que formaron en conjunto un agrosistema integrado por
322 componentes físicos, químicos y biológicos cuyas interacciones en cada una de las unidades
323 experimentales, expresaron cambios en el crecimiento y supervivencia para cada una de las especies
324 vegetales evaluadas (Figura 1.), lo que permitió entender que el desarrollo y las condiciones
325 requeridas son específicas para cada especie.

326



327

328 **Fig. 1.** Modelo Sistema de aclimatación, **A.** Unidad experimental **B.** Entrada de soluciones de riego **C.**
329 Sustratos (Solución de riego, **NF:** Nutrientes Fijos, **MO:** Materia Orgánica) **D.** Plantas de uchuva y/o lulo **E.**
330 Parámetros evaluados en las plantas (**C:** Crecimiento, **S:** Supervivencia, **B:** Capacidad hídrica), **F.** Monitoreo
331 de pH y Conductividad Eléctrica (CE) **G.** Condiciones controladas en la aclimatación.

332 Por tanto, los datos obtenidos durante el crecimiento en la etapa de invernadero fueron procesados
333 mediante el programa [R Core Team \(2017\)](#). A continuación se presentan los análisis estadísticos de
334 la etapa de invernadero, al respecto [Hazarika, \(2006\)](#) y [Wang et al. \(2016\)](#), señalaron que el éxito
335 de la micropropagación debe ser valorado en la última etapa cuando las plantas se encuentran en
336 invernadero, pues es aquí donde se les atribuye el resultado real de la supervivencia y de
337 crecimiento, atributos que se le confieren al desarrollo de la raíz de la cual depende en gran medida
338 la absorción de agua y nutrientes esenciales para los procesos fisiológicos y morfológicos ([Fig. 2 A](#)
339 [y B](#)).



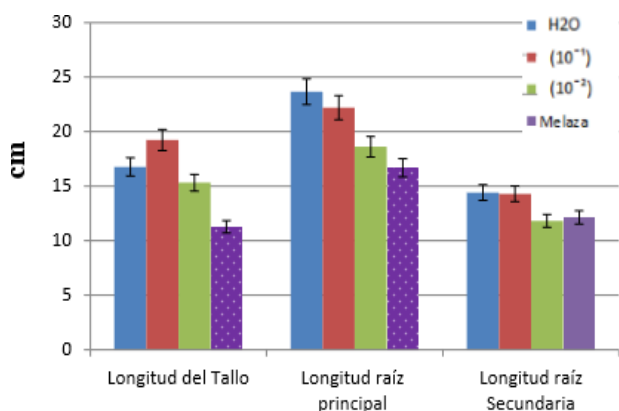
340 [Fig. 2A](#). Crecimiento de uchuva, durante 56 días en la fase de invernadero, bajo la formulación de los
341 tratamientos (Sustrato/inóculo).



342 [Fig. 2B](#). Crecimiento de lulo, durante 56 días en la fase de invernadero, bajo la formulación de los
343 tratamientos (Sustrato/inóculo).

344 Las gráficas de barras ilustran el comportamiento del crecimiento y la ganancia de biomasa de las
345 plantas de uchuva y lulo en su etapa final de aclimatación en el invernadero de acuerdo a las
346 comparaciones múltiples en cada tratamiento.

347 **Plantas de Uchuva (Figura 3).**



348 **Fig. 3A.** Crecimiento: tratamiento solución de riego

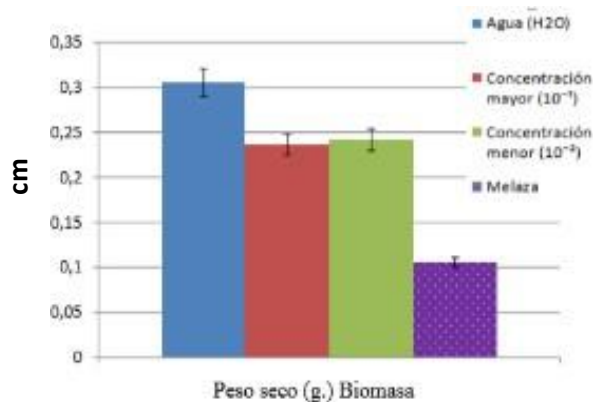
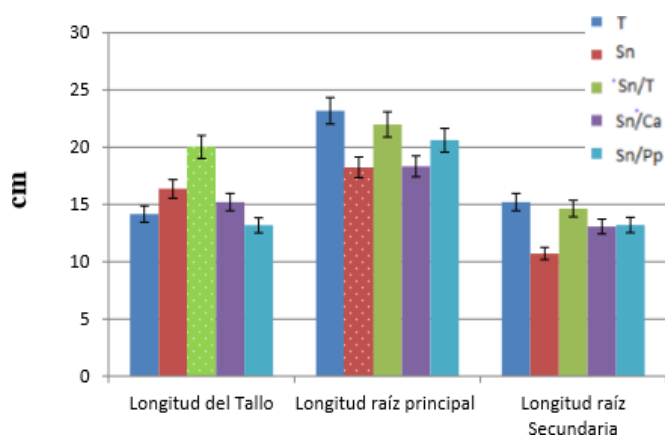


Fig. 3B. Incremento de biomasa: solución de riego



349 **Fig. 3C.** Crecimiento: tratamiento sustrato

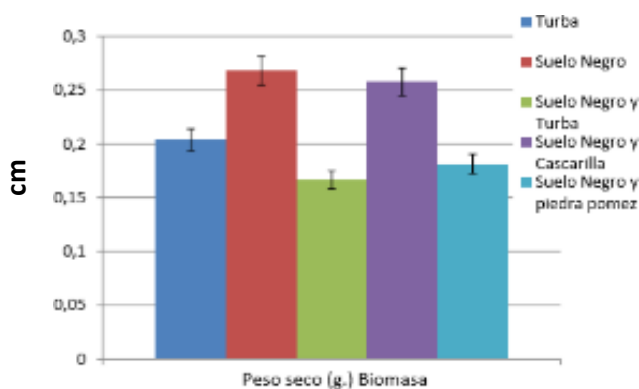


Fig. 3D. Incremento biomasa en sustrato

350 **Fig. 3.** Gráficos de barras etapa de aclimatación de *Physalis peruviana* L. (Uchuva), las columnas
 351 punteadas representan significancia ($p < 0.05$) respecto a los demás tratamientos incluido el control.

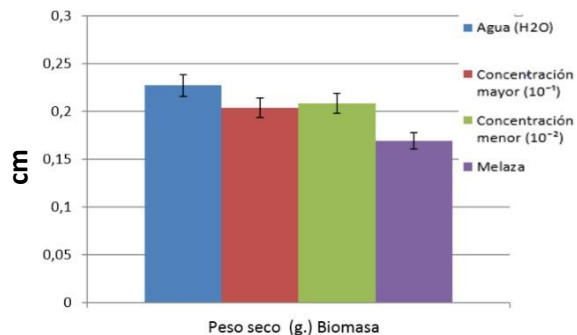
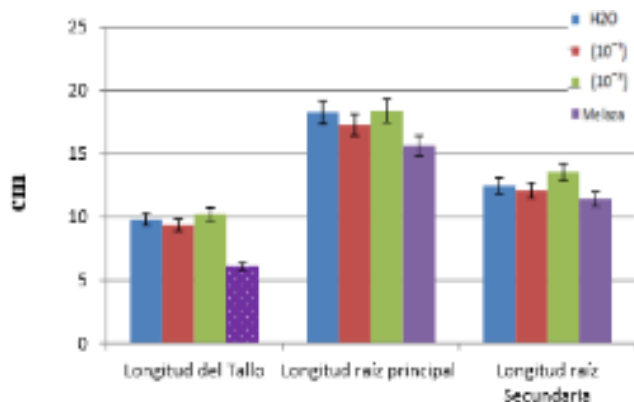
352 [Rodríguez et al., 2013](#) señalaron la importancia de guardar las mismas proporciones en cuanto a
 353 velocidad de crecimiento y relación entre el sistema radicular y sistema foliar en cultivos de alta
 354 calidad. Se observa que el tratamiento con melaza presentó la menor significancia en el aporte de
 355 biomasa en las plantas de uchuva y de acuerdo a los sustratos la Turba y la mezcla de Suelo negro/
 356 Piedra pómez presentaron los menores promedios en proporción de velocidad y crecimiento
 357 **Fig. 3A.**

358 Se deduce entonces que el incremento de biomasa en los tratamientos que cuentan con la presencia de
 359 microorganismos exhiben valores de crecimiento y de supervivencia más altos, lo que se pudo
 360 evidenciar en el sustrato de suelo negro (0.26g.) y la mezcla suelo negro/cascarilla de arroz (0.25g.),
 361 valores que se distanciaron respecto al control (turba) (0.20 g.) **Fig. 3B.**

362 En los análisis de los sustratos, el Suelo negro presentó el balance más completo de acuerdo a las
 363 propiedades físicas y químicas estudiadas: alta capacidad de intercambio catiónico (38%), alto
 364 contenido de materia orgánica de (11.9%), elevada capacidad de campo (45%) y presencia de todos
 365 los macro y microelementos necesarios aunque en bajas concentraciones, condiciones que se le
 366 pueden atribuir para el incremento de la biomasa de las plantas de uchuva.

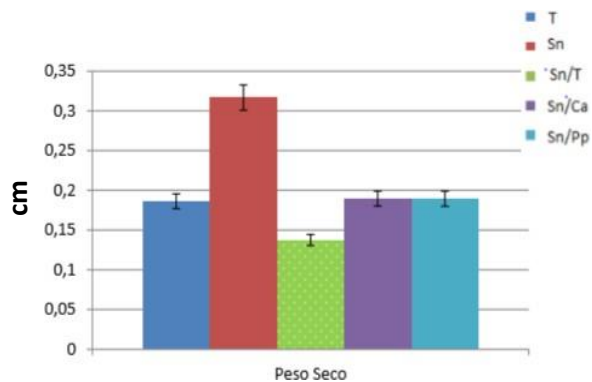
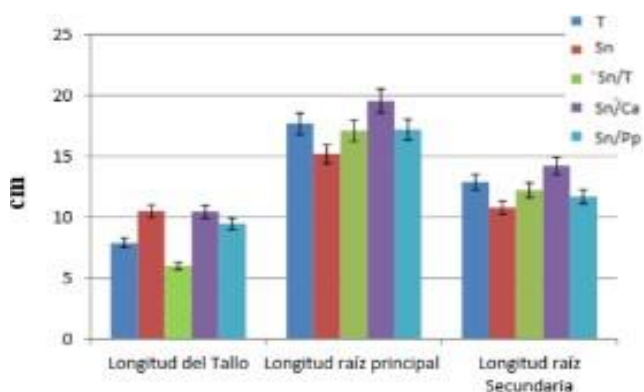
367 Plantas de lulo (Figura 4).

368



369 Fig. 4A. Crecimiento: tratamiento solución de riego

Fig. 4B. Incremento biomasa en solución de riego



370 Fig. 4C. Crecimiento en tratamiento sustrato

Fig. 4D. Incremento de biomasa en sustrato

371

372 De acuerdo a la figura 4 se encontraron diferencias significativas en la longitud del tallo en los dos
373 tratamientos de solución de riego y sustrato, para lulo, observándose que la longitud del tallo se vio
374 afectada con el tratamiento de melaza presentando el menor incremento de (6.09cm) en contraste con
375 el control (H₂O) que reportó un crecimiento de (9.81cm), en tanto que el mayor incremento se
376 observó en el tratamiento con el inóculo 10⁻² con un tallo de (10.21cm), el crecimiento de raíces
377 principales y secundarias en los demás tratamientos a excepción de la melaza presentaron crecimiento
378 uniforme fisiológicamente. De igual manera la producción de biomasa en plantas de lulo se vio
379 favorecida en el sustrato de suelo negro (0.31g.) por encima del control con H₂O (0.18g.) y un bajo
380 rendimiento en el sustrato de suelo negro con turba (0.13g.).

381

382 Las plantas de uchuva y lulo de acuerdo a los resultados anteriores presentaron crecimiento según los
383 tratamientos de riego y sustrato que les fueron favorables para tales efectos, para el logro de estos
384 rendimientos durante su aclimatación, también se vio la estrecha relación entre la capacidad hídrica
385 de las plantas (CH), con la capacidad de campo (CC), capacidad de intercambio catiónico (CIC),
386 cantidad de materia orgánica (MO) de los sustratos que contribuyeron con la formación de biomasa
387 de cada especie vegetal y por ende el establecimiento de los microorganismos. La tabla 4 muestra los
388 promedios de capacidad hídrica, es decir la capacidad que demostraron las plantas de uchuva y lulo
389 para absorber el agua disponible en los tratamientos de sustrato formulados para el experimento.

390 **Tabla 4.** Promedio de capacidad hídrica de plantas aclimatadas en la etapa de invernadero.

391 **4A. Plantas de uchuva**

Tratamiento	Suelo negro (*Media ± Es)	Suelo negro / Cascarilla (*Media ± Es)	Suelo negro / Piedra pómez (*Media ± Es)	Suelo negro / Turba (*Media ± Es)	Turba (*Media ± Es)	Total general Media
10 ⁻¹	86,51 ± 23,63	59,63 ± 28,79	88,95 ± 3,45	91,49 ± 2,13	76,88 ± 28,59	80,96± 22,81
10 ⁻²	85,65 ± 14,00	92,21 ± 1,97	87,52 ± 7,43	93,28 ± 4,00	82,20 ± 27,00	88,47± 13,32
H2O	73,88 ± 18,80	92,32 ± 2,03	88,83 ± 4,14	91,39 ± 2,86	91,63 ± 2,61	85,62±13,08
Melaza	90,87 ± 1,51	90,18 ± 2,24	91,47 ± 0,79	91,52 ± 1,22	92,84 ± 1,38	91,51±1,64
Total general Media	83,64 ± 17,99	82,69 ± 20,78	89,22 ± 4,41	92,06 ± 2,73	87,86 ± 16,71	86,71 ± 15,10

392

393 **4B. Plantas de lulo**

Tratamiento	Suelo negro (*Media ± Es)	Suelo negro / Cascarilla (*Media ± Es)	Suelo negro / Piedra pómez (*Media ± Es)	Suelo negro / Turba (*Media ± Es)	Turba (*Media ± Es)	Total general Media
10 ⁻¹	70,04 ± 22,64	92,25 ± 0,57	92,68 ± 1,04	90,78 ± 6,62	92,53 ± 0,70	87,78 ± 13,25
10 ⁻²	67,26 ± 23,79	93,53 ± 1,37	93,48 ± 2,01	76,89 ± 28,68	91,60 ± 0,77	85,50 ± 18,40
H2O	59,45 ± 35,15	92,23 ± 1,48	92,86 ± 0,73	93,04 ± 1,06	92,11 ± 1,34	87,63 ± 17,44
Melaza	93,01 ± 0,81	81,02 ± 11,11	80,70 ± 7,84	79,71 ± 12,38	93,56 ± 1,19	85,98 ± 10,00
Total general Media	75,24 ± 24,94	89,79 ± 7,35	89,86±6,76	85,45 ± 16,24	92,45 ± 1,26	86,73 ± 14,91

394

395 Lo anterior apunta que los mayores aportes en el crecimiento de las plantas de uchuva se registraron
 396 en el sustrato de suelo negro/turba y en el inoculo 10⁻¹ y en plantas de lulo los mayores incrementos
 397 en el crecimiento se evidenciaron en el sustrato suelo negro/cascarilla de arroz y en el inóculo 10⁻²,
 398 lo que se vio reflejado en los porcentajes de capacidad hídrica que en uchuva fue de 91.49% y en lulo
 399 de 93.53% de acuerdo con [Chantal et al. 2015](#), simular a la plantas las condiciones edáficas necesarias
 400 y semejantes a su medio natural durante la aclimatación, permite establecer cultivos con mayor
 401 biomasa y características fisiológicas con mayor resistencia a su fase de aclimatación.

402 El porcentaje de supervivencia en la aclimatación de las plantas solo se evaluó en la etapa final de
 403 invernadero en donde se pudo determinar que en promedio general la especie de uchuva sobrevivió
 404 un 85,25%, destacándose el 95% de las plantas de uchuva que sobrevivieron exitosamente en el
 405 tratamiento Sn/Pp inoculado con 10⁻¹, lo que refleja que la textura porosa de la piedra pómez ofrece
 406 aireación y buen drenaje y por ende garantiza la estabilidad de los microorganismos en el medio.

407 Por lo tanto esto se puede relacionar con lo explica [Fischer y Miranda, \(2012\)](#) que la uchuva presenta
 408 un crecimiento indeterminado por lo que requiere suministros de agua constante, dosificada, que no
 409 cause encharcamiento y una profundidad adecuada en la fracción del suelo que garantice la
 410 penetración y crecimiento radicular, al contrario la Turba (%40) y la mezcla de Suelo negro/Turba
 411 (75%), presentaron leve encharcamiento y compactación que ocasionó disminución en el volumen de
 412 estos sustratos y por ende disminución en los porcentajes de supervivencia.

413

414 Para el caso de la supervivencia de las plantas de lulo se observa en general un promedio alto de

415 96,25% en todos los tratamientos, cabe anotar que el tratamiento de Turba inoculado con 10^{-2} es el
 416 único que presentó una tasa del 75%, inferior a la del total general, que indicó el mismo efecto
 417 negativo que demostraron las plantas de uchuva, Tabla 5.
 418

419 **Tabla 5.** Porcentajes de supervivencia de las plantas de **A.** uchuva y **B.** lulo al final de la aclimatación
 420 en la fase de invernadero.

Tratamientos	% Uchuva					Total
	T	Sn	Sn/T	Sn/Ca	Sn/Pp	
H2O	60	95	75	95	100	85
(10^{-1})	80	95	75	100	95	89
(10^{-2})	40	90	80	80	85	75
Melaza	100	80	75	60	85	80
Total	70	90	76,25	83,75	91,25	82,25

421 **A.** Plantas de uchuva

Tratamientos	% Lulo					Total
	T	Sn	Sn/T	Sn/Ca	Sn/Pp	
H2O	100	95	85	95	100	95
(10^{-1})	100	95	100	95	100	98
(10^{-2})	75	95	100	100	90	92
Melaza	100	100	100	100	100	100
Total	93,75	96,25	96,25	97,5	97,5	96,25

423 **B.** Plantas de lulo

424
 425 En consideración con esto la influencia de los microorganismos sobre el crecimiento de las plantas
 426 se le atribuye a las especies con el tratamiento de inóculo, estudios indican que los géneros de las
 427 bacterias *Bacillus* ([Deng et al. 2011](#)) y *Pseudomonas* ([Taghavi et al. 2009](#)) son clasificados como
 428 endófitos, característica que las hace ser muy abundantes en el suelo ([Hallmann & Berg. 2006](#)).
 429 *Saccharomyces cerevisiae* interviene con la degradación de la materia orgánica capaz por ende de
 430 suministrar oxígeno a todo el sistema involucrado.

431 Por lo tanto el trabajo sincronizado de este consorcio comparado con los aportes de los controles H₂O
 432 y melaza, se convierte en una combinación de mecanismos que mejoran la función y estructura de los
 433 sustratos. [Lugtenberg et al. 2009](#), aciertan en explicar que su colonización al interior de la planta la
 434 inician en la rizosfera, actividad que mejora las condiciones de los sustratos, para luego adherirse al
 435 rizoplano y posteriormente hacer la penetración a la raíz, lo que influye positivamente en la absorción
 436 de nutrientes que incide en el crecimiento y desarrollo de sus plantas hospederas. Además de ello al
 437 entrar en contacto con las raíces desencadenan en toda la planta una cascada de respuestas hormonales
 438 que conllevan a la resistencia de diferentes tensiones o estrés ([Berg 2009, Hardoim et al. 2008](#)).

439
 440 Algunos estudios demuestran los beneficios de los microorganismos sobre las especies vegetales,
 441 [Sevilla et al. \(2001\)](#) reportaron aumento en la biomasa de la caña de azúcar por efecto de

442 *Gluconacetobacter diazotrophicus*, [Long et al., \(2008\)](#) demostró la reducción de etileno producido
443 por las plantas a partir de la intervención de *Pseudomonas*, [Melnick et al. \(2008\)](#) evaluó la capacidad
444 de *Bacillus* como colonizadores de Cacao y reductores de la pudrición causada por *Phytophthora*
445 *capsici*.

446 Lo anterior determina que las respuestas pos- *In vitro* de las especies modelo de este estudio uchuva
447 y lulo son inducidas por la actividad biológica de los microorganismos del inóculo, sumándole la
448 acción de los sustratos que determinan las condiciones edáficas y naturales requeridas para cada
449 especie según [Fischer & Miranda \(2012\)](#), uchuva crece óptimamente en un cultivo agrícola en suelo
450 franco-arenoso, con pH 5.8 – 6.5, adecuado balance nutricional y de materia orgánica, por tanto el
451 lulo guarda similitudes morfofisiológicas muy cercanas que le permiten desarrollarse en las mismas
452 condiciones y agrosistemas para su desarrollo.

453

454 **Conclusiones**

455 Se encontró una relación directa entre el crecimiento de las plantas de uchuva y lulo con la acción
456 conjunta de los microorganismos y los sustratos, de acuerdo a lo observado en los parámetros
457 evaluados como longitud de tallo, longitud de raíz principal y longitud de raíz secundaria. Por lo tanto,
458 se determinó que la aplicación del inóculo comercial EM (Microorganismos Eficientes) en diluciones
459 10^{-1} y 10^{-2} alcanzó los promedios más constantes en cuanto a la formación de biomasa y en el
460 crecimiento uniforme en las plantas de uchuva y lulo respectivamente.

461 Se comprobó que los sustratos inoculados inducen respuestas en la absorción hídrica de las plantas,
462 representada en los mayores porcentajes de pesos fresco y seco, dicha condición depende
463 directamente del sustrato donde se establezcan los microorganismos y los exudados del cultivo vegetal,
464 hecho que se puede explicar con una capacidad hídrica del 91.52% en plantas de uchuva sobre Suelo
465 negro/ turba y de 93.56% en plantas de lulo sobre Turba, sustratos que por su naturaleza almacenan
466 altos niveles de humedad.

467 De acuerdo a lo anterior, se determinó que el sustrato de uso convencional Turba a pesar que registró
468 los mayores promedios de absorción de agua de las plantas a la vez presentó los menores promedios
469 de supervivencia de 40% en plantas de uchuva y 75% en plantas de lulo, debido a que no todas las
470 plantas soportaron el estrés por humedad producto de este sustrato.

471 Los aspectos fisicoquímicos que presentaron alteraciones en los sustratos fueron en términos
472 generales la conductividad eléctrica y las bajas concentraciones en microelementos, afección que se
473 equilibró gracias a la actividad biológica de los microorganismos.

474

475 Los experimentos con el control de agua, manifestaron valores cercanos a la dilución del inóculo
476 10^{-1} expresados en las variables de crecimiento, la capacidad hídrica y la supervivencia de las plantas,
477 el control con melaza no tubo impacto fisiológico sobre las plantas, al contrario presentó
478 contaminación y por ende bajos promedios en la supervivencia de uchuva y lulo.

479

480 De acuerdo a todos los resultados evaluados y teniendo en cuenta cuales tratamientos fueron los que
481 evidenciaron plantas con un crecimiento directamente proporcional entre filósfera y rizósfera,
482 ganancia constante en su formación de biomasa y por ende altos valores en la supervivencia, se
483 recomiendan en conjunto para las plantas de **uchuva** los tratamientos de **Suelo negro inoculados**

484 con la **dilución 10⁻¹** y **Suelo negro/Cascarilla de arroz** inoculados con la **dilución 10⁻¹** y para las
485 plantas de **lulo** los tratamientos de **Suelo negro** inoculados con la **dilución 10⁻²** y **Suelo**
486 **negro/Cascarilla de arroz** inoculados con la **dilución 10⁻²**.

487 Los experimentos evaluados sobre dos especies vegetales (uchuva y lulo) determinan que no existe
488 un protocolo de aclimatación estandarizado que atienda las necesidades de todas las plantas, dado
489 que cada especie guarda diferencias morfofisiológicas, por tanto requieren condiciones diferentes
490 para su desarrollo.

491

492 **Recomendaciones**

493 Se sugiere hacer mezclas de 3 o más sustratos en relaciones diferentes de 1:2:1, 1:2:2... en donde los
494 materiales de origen vegetal se encuentren en menor proporción, ya que estos presentan elevados
495 niveles de humedad constante de igual manera la dosis de riego se debe evaluar previamente de
496 acuerdo a la capacidad de campo de la combinación de los sustratos y del tiempo de drenaje y
497 evaporación de la misma.

498 Es fundamental aplicar pruebas de tejido vegetal a las plantas al final de la aclimatación ya que se
499 hace indispensable conocer los aportes nutricionales de los sustratos y por ende la acción de los
500 microorganismos que complementado con los análisis fisicoquímicos de los sustratos se puede evaluar
501 en conjunto los beneficios del agrosistema.

502 Es importante evaluar el inóculo utilizado en este estudio a nivel de campo y determinar sus aportes
503 en el crecimiento y productividad de las plantas de uchuva y lulo procedentes de la micropropagación.
504 Con el fin de optimizar la implementación de inoculantes en la fase de aclimatación de las plantas
505 producidas *In vitro* es preciso realizar este mismo ensayo empleando variedad de especies y otras
506 formulaciones diferentes de microorganismos promotores de crecimiento vegetal.

507 Se requiere plantear sistemas agrícolas de aclimatación que permitan con antelación realizar pruebas
508 con el fin predecir las condiciones y los componentes físicos, químicos y biológicos aptos para el
509 crecimiento y supervivencia de acuerdo a las especies de interés.

510

511 **Agradecimientos**

512 Agradezco la asistencia de la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ) de Colombia - Bogotá, Sandra
513 Constantino Directora Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales (PUJ), directivas del laboratorio del
514 Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC), Asociación Colombiana para el Avance de la Ciencia
515 (ACAC), Fundación Minuto de Dios (FUNDASES).

516 **Conflictos de intereses**

517 Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

518

519 **Referencias**

520 Adelberg J, Naylor-Adelberg J, Rapaka V (2015) A novel rooting matrix and vessel system resulted in
521 larger plants and faster growth during greenhouse acclimatization of *Hydrangea quercifolia* ‘Sikes
522 Dwarf’, *Propag Ornament Plants* 15:89–94

- 523 Adelberg JW, Driesse T, Halloran S, Bridges W (2013) Relation ships between nutrients and plant
524 density in liquid media during micropropagation and acclimatization of turmeric. *In Vitro Cell Dev*
525 *Biol Plant* 49:724–736
- 526 Agronet. (2014). Base de datos de cifras agropecuarias en Colombia. Recuperado el 2016,
527 <http://www.agronet.gov.co/Paginas/default.aspx>.
- 528 Angulo Carmona , R. (2003). Frutales exóticos de clima frío. Bogotá, Colombia: Scielo. Bayer
529 CropSciencie S.A. 136- 145
- 530 Barrales A, Robledo A, Trejo C, Espitia E, Rodríguez J (2015) Improved *In vitro* rooting and
531 acclimatization of *Capsicum chinense* Jacq. Plantlets *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant* (2015)
532 51:274–283 doi: 10.1007/s11627-015-9671-3
- 533 Berg G (2009) Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for
534 controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotech.* 84: 11-18
- 535 Çakmak D, Karaoğlu C, Aasim M, Sancak C, Özcan S (2016) Advancement in protocol for in vitro
536 seed germination, regeneration, bulblet maturation, and acclimatization of *Fritillaria pèrsica*
537 Turkish, *Journal of Biology Turk J Biol* (2016) 40: 878-888c Tubitak doi:10.3906/biy-1510-18
- 538 Chantal K, Declerck S (2015) *In vitro* mycorrhization of banana (*Musa acuminata*) plantlets. improves
539 their growth during acclimatization *In Vitro Cell Dev Biol—Plant* 51:265–273 doi:
540 10.1007/s11627-015-9666-0
- 541 Deng Y, Zhu Y, Wang P, Zhu L, Zheng J, Li R, Ruan L, Peng D, Sun M (2011) Complete genome
542 sequence of *Bacillus subtilis* BSn5, an endophytic bacterium of *Amorphophallus konjac* with
543 antimicrobial activity for the plant pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *J. Bacteriol.*
544 193: 2070-2071
- 545 Fischer G, Miranda D (2012) Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Bogotá: Colombia
546 pp851-873
- 547 FAO. (2002). Los fertilizantes y su uso. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y
548 la Agricultura . Roma: Asociacion Internacional de la industria de los Fertilizantes (IFA), 1-7
- 549 Garrido, M. (1994). Interpretaciones análisis de suelos (Vol. 5). (I. N. Agrario, Ed.) Madrid, España.
- 550 Hallmann J, Berg G (2006) Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In:
551 *Microbial root endophytes* Schulz B Boyle C Sieber T eds. Springer, Heidelberg pp 15– 31
- 552 Hardoim P, Overbeek V, Elsas J (2008) Properties of bacterial endophytes and their proposed role in
553 plant growth *Trends Microbiol* 16: 463-471
- 554 Hawaz R, Park D, William C, Bridges Adelberg J (2016) Optimizing *In vitro* mineral nutrition and
555 plant density increases greenhouse growth of *Curcuma longa* L. during acclimatization *Plant Cell*
556 *Tiss Organ Cult* (2016) 126:33– 42 doi: 10.1007/s11240-016-0974-9
- 557 Hazarika, B 2006. Morpho-physiological disorders in *In vitro* culture of plants *Sci Hortic.* 108, 105–
558 120, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.038>.

- 559 Higa T (1993) An Earth Saving Revolution Tecnología prebiótica Microorganismos benéficos EM
560 Okinawa, Japan pp 335
- 561 Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. (2011). Manejo Fitosanitario del Manejo del lulo *Solanum*
562 *quitoense* Lam. Bogotá, Colombia : Produmedios. 5-6.
- 563 Instituto Geográfico Agustín Codazzi. IGAC. (2006). Métodos analíticos del laboratorio de suelos. (I.
564 G. Codazzi, Ed.) Bogotá, Colombia, 648.
- 565 Instituto Geográfico Agustín Codazzi-IGAC. (2016). Informe y resultados fisicoquímico de suelo.
566 Gestión agrícola, Colombia, Bogotá.
- 567 International Rules for Seed Testing-ISTA. (2005). (I. S. Association, Editor) Recuperado el
568 2016, de www.seedtest.org/en/seed-health-methods_content---1--_1452.html.
- 569 Kameswara, N., Hanson, J., Ehsan , M., Ghosh, K., Nowell , D., & Larinde, M. (2007). Manual para
570 el manejo de semillas en bancos de germoplasma. (B. International, Ed.) Roma, Italia. Vol. 8.
- 571 Koffi , M., & Declerck, S. (2015). In vitro mycorrhization of banana (*Musa acuminata*) plantlets. (T.
572 S. Biology, Ed.) In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant(51), 265–273.
- 573 Long H, Schmidt D, Baldwin T (2008) Native bacterial endophytes promote host growth in a species-
574 specific manner phytohormone manipulations do not result in common growth responses. PloS One
575 3: e2702
- 576 Liu K, Yang Q (2008) Integration of mycorrhization and photoautotrophic micropropagation in vitro:
577 feasibility analysis for mass production of mycorrhizal transplants and inoculants of arbuscular
578 mycorrhizal fungi. Plant Cell Tissue Organ Cult 95: 131–139
- 579 Lugtenberg B, Kamilova F (2009) Plant-growth-promoting- rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol vol
580 63 pp 541–556
- 581 Malfanova N (2013) Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities. Leiden
582 University dissertation. Staraya Russa.
- 583 Melnick R, Zidack N, Bailey B, Maximova S, Gultinan M, Backman P (2008) Bacterial endophytes:
584 *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao.
585 Biol. Control 46: 46-56
- 586 Merhaut D, Newman J (2005) Effects of substrate type on plant growth and nitrate leaching in cut
587 flower production of *oriental Lily* University of California – Riverside Hortscience 40 (7): 2135 –
588 2137
- 589 Mora, L. (1999). Sustratos para cultivos sin suelos o hidroponia. En INDAGRO (Ed.), XI Congreso
590 Nacional Agronómico.III Congreso Nacional de Suelos, (págs. 95- 100). San Jose. Costa Rica
- 591 Murashige T, and Skoog F 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco
592 tissue cultures Physiol Plant.15 (3):473-497
- 593 NTC. (2011). Norma Técnica Colombiana.(5842/2011-04-13). Bioinsumos para uso agrícola.
594 Inoculantes Biológicos. (ICONTEC, Ed.) Bogotá, Colombia.

595 Pedroza J (2008) Aplicaciones de Cultivo de tejidos vegetales en condiciones *In vitro*,
596 <http://books.google.com.co/>. Centro de investigaciones y Desarrollo Científico Universidad
597 Distrital Bogota, Colombia pp: 11- 267

598 Perea M, Matallana L, Tirado A (2010) Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de
599 frutas tropicales Universidad Nacional. Bogotá, Colombia. Facultad de Ciencias pp 466 – 509

600 R Core Team. 2017. R: language and environment for statistical computing. R Foundation for
601 Statistical Computing. Viena. URL: <http://www.R-project.org/>.

602 Ramar , K., Ayyadurai , V., & Arulprakash , T. (2014). In Vitro Shoot Multiplication and Plant
603 Regeneration of *Physalis peruviana* L. An Important Medicinal Plant. International journal of
604 Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3), 456-464

605 Semicol S.A. (2015) Semilla seleccionada/ Variedad Uchuva (*Physalis peruviana*) Reg. ICA 2443.
606 Lote 1772 No. semillas/ Kg 33396

607 Sevilla M, Burris R, Gunapala N, Kennedy C (2001) Comparison of benefit to sugarcane plant growth
608 and ¹⁵N₂ incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus*
609 wild-type and *nif* mutant strains. Mol. Plant- Microbe Interact 14: 358–366

610 Taghavi S, Garafola C, Monchy S, Newman L, Hoffman A, Weyens N, Barac T, Vangronsveld J, van
611 der Lelie D (2009) Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a
612 beneficial effect on growth and development of poplar trees. Appl. Environ. Microbiol. 75: 748-
613 757

614 Wang Z, Xie J, Li Y (2016) Safety-efficiency trade- offs in the cotton xylem: acclimatization to
615 different soil textures Journal of Arid Land doi 10.1007/s40333-016-0003- 1.

616 Yücesan B, Mohammed A, Arslan M, Gürel E (2015) Clonal propagation and synthetic seed
617 production from nodal segments of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.), a tropical fruit plant
618 Turkish Journal of Agriculture and Forestry Turk J Agric For 39: © TÜBİTAK doi:10.3906/tar-
619 1412-86

620

621

622

