



Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

**Introducción y establecimiento *in vitro* de jengibre (*Zingiber officinale*) a partir
de yemas de rizoma**

Tesis presentada por:

Vasquez Ybarcena, Michell Maryellyn

ORCID: 0000-0002-2689-7659

para optar el Título Profesional de Ingeniera Biotecnóloga

Asesor:

Mtro. Johnson Corrales, Fabrizio

ORCID: 0000-0002-5942-3177

Arequipa – Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 04 de Febrero del 2026

Dictamen: 015051-C-EPIB-2026

Visto el borrador del expediente 015051, presentado por:

2019101332 - VASQUEZ YBARCENA MICHELL MARYELLYN

Titulado:

**INTRODUCCIÓN Y ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE JENGIBRE (ZINGIBER OFFICINALE) A
PARTIR DE YEMAS DE RIZOMA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO BIOTECNOLOGO

**29520165 - TORRES VELA FERNANDO ANTERO
DICTAMINADOR**



**42098888 - CORDOVA BARRIOS CINTHIA CAROL
DICTAMINADOR**



**47604629 - TEJADA MEZA KEVIN
DICTAMINADOR**



INTRODUCCIÓN Y ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE JENGIBRE (ZINGIBER OFFICINALE) A PARTIR DE YEMAS DE RIZOMA

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Católica de Santa
María

Trabajo del estudiante

1%

2

www.coursehero.com

Fuente de Internet

1%

3

repositorio.lamolina.edu.pe

Fuente de Internet

<1%

4

core.ac.uk

Fuente de Internet

<1%

5

es.scribd.com

Fuente de Internet

<1%

6

hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1%

7

www.actaodontologica.com

Fuente de Internet

<1%

8

eprints.uanl.mx

Fuente de Internet

<1%

9

repositorio.uam.es

Fuente de Internet

<1%

10

issuu.com

Fuente de Internet

<1%

11

revista.ibp.co.cu

Fuente de Internet

<1%

12

Submitted to Universidad Nacional Agraria La
Molina

Trabajo del estudiante

<1%

13

repositorio.upse.edu.ec

Fuente de Internet

<1%

14

worldwidescience.org

Fuente de Internet

<1%

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi guía y protector a lo largo de este camino.

A mis padres y a mi hermana, por su apoyo incondicional y constante aliento.

Al Mgter. Fabrizio Johnson y a la Ing. María Rivas, por brindarme la valiosa oportunidad de desarrollar mi tesis bajo su orientación.

A la empresa BONIPLANT, por permitirme realizar esta investigación en sus instalaciones, y de manera especial a Sara, Estefani y Cristina, por sus consejos y apoyo durante el proceso.



RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo introducir y establecer *in vitro* *Zingiber officinale* (jengibre o kion) a partir de yemas de rizoma, evaluando el efecto de distintos tratamientos de desinfestación en la reducción de contaminación y fenolización, con el fin de obtener explantes asépticos. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con una estructura factorial de $2^3 \times 3$, considerando cuatro factores: 1-(butilcarbamoil)benzimidazol-2-ilcarbamato de metilo (Benomilo), *Plant Preservative Mixture* (PPM), polivinilpirrolidona (PVP) y diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio (NaClO: 1%, 1,5%, y 2%), lo que dio lugar a un total de 24 tratamientos.

Las variables evaluadas incluyeron el porcentaje de explantes asépticos, sobrevivientes, oxidados y necrosados, registradas semanalmente durante un periodo de cuatro semanas. Los resultados mostraron que el uso de Benomilo incrementó significativamente la asepsia de 46,94% a 59,72% y la sobrevivencia de 12,50% a 31,11%. La concentración de NaClO al 2% alcanzó el mayor porcentaje de asepsia (78,33%); no obstante, su efecto fitotóxico redujo la sobrevivencia a 24,13%. Asimismo, la adición de PPM al medio de cultivo mejoró la asepsia de 46,39% a 60,28% y la sobrevivencia de 12,78% a 30,83%. El PVP no presentó un efecto significativo sobre la oxidación fenólica; sin embargo, contribuyó a mejorar la sobrevivencia de los explantes (26,94%) en comparación con aquellos sin su adición (16,67%).

El Tratamiento 2, que combinó los cuatro factores evaluados (Benomilo, PPM, PVP y NaClO al 1,5%), mostró el mejor desempeño en términos generales, alcanzando un 76,67% de asepsia, 60,00% de sobrevivencia y 33,33% de necrosis. Estos resultados evidencian que los compuestos evaluados en el presente estudio podrían considerarse, en conjunto, como componentes potenciales en el diseño de futuros protocolos de introducción y establecimiento *in vitro* de yemas de *Zingiber officinale*, al favorecer condiciones adecuadas de asepsia y desempeño fisiológico del explante.

Palabras clave: Desinfestación, establecimiento *in vitro*, *Zingiber officinale*.

ABSTRACT

The present study aimed to introduce and establish *in vitro* *Zingiber officinale* (ginger) from rhizome buds by evaluating the effect of different disinfestation treatments on the reduction of contamination and phenolic oxidation, in order to obtain aseptic and viable explants. A completely randomized design with a $2^3 \times 3$ factorial structure was employed, considering four factors: 1-(butylcarbamoil)benzimidazol-2-yl methylcarbamate (Benomyl), Plant Preservative Mixture (PPM), polyvinylpyrrolidone (PVP), and varying concentrations of sodium hypochlorite (NaClO: 1 %, 1,5 %, and 2 %), resulting in a total of 24 treatments.

The evaluated variables included the percentage of aseptic, surviving, oxidized, and necrotic explants, recorded weekly over a four-week period. The results showed that the use of Benomyl significantly increased asepsis from 46,94% to 59,72% and survival from 12,50% to 31,11%. The 2% NaClO concentration achieved the highest asepsis rate (78,33%); however, its phytotoxic effect reduced survival to 24,13 %. Likewise, the addition of PPM to the culture medium improved asepsis from 46,39% to 60,28% and survival from 12,78% to 30,83%. PVP did not exhibit a significant effect on phenolic oxidation; nevertheless, it contributed to an increase in explant survival (26,94%) compared with treatments without its addition (16,67%).

Treatment 2, which combined all four evaluated factors (Benomyl, PPM, PVP, and 1,5% NaClO), proved to be the most effective overall, achieving 76,67% asepsis, 60,00% survival, and 33,33% necrosis. These results demonstrate that the compounds evaluated in the present study could be jointly considered as potential components in the design of future protocols for the *in vitro* introduction and establishment of *Zingiber officinale* buds, as they promote adequate aseptic conditions and favorable physiological performance of the explants.

Keywords: Disinfestation, *in vitro* establishment, *Zingiber officinale*.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	2
OBJETIVOS	3
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
TABLA DE VARIABLES E INDICADORES	4
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	5
1.1. Jengibre.....	5
1.1.1. Clasificación taxonómica	5
1.1.2. Origen y distribución	5
1.1.3. Características botánicas	6
1.1.4. Composición nutricional y fitoquímica.....	8
1.1.5. Propiedades medicinales	8
1.2. Cultivo de jengibre	9
1.2.1. Importancia económica	9
1.2.2. Propagación vegetativa mediante rizomas.....	9
1.2.3. Plagas y enfermedades	10
1.3. Micropropagación.....	13
1.3.1. Cultivo in vitro de yemas vegetativas	13
1.3.2. Fases de la micropropagación	13
1.3.3. Medio de cultivo	14
1.3.4. Métodos de esterilización	15
1.3.5. Condiciones ambientales de incubación	16
1.3.6. Problemas en el cultivo in vitro.....	17
1.3.7. Ventajas de la micropropagación	20
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	24

2.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	24
2.2.	MATERIALES	24
2.2.1.	Material vegetal.....	24
2.2.2.	Insumos y reactivos químicos	24
2.2.3.	Material de vidrio.....	25
2.2.4.	Aparatos y equipos	25
2.2.5.	Software	25
2.2.6.	Otros	25
2.3.	MÉTODOS.....	26
2.3.1.	Recolección y selección del material vegetal	26
2.3.2.	Brotación y activación de yemas	27
2.3.3.	Introducción y establecimiento in vitro de <i>Zingiber officinale</i> (jengibre).....	27
2.3.4.	Diseño Experimental	29
2.3.5.	Análisis estadístico	30
2.4.	DIAGRAMA DE FLUJO DE ACTIVIDADES	31
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		32
3.1.	Evaluación del efecto del uso de Benomilo en el proceso de desinfestación para la introducción in vitro de <i>Zingiber officinale</i> (jengibre)	32
3.2.	Determinación de la concentración de hipoclorito de sodio más efectiva para obtener el mayor número de explantes asépticos de <i>Zingiber officinale</i> (jengibre).....	35
3.3.	Evaluación del efecto de la adición de PPM en el medio de introducción para reducir la contaminación y mejorar la asepsia de los explantes de <i>Zingiber officinale</i> (jengibre)	37
3.4.	Evaluación del efecto de la adición del PVP en el medio de introducción para minimizar la fenolización y mejorar la viabilidad de los explantes de <i>Zingiber officinale</i> (jengibre)	40
3.5.	Evaluación del efecto combinado de los factores sobre la asepsia, sobrevivencia, oxidación y necrosis de explantes de <i>Zingiber officinale</i>	42
CONCLUSIONES.....		46
RECOMENDACIONES.....		47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....		48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de variables e indicadores.....	4
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Zingiber officinale</i>	5
Tabla 3. Principales enfermedades del jengibre, agentes causales y síntomas asociados.....	12
Tabla 4. Combinaciones de factores utilizadas en los 24 tratamientos experimentales	29



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración botánica de <i>Zingiber officinale</i> , mostrando rizoma y estructuras vegetativas	7
Figura 2. Mapa de localización del mercado “Los Cedros” y la empresa Boniplant	24
Figura 3. Desarrollo de yemas en rizomas de <i>Zingiber officinale</i> utilizados para la obtención de explantes: (A) yema en estado latente; (B) yema desarrollada seleccionada como explante.	27
Figura 4. Eliminación de tejidos externos de yemas de <i>Zingiber officinale</i> en condiciones estériles bajo cabina de flujo laminar	28
Figura 5. Diagrama de flujo de actividades de la introducción y establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Zingiber officinale</i>	31
Figura 6. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de <i>Zingiber officinale</i> entre tratamientos con y sin Benomilo.	33
Figura 7. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de <i>Zingiber officinale</i> entre 3 concentraciones de NaClO	36
Figura 8. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de <i>Zingiber officinale</i> entre tratamientos con y sin PPM	38
Figura 9. Comparación del porcentaje promedio de oxidación (A) y sobrevivencia (B) en explantes de <i>Zingiber officinale</i> entre tratamientos con y sin PVP.....	40
Figura 10. Tipos de alteraciones fisiológicas observadas en los explantes de <i>Zingiber officinale</i> durante la fase de establecimiento <i>in vitro</i> : (A) aséptico y sobreviviente; (B) contaminado y necrosado; (C) oxidado; (D) vitrificado.	43
Figura 11. Evaluación comparativa de variables fisiológicas en los tres tratamientos que incluyen simultáneamente Benomilo, PVP, PPM y NaClO a diferentes concentraciones	44

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados experimentales de las variables evaluadas en 24 tratamientos con tres repeticiones, tras 4 semanas de cultivo <i>in vitro</i>	56
Anexo 2. Imágenes representativas de explantes correspondientes a los diferentes tratamientos.....	59
Anexo 3. Resultados de la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk).....	65
Anexo 4. Resultados de la prueba de Levene para la variable asepsia.....	66
Anexo 5. Resultados del análisis de varianza multifactorial para la variable asepsia en <i>Zingiber officinale</i>	67
Anexo 6. Resultados de la prueba post hoc de Tukey HSD para el factor NaClO sobre la variable asepsia.....	68
Anexo 7. Resultados de la prueba U de Mann–Whitney para las variables sin normalidad. ...	69
Anexo 8. Resultados de la prueba de Kruskal–Wallis para la variable sobrevivencia según niveles de NaClO	70

INTRODUCCIÓN

El jengibre, conocido también como kion y cuyo nombre científico es *Zingiber officinale* Roscoe, es una planta perenne cultivada en regiones tropicales y subtropicales. Esta especie es ampliamente valorada por su uso en la gastronomía, la medicina tradicional y la industria. Su rizoma contiene compuestos bioactivos como gingeroles y shogaoles, los cuales presentan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. El incremento de la demanda mundial de jengibre ha conferido a este cultivo una importancia creciente para el Perú, donde se ha consolidado como un producto de exportación de alto valor en los mercados internacionales (1).

No obstante, la producción del jengibre enfrenta diversas limitaciones fitosanitarias que afectan tanto el rendimiento como la calidad del cultivo. Enfermedades como la marchitez bacteriana, la pudrición del rizoma y la infestación por nemátodos constituyen amenazas persistentes que pueden ocasionar pérdidas económicas significativas (2). Estas problemáticas se agravan por el uso de material de siembra infectado, la falta de higiene en las herramientas agrícolas y condiciones ambientales favorables para el desarrollo de patógenos, como la elevada humedad y las altas temperaturas (3). Además, dado que el jengibre se propaga de forma vegetativa mediante rizomas, los patógenos tienden a permanecer asociados a los tejidos, facilitando su transmisión a nuevas plantas y perpetuando el ciclo de infección.

En este contexto, el cultivo *in vitro* surge como una alternativa eficaz para la obtención de plantas sanas, uniformes y de alta calidad. Sin embargo, la contaminación microbiana representa una de las principales limitaciones durante la fase de introducción al cultivo *in vitro*, siendo causada principalmente por hongos y bacterias presentes tanto en la superficie como en el interior de los explantes. Asimismo, la fenolización constituye otro problema frecuente, ya que la liberación de compuestos fenólicos en respuesta al estrés provoca la oxidación de los tejidos y, eventualmente, su necrosis.

Con el fin de mitigar estos inconvenientes, se han desarrollado protocolos de desinfestación que incluyen el uso de desinfectantes, fungicidas, bactericidas y antioxidantes. En el presente estudio, se busca introducir y el establecer *in vitro* jengibre a partir de yemas de rizoma, evaluando el efecto de diferentes tratamientos de desinfestación en la reducción de la contaminación y fenolización. De esta manera, se busca contribuir a la producción de material vegetal sano y generar una base científica para futuras investigaciones orientadas a la propagación masiva y sostenible de esta especie de alto valor económico.

HIPÓTESIS

Dado que el hipoclorito de sodio es un agente desinfectante ampliamente utilizado en el cultivo *in vitro* de plantas para reducir la contaminación microbiana y que la adición de agentes como Benomilo, PVP y PPM puede contribuir a la reducción de la contaminación y la oxidación de los explantes, es probable que se puedan desinfestar yemas de rizoma de *Zingiber officinale* evaluando el porcentaje de contaminación y oxidación bajo diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio, así como la presencia o ausencia de Benomilo, PVP y PPM.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Introducir y establecer *in vitro* *Zingiber officinale* (jengibre) a partir de yemas de rizoma, evaluando el efecto de diferentes tratamientos de desinfestación en la reducción de contaminación y fenolización para la obtención de explantes asépticos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto del uso de Benomilo en el proceso de desinfestación para la introducción *in vitro* de *Zingiber officinale* (jengibre).
2. Determinar la concentración de hipoclorito de sodio más efectiva para obtener el mayor número de explantes asépticos de *Zingiber officinale* (jengibre).
3. Evaluar el efecto de la adición de PPM en el medio de introducción para reducir la contaminación y mejorar la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale* (jengibre).
4. Evaluar el efecto de la adición del PVP en el medio de introducción para minimizar la fenolización y mejorar la viabilidad de los explantes de *Zingiber officinale* (jengibre).

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

Tabla 1. Cuadro de variables e indicadores.

Variables	Variable	Indicadores	Unidades
Independientes	Concentración de hipoclorito de sodio	Porcentaje de hipoclorito de sodio aplicado al explante	%
	Benomilo	Uso de Benomilo en la desinfestación	g/L
	PPM	Uso de PPM en el medio	mL/L
	PVP	Uso de PVP en el medio	mg/L
Dependientes	Porcentaje de explantes asépticos	Explantes asépticos	%
	Porcentaje de sobrevivencia	Explantes sobrevivientes	
	Porcentaje de explantes oxidados	Explantes con oxidación visible	
	Porcentaje de explantes necrosados	Explantes completamente oscuros/muertos	
	Porcentaje de explantes vitrificados	Explantes vitrificados	
	Porcentaje de explantes en brotación	Explantes con brotación visible	

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Jengibre

1.1.1. Clasificación taxonómica

El nombre botánico del jengibre o kion es *Zingiber officinale* Roscoe. El epíteto "Roscoe" rinde homenaje al botánico británico William Roscoe, quien identificó esta especie por primera vez en 1807 (4).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Zingiber officinale*

Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrarreino	Streptophyta
Superdivisión	Embryophyta
División	Traqueófita
Subdivisión	Espermatofitina
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Lilianaes
Orden	Zingiberales
Familia	Zingiberaceae
Género	<i>Zingiber</i>
Especie	<i>Zingiber officinale</i>

Nota. Adaptado de (4).

1.1.2. Origen y distribución

El jengibre o kion (*Zingiber officinale*) es una planta perenne originaria del sudeste asiático, cultivada y utilizada en la medicina y la gastronomía tradicionales desde la antigüedad. Se considera que su proceso de domesticación se inició en las regiones subtropicales del sur de China y del subcontinente indio, desde donde se difundió progresivamente hacia otras regiones del mundo. Impulsado por el comercio de especias, su cultivo se expandió durante varios siglos por Europa, África y América

(5). Para el siglo IX, el jengibre ya era una especia conocida en países como Alemania y Francia, mientras que en el siglo XI aparece citado en manuscritos anglosajones de Inglaterra. Posteriormente, fue introducido en África Oriental por comerciantes árabes durante el siglo XIII, y llevado al continente americano por portugueses y españoles en el siglo XVI, estableciéndose principalmente en México y el Caribe (6–8).

En la actualidad, el jengibre se cultiva ampliamente en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. India, Nigeria, China, Indonesia y Nepal figuran entre los principales países productores. En los últimos años, algunos países de América, como Brasil y Perú, han incrementado de manera significativa su producción. De acuerdo con datos de FAOSTAT, el Perú ocupa el décimo lugar a nivel mundial en términos de producción, con un volumen aproximado de 47 millones de toneladas anuales (9).

En el contexto peruano, el jengibre es conocido comúnmente como “kion”. Esta denominación se originó a partir de la influencia cultural y lingüística de la inmigración china durante el siglo XIX, la cual introdujo y difundió su consumo en el país, adaptando el término del cantonés *geung* o del mandarín *jiang*. Desde entonces, el vocablo “kion” se ha consolidado en el uso cotidiano, comercial y gastronómico en el Perú, diferenciándose de la mayoría de los países hispanohablantes, donde predomina la denominación “jengibre” (10).

1.1.3. Características botánicas

El jengibre no produce semillas viables, por lo que su propagación se realiza de manera vegetativa a través del rizoma, el cual corresponde a un tallo subterráneo modificado. A partir del rizoma madre se desarrollan ramas primarias, secundarias y terciarias, siguiendo un patrón de crecimiento simpodial. La planta presenta dos tipos bien definidos de raíces: las raíces fibrosas, responsables de la absorción de agua y nutrientes del suelo, y las raíces carnosas, de mayor grosor, que cumplen funciones de soporte y conducción (2).

El tallo aéreo corresponde a un pseudotallo frondoso, erecto, que puede alcanzar aproximadamente un metro de altura y un diámetro cercano a 5 mm. Este pseudotallo está constituido por vainas foliares superpuestas. Las hojas son glabras, delgadas y presentan una lámina foliar de aproximadamente 17 cm de largo por 1,8 cm de ancho.

Se disponen de forma dística y, en la unión entre la lámina y la vaina, se observa una lígula delgada, bilobada, de alrededor de 5 mm de longitud (11).

La inflorescencia es una espiga compacta que mide cerca de 4,5 cm de longitud y 15 mm de diámetro. Las flores se encuentran protegidas por brácteas verdes de aproximadamente 2,5 cm de largo por 1,8 cm de ancho, con bandas submarginales pálidas y márgenes translúcidos que se curvan hacia el interior. Las bractéolas, de tamaño similar a las brácteas, complementan la estructura floral. El cáliz envuelve al ovario, el cual alcanza aproximadamente 12 mm de longitud. El tubo de la corola mide alrededor de 2,5 cm, del cual emergen lóbulos de tonalidad amarillenta. El lóbulo dorsal, de 18 mm por 18 mm, es aplanado y se curva sobre la antera, mientras que los lóbulos laterales son de menor tamaño, con dimensiones aproximadas de 6 mm y 4 mm. El labelo es casi circular, de color púrpura opaco con manchas y base crema, y mide cerca de 12 mm de longitud. La antera es de color crema, con una longitud aproximada de 9 mm, y presenta un apéndice de color púrpura oscuro, curvado, de alrededor de 7 mm de longitud (11).



Figura 1. Ilustración botánica de *Zingiber officinale*, mostrando rizoma y estructuras vegetativas.

Nota: Tomado de (12)

1.1.4. Composición nutricional y fitoquímica

El jengibre se caracteriza por su elevada concentración de compuestos bioactivos y su valiosa composición nutricional. El almidón constituye el principal componente estructural del rizoma, pudiendo representar hasta el 70 % de su masa total. Asimismo, contiene proteínas y aminoácidos que aportan aproximadamente el 9 % de su composición, además de lípidos en proporciones que oscilan entre el 3 % y el 6 %. El rizoma también presenta una proteasa endógena, en una proporción cercana al 2 %, asociada a sus reconocidas propiedades digestivas. El aroma característico del jengibre se atribuye a la presencia de aceites esenciales volátiles, compuestos principalmente por sesquiterpenos como bisaboleno, zingibereno y zingiberol, los cuales representan entre el 1 % y el 3 % del contenido total. Por otro lado, el sabor picante distintivo se debe a la presencia de compuestos fenólicos no volátiles, principalmente gingeroles, así como a otros metabolitos pungentes como shogaoles, paradols y zingerona. En estado fresco, la oleorresina del jengibre puede contener hasta un 33 % de gingeroles; sin embargo, durante el almacenamiento, estos compuestos pueden degradarse y transformarse, modificando tanto el perfil sensorial como la actividad biológica del rizoma. Adicionalmente, el jengibre es fuente de diversas vitaminas, entre las que destacan tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y las vitaminas A, C y E. A esta compleja matriz química se suman las resinas, las cuales contribuyen a las propiedades funcionales y farmacológicas del jengibre, consolidándolo como un recurso vegetal de alto valor nutricional y bioactivo (13–25).

1.1.5. Propiedades medicinales

El jengibre ha sido utilizado desde tiempos ancestrales en la medicina tradicional india para el tratamiento de trastornos digestivos, procesos inflamatorios y diversas dolencias que afectan la calidad de vida. De manera similar, en la medicina tradicional china se emplea para aliviar náuseas y vómitos, controlar la diarrea, reducir los mareos y contribuir a la regulación de la presión arterial, entre otros efectos terapéuticos. Además de estas aplicaciones tradicionales, el jengibre presenta un amplio espectro de propiedades biológicas, entre las que destacan su actividad antioxidante, que contribuye a la protección frente al daño celular, y su acción antibacteriana, que lo hace útil en el control de infecciones. Asimismo, diversos estudios han demostrado que el jengibre posee actividad analgésica, con efectos

comparables a los del ibuprofeno, particularmente en el tratamiento del dolor reumático y en el manejo del dolor postoperatorio (2,26). También se le atribuyen efectos antidiabéticos y anticancerígenos, así como propiedades antiagregantes plaquetarias y ansiolíticas. En conjunto, estas características posicionan al jengibre como un recurso de alto valor no solo en el ámbito de la medicina tradicional, sino también como un candidato relevante para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas dentro de la farmacología moderna (19,27–34).

1.2. Cultivo de jengibre

1.2.1. Importancia económica

En el Perú, el jengibre constituye un cultivo de elevada importancia económica, consolidándose como uno de los principales productos agrícolas de exportación. Su producción se concentra predominantemente en la región central del país, especialmente en el departamento de Junín, donde las provincias de Chanchamayo y Satipo aportan aproximadamente el 95 % del volumen destinado al mercado internacional. En el año 2024, el Perú se posicionó como el tercer mayor exportador mundial de jengibre, con exportaciones que superaron los USD 12 000 millones (1). Entre los principales destinos de exportación destacan Estados Unidos, que concentra el 71 % del total exportado, seguido por Países Bajos (17 %) y Canadá (5 %) (35). Ante el sostenido incremento de la demanda a nivel mundial, resulta prioritario optimizar los métodos de producción y manejo del cultivo de jengibre. En este contexto, la tecnología de cultivo *in vitro* se perfila como una herramienta estratégica para la obtención de material vegetal de alta calidad sanitaria y genética, contribuyendo a garantizar una oferta constante del producto y favoreciendo una producción más eficiente y sostenible en el tiempo.

1.2.2. Propagación vegetativa mediante rizomas

El jengibre se propaga de forma vegetativa a partir de fragmentos de rizoma. El uso de rizomas de mayor tamaño favorece una emergencia más rápida, un crecimiento más vigoroso y un mayor rendimiento del cultivo, lo que se traduce en mejores beneficios económicos. En términos generales, se consideran óptimas las piezas de rizoma con un peso comprendido entre 14 y 56 g y que presenten de dos a tres brotes, ya que estas características contribuyen a mejorar el establecimiento y la productividad del cultivo (2).

- ***Requerimientos nutricionales***

El cultivo de jengibre requiere un suministro equilibrado de nutrientes para asegurar un desarrollo adecuado. En promedio, se recomienda la aplicación de 120 kg ha⁻¹ de fertilizante nitrogenado, 50 kg ha⁻¹ de fertilizante fosfatado y 50 kg ha⁻¹ de fertilizante potásico. El nitrógeno promueve el crecimiento del follaje, el fósforo favorece el desarrollo y fortalecimiento del sistema radicular, mientras que el potasio mejora la calidad del rizoma y aumenta su resistencia frente a enfermedades (2).

- ***Requerimientos edáficos***

El jengibre puede desarrollarse en diversos tipos de suelo; sin embargo, presenta mejores resultados en suelos sueltos, bien drenados y con alto contenido de materia orgánica. Son particularmente adecuados los suelos de textura media, ricos en humus y con un pH comprendido entre 5 y 7, evitando aquellos con pH superior a 8. En áreas con pendientes pronunciadas no se recomienda su cultivo, debido al riesgo de erosión del suelo. Para obtener mayores rendimientos, se sugiere una densidad aparente del suelo cercana a 1,20 g cm⁻³. Asimismo, las características edáficas influyen en la concentración de aceites esenciales del rizoma y, por ende, en su calidad final (2).

- ***Requerimientos climáticos***

El jengibre se desarrolla en condiciones tropicales y subtropicales, con un rango óptimo de temperatura entre 19 y 28°C, siendo 13°C el límite mínimo para un crecimiento adecuado. La etapa de brotación se ve favorecida por temperaturas comprendidas entre 25 y 27,5°C. Esta especie se cultiva preferentemente a altitudes de 300 a 900 m s. n. m. y muestra preferencia por días largos durante el crecimiento vegetativo y días más cortos durante la formación del rizoma. Asimismo, la presencia de sombra ligera contribuye a mejorar el rendimiento del cultivo. Requiere una precipitación anual entre 1500 y 3000 mm y, aunque no tolera heladas, encharcamientos ni suelos salinos, puede resistir periodos moderados de sequía y la acción de vientos fuertes. No obstante, temperaturas extremas, tanto altas como bajas, pueden afectar negativamente la producción (2).

1.2.3. Plagas y enfermedades

El cultivo de jengibre puede verse afectado por diversas plagas y enfermedades que

limitan su desarrollo y reducen significativamente su rendimiento. Estas problemáticas, causadas por bacterias, hongos, oomicetos y nematodos, pueden diseminarse con facilidad a través del suelo, el agua de riego o el material de siembra, ocasionando pérdidas económicas considerables en la producción. En la Tabla 3 se presentan las principales enfermedades que afectan al cultivo de jengibre:



Tabla 3. Principales enfermedades del jengibre, agentes causales y síntomas asociados.

Tipo	Género	Especies	Enfermedad	Síntomas
Bacteria	<i>Ralstonia spp.</i>	<i>R. solanacearum</i>	Marchitez bacteriana	Enroscamiento descendiente de las hojas y posterior desecación, pudrición del rizoma, marchitamiento y muerte de la planta
		<i>P.aphanidermatum</i> <i>P.ultimum</i> <i>P. myriotylum</i>		
Oomiceto	<i>Pythium spp.</i>	<i>P.vexans</i> <i>P.gracile,P.deliense</i> <i>P.pleroticum</i> <i>P.splendons</i>	Pobredumbre blanda	Descomposición acuosa de raíces, rizomas, tallos y pseudotallo con olor fétido y hojas amarillas
		<i>F. oxysporum f. sp. Zingiberi</i> <i>F.graminearum</i> <i>F.equiseti</i> <i>F.moniliforme</i>	Amarillamiento (Yellows)	Amarillamiento lento, coloración marrón en el interior del rizoma y crecimiento fúngico algodonoso blanco
Nemátodo	<i>Meloidogyne</i>	<i>M. incógnita</i>		
	<i>spp.</i>	<i>M. javanica</i>		
	<i>Pratylenchus</i>	<i>P. coffeae</i>	-	Retraso en el crecimiento, clorosis y falta de macollameinto profuso
Virus	<i>spp.</i>			
	<i>Radopholus</i>	<i>R. similis</i>		
	<i>spp.</i>			
Virus			Enfermedad del mosaico	Patrón de mosaico amarillento y verde oscuro en las hojas y retraso de crecimiento
			Enfermedad mancha clorótica	Halos amarillos que rodean los centros necróticos de las hojas

Nota: Adaptado de (2,36)

1.3. Micropropagación

1.3.1. Cultivo *in vitro* de yemas vegetativas

Las yemas vegetativas son estructuras meristemáticas constituidas por células indiferenciadas con elevada actividad mitótica, capaces de originar nuevos órganos de la planta, como tallos y hojas. Se localizan principalmente en las axilas foliares, los ápices caulinares y los rizomas. Estas yemas desempeñan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo vegetal, ya que permiten la emisión de nuevos brotes y ramificaciones. El cultivo *in vitro* de yemas vegetativas constituye una estrategia biotecnológica ampliamente empleada para la propagación clonal, la conservación de genotipos de interés y la obtención de plántulas libres de patógenos, debido a su alta capacidad de regeneración y estabilidad genética (37).

1.3.2. Fases de la micropropagación

- ***Etapas 0: Selección y preparación de la planta madre***

En esta etapa se selecciona la planta donadora que servirá como fuente de explantes. Es indispensable que el material vegetal provenga de individuos cultivados bajo condiciones fitosanitarias controladas y libres de infecciones virales, fúngicas y bacterianas. La planta madre debe presentar un estado vegetativo óptimo, con alta vigorosidad, crecimiento uniforme y ausencia de síntomas de estrés fisiológico o daño mecánico (38).

- ***Etapas 1: Establecimiento***

Una vez seleccionada la planta madre, se procede a la extracción de los explantes, los cuales pueden corresponder a yemas, segmentos de tallo, hojas, raíces o semillas. Posteriormente, se realiza la desinfestación superficial, tanto fuera como dentro de la cámara de flujo laminar, bajo condiciones estrictamente estériles, para finalmente sembrar los explantes en el medio de cultivo correspondiente (38).

- ***Etapas 2: Multiplicación***

En esta fase, los explantes que han logrado un establecimiento exitoso se transfieren a medios de cultivo suplementados con citoquininas, las cuales estimulan la organogénesis y la proliferación de brotes axilares, permitiendo incrementar el número de regenerantes por explante (38).

- ***Etapas 3: Enraizamiento***

Los brotes obtenidos durante la etapa de multiplicación requieren la inducción de raíces adventicias. Para ello, se transfieren a medios de cultivo con una reducción en la concentración de citoquininas y un aumento en las auxinas, lo que favorece la diferenciación y el desarrollo del sistema radicular (38)

- ***Etapas 4: Aclimatación***

Una vez desarrollado el sistema radicular, las vitroplantas deben someterse a un proceso de aclimatación gradual a condiciones *ex vitro*. Los brotes enraizados se transfieren a recipientes con sustrato estéril y se mantienen bajo alta humedad relativa, generalmente mediante el uso de coberturas de polietileno que se perforan de manera progresiva hasta su retiro total en un periodo de 15 a 20 días. Durante esta etapa se recomienda el riego con medio de cultivo diluido al 50 %, lo cual facilita la transición fisiológica y mejora la sobrevivencia en condiciones no controladas (38).

1.3.3. Medio de cultivo

El medio de cultivo constituye el sustrato que permite el crecimiento y desarrollo del explante, proporcionando los nutrientes esenciales para su metabolismo. Generalmente está compuesto por agua, macro y micronutrientes, vitaminas, una fuente de carbono y un agente gelificante que le confiere consistencia. La composición y concentración de los reguladores de crecimiento varía según el tipo de tejido vegetal y la etapa del desarrollo que se desea inducir (39).

Uno de los medios más utilizados es el formulado por Murashige y Skoog (MS) en 1962, desarrollado durante investigaciones sobre el cultivo de *Nicotiana tabacum* en la Universidad de Wisconsin. Aunque su objetivo inicial fue estudiar el efecto de los reguladores de crecimiento sobre la organogénesis, su alta concentración de nitratos, balance de macroelementos y contenido vitamínico lo convirtieron en un medio versátil y ampliamente empleado en la micropropagación de especies herbáceas (40).

Posteriormente, se desarrollaron medios derivados como el Linsmaier y Skoog (LS), con modificaciones en la composición vitamínica, así como otros medios específicos como el Woody Plant Medium (WPM) para especies leñosas, el medio

Anderson para rododendros y el medio Gamborg B5, ampliamente utilizado en cultivos de callos y suspensiones celulares (41).

1.3.4. Métodos de esterilización

- Métodos físicos

La esterilización constituye un proceso fundamental para la eliminación de microorganismos y la prevención de la contaminación en el laboratorio. Existen diversos métodos de esterilización física, cuya elección depende del tipo de material que se desea tratar. La esterilización por calor húmedo, llevada a cabo en autoclaves, utiliza vapor de agua a 121 °C y una presión de 15 psi durante un período de 15 a 20 minutos, lo que permite la destrucción eficaz de microorganismos y sus esporas. En contraste, el calor seco se aplica mediante estufas a temperaturas comprendidas entre 180 y 200 °C durante 2 a 4 horas, siendo especialmente adecuado para la esterilización de instrumentos metálicos, a través de la desnaturalización de proteínas y la oxidación de los componentes celulares. Otra técnica ampliamente utilizada es la esterilización por llama, en la cual los instrumentos se sumergen previamente en etanol al 70 % y posteriormente se exponen a la llama de un mechero Bunsen. Asimismo, se emplean perlas de vidrio calentadas a temperaturas de 250 a 300 °C, que permiten la esterilización rápida de instrumentos en un intervalo de 15 a 30 segundos. Por otro lado, la radiación también puede utilizarse como método de esterilización. La radiación ionizante, como los rayos gamma y los rayos X, resulta eficaz para materiales termolábiles, mientras que la radiación no ionizante, como la luz ultravioleta, se emplea principalmente para la desinfección de superficies, aire y agua. Finalmente, la radiación infrarroja permite la esterilización en pocos segundos al alcanzar temperaturas cercanas a los 700 °C (38).

- Métodos mecánicos

La filtración es un método empleado para la esterilización de medios líquidos, ya que permite la remoción de microorganismos sin la aplicación de calor, preservando los componentes termosensibles del medio. Para este propósito se utilizan filtros de acetato o nitrato de celulosa con tamaños de poro de 0,2 µm o menores, capaces de retener bacterias, hongos y algunos virus, permitiendo simultáneamente el paso del líquido y de los solutos disueltos.

Asimismo, el uso de limpiadores ultrasónicos constituye un método mecánico auxiliar para la eliminación de contaminantes en instrumental de laboratorio. Este procedimiento se basa en la generación de ondas ultrasónicas en una solución que contiene detergentes enzimáticos o alcalinos, las cuales producen cavitación; fenómeno en el que la formación y colapso de burbujas microscópicas genera microondas de choque que facilitan la remoción de residuos y contaminantes adheridos a las superficies de los instrumentos(42).

- **Métodos químicos**

Los métodos químicos se basan en el uso de diversas sustancias para la eliminación o inhibición del crecimiento de microorganismos. Entre los agentes más utilizados se encuentran el hipoclorito de sodio y el hipoclorito de calcio, los cuales actúan mediante la liberación de cloro libre; estos se emplean comúnmente en concentraciones que oscilan entre 0,5–5% y 3–10%, respectivamente. El cloruro de mercurio presenta una elevada eficacia antimicrobiana; sin embargo, su uso es limitado debido a su alta toxicidad. Asimismo, el peróxido de hidrógeno ejerce su acción a través de la oxidación de componentes celulares esenciales, utilizándose en concentraciones comprendidas entre 3–12%. El etanol al 70% actúa mediante la desnaturalización de proteínas y se emplea principalmente como agente desinfectante y pretratamiento del material. Por su parte, el nitrato de plata y el formaldehído inhiben el crecimiento microbiano y son utilizados para la desinfección de superficies y espacios de mayor amplitud. Finalmente, el óxido de etileno se emplea para la esterilización de equipos termolábiles debido a su alta capacidad de penetración, mientras que el cloruro de benzalconio se utiliza como antiséptico en bajas concentraciones(42).

1.3.5. Condiciones ambientales de incubación

Las condiciones ambientales durante la incubación son determinantes para el adecuado desarrollo de los tejidos vegetales en condiciones de laboratorio. La temperatura, generalmente mantenida entre 20 y 30 °C, influye directamente en los procesos fisiológicos y en la dinámica del crecimiento celular. La luz, cuyo control es igualmente esencial, debe regularse en función de su intensidad, la duración del fotoperiodo y la fuente luminosa empleada, dado que las distintas longitudes de onda participan activamente en el desarrollo vegetal. Un nivel

adecuado de humedad contribuye a reducir la transpiración y garantiza una disponibilidad suficiente de agua para los tejidos, especialmente en sistemas de cultivo líquido. El intercambio gaseoso está condicionado por el tipo de sellado de los frascos de cultivo; concentraciones muy bajas de oxígeno o elevadas de dióxido de carbono pueden alterar procesos fundamentales como la respiración y la fotosíntesis. Finalmente, el pH del medio de cultivo, generalmente ajustado entre 5,5 y 6, debe controlarse cuidadosamente, ya que influye en la solubilidad de los nutrientes y en la estabilidad del medio (41,43).

1.3.6. Problemas en el cultivo *in vitro*

- Contaminación Microbiana

La contaminación microbiana constituye uno de los problemas más graves y persistentes en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, siendo una de las principales causas de pérdidas económicas tanto en laboratorios de investigación como en sistemas de producción comercial. Este tipo de contaminación se caracteriza por la presencia de microorganismos patógenos, principalmente bacterias, hongos y levaduras, que colonizan los medios de cultivo estériles destinados al crecimiento y desarrollo de los explantes vegetales (38).

Entre los contaminantes más frecuentes se encuentran bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Xanthomonas*, *Agrobacterium* y *Staphylococcus*, así como hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Alternaria*. La contaminación puede tener un origen endógeno, cuando los microorganismos se encuentran de manera natural en los tejidos vegetales utilizados como explantes, o exógeno, cuando se introduce durante la manipulación del material bajo condiciones inadecuadas de asepsia. Los explantes contaminados suelen presentar cambios en la coloración del medio de cultivo, turbidez, crecimiento micelial visible y, en casos severos, la muerte del tejido vegetal (36).

Para el control y la prevención de la contaminación microbiana, se aplican diversos protocolos que incluyen la desinfección superficial de los explantes mediante agentes como el hipoclorito de sodio, el uso de antibióticos y fungicidas específicos, la aplicación estricta de técnicas asépticas, la

reducción del tamaño de los explantes, el trabajo por líneas individuales y la detección temprana de contaminantes antes de cada subcultivo (38).

- ***Oxidación Fenólica***

La oxidación fenólica constituye un fenómeno bioquímico crítico en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales y se manifiesta por el oscurecimiento progresivo de los explantes, consecuencia de la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Este proceso se inicia cuando, tras el daño tisular generado durante la preparación y desinfección de los explantes, la PPO entra en contacto con los compuestos fenólicos presentes en los tejidos (44). En presencia de oxígeno molecular, la enzima cataliza la oxidación de dichos compuestos a quinonas altamente reactivas, las cuales se polimerizan y originan pigmentos de coloración marrón a negra (45).

La intensificación de este fenómeno se asocia a la ruptura de compartimentos celulares provocada por lesiones mecánicas, lo que facilita la interacción entre la PPO, localizada principalmente en los cloroplastos, y sus sustratos fenólicos, almacenados en las vacuolas. Como resultado, los tejidos afectados presentan oscurecimiento progresivo, disminución de su capacidad regenerativa, inhibición del crecimiento e incluso muerte celular, factores que comprometen de manera significativa el éxito del establecimiento *in vitro* (46).

Para el control de la oxidación fenólica se han propuesto diversas estrategias, entre las que destacan el uso de antioxidantes como el ácido ascórbico y el ácido cítrico en los medios de cultivo, la incorporación de carbón activado en concentraciones de 1–4 g/L para la adsorción de compuestos fenólicos, la adición de polivinilpirrolidona (PVP) como agente quelante, el cultivo bajo condiciones de baja luminosidad o en oscuridad inicial, la realización de subcultivos frecuentes y el empleo de explantes jóvenes con menor contenido fenólico (47).

- ***Necrosis Tisular***

La necrosis tisular en el cultivo *in vitro* se manifiesta como la muerte localizada de células y tejidos de los explantes, y se caracteriza por la aparición de lesiones oscuras, ennegrecimiento progresivo y un deterioro irreversible de la estructura celular. Este fenómeno se produce como consecuencia de diversos factores de estrés que superan la capacidad

adaptativa de las células vegetales, entre los que se incluyen deficiencias nutricionales —principalmente de calcio y boro—, desequilibrios osmóticos, acumulación de metabolitos tóxicos, estrés oxidativo y condiciones ambientales inadecuadas, tales como exceso de humedad o un intercambio gaseoso deficiente (48).

En el contexto del cultivo *in vitro*, la necrosis tisular se ve favorecida por las condiciones artificiales del ambiente de cultivo, donde factores como la elevada humedad relativa, la ventilación limitada de los contenedores, la acumulación de etileno y los desequilibrios en la composición del medio de cultivo pueden desencadenar procesos necróticos. Este fenómeno afecta con mayor frecuencia a los tejidos meristemáticos y jóvenes, siendo particularmente crítica la necrosis apical, ya que compromete los puntos de crecimiento y limita de manera severa la capacidad de multiplicación de los explantes. Los tejidos necróticos presentan pérdida de turgencia, cambios de coloración hacia tonos pardos o negros, desorganización celular y, en estadios avanzados, la muerte total del explante (48).

Para la prevención y el control de la necrosis tisular se aplican diversas estrategias, tales como el uso de medios de cultivo con un balance nutricional adecuado —especialmente en cuanto a las concentraciones de calcio—, la optimización de las condiciones de ventilación e intercambio gaseoso, el empleo de contenedores de mayor volumen, la reducción de la humedad relativa, la realización de subcultivos más frecuentes y la selección de formulaciones de medios específicas para cada etapa del cultivo (48,49).

- **Vitrificación**

La vitrificación, también denominada hiperhidricidad de los explantes, constituye otro de los principales problemas asociados al cultivo *in vitro*. Se caracteriza porque los explantes adquieren un aspecto excesivamente translúcido, desproporcionado y una extrema fragilidad, dando la impresión de estar recubiertos por una capa cristalina. Este fenómeno se origina por la interacción de diversos factores ambientales y nutricionales propios de las condiciones de cultivo en laboratorio, tales como una humedad relativa cercana al 100%, una circulación de aire limitada dentro de los recipientes, el exceso de agua en los tejidos, altas concentraciones de reguladores de crecimiento —especialmente citoquininas—, baja intensidad lumínica y una

composición inadecuada del medio de cultivo (38).

Cuando se presenta la vitrificación, los procesos fisiológicos normales de las plantas se ven alterados, dando lugar a un crecimiento anómalo. Los explantes vitrificados suelen desarrollar tallos y hojas engrosados, rígidos y quebradizos, con una apariencia transparente característica. Asimismo, presentan una reducción del contenido de clorofila, una menor acumulación de compuestos fenólicos y modificaciones en su estructura interna, tales como la desorganización del tejido mesofílico y la presencia de amplios espacios intercelulares, además de alteraciones en el funcionamiento de los estomas, responsables de la transpiración. Estas alteraciones afectan negativamente la capacidad fotosintética y transpiratoria de las plantas, dificultando de manera significativa su adaptación durante el trasplante a condiciones *ex vitro* y limitando su desarrollo normal (38).

Para prevenir o disminuir la incidencia de la vitrificación, se han propuesto diversas estrategias, entre las que se incluyen la reducción de la humedad dentro de los recipientes, la mejora de la circulación de aire mediante el uso de tapas perforadas, la transferencia de los explantes a medios de cultivo sin reguladores de crecimiento, la adición de carbón activado, el incremento de la concentración de agar o el uso de agar de mayor calidad, la aplicación de compuestos como el floroglucinol que favorecen la lignificación de los tejidos, así como la modificación de las condiciones de iluminación. La implementación conjunta de estas medidas contribuye a generar condiciones de cultivo más adecuadas y a minimizar la aparición de este desorden fisiológico (50,51).

1.3.7. Ventajas de la micropropagación

- Producción masiva de clones

La micropropagación permite la multiplicación a gran escala de plantas genéticamente idénticas a partir de pequeñas porciones de tejido vegetal. Esta capacidad de clonar masivamente un genotipo en un periodo relativamente corto constituye una ventaja significativa frente a los métodos convencionales de propagación, los cuales suelen ser más lentos y están limitados por la disponibilidad de material vegetal inicial. Mediante técnicas como la organogénesis o la embriogénesis somática, es posible obtener un elevado

número de plantas a partir de un único explante, garantizando la uniformidad genética y la homogeneidad de características de interés agronómico, ornamental o forestal. Este enfoque resulta especialmente relevante en programas de mejoramiento y producción comercial, donde se busca conservar rasgos deseables como alta productividad, resistencia a enfermedades o calidad de frutos y flores. Asimismo, la clonación masiva contribuye a la reducción de costos de producción, asegura un suministro constante de plántulas y acelera la introducción de nuevos cultivares al mercado, fortaleciendo la competitividad del sector agrícola y forestal (41,52).

- ***Reducción del tiempo de propagación***

La micropropagación constituye un método alternativo de propagación vegetativa que permite la multiplicación a gran escala en periodos de tiempo considerablemente reducidos. Además, facilita la producción de variedades específicas en grandes cantidades y contribuye a disminuir hasta en un 50% el tiempo requerido para el desarrollo y establecimiento de nuevas variedades, en comparación con los métodos tradicionales (41).

- ***Producción durante todo el año***

Una de las principales ventajas de la micropropagación es la posibilidad de producir plantas de manera continua a lo largo de todo el año, independientemente de las condiciones estacionales o climáticas. Al desarrollarse en un ambiente controlado, el cultivo *in vitro* elimina las limitaciones propias de la propagación convencional, como la estacionalidad de la floración, la disponibilidad restringida de semillas o el estrés ambiental que afecta el enraizamiento y crecimiento de los esquejes. Esta característica resulta particularmente valiosa para especies frutales, ornamentales y forestales de interés comercial, en las que se requiere un suministro constante de plántulas de alta calidad. Asimismo, la producción ininterrumpida permite a los viveros planificar con mayor precisión sus ciclos productivos y atender de manera estable la demanda del mercado (41).

- ***Conservación y almacenamiento de germoplasma***

La micropropagación constituye una herramienta fundamental para la conservación de la fitodiversidad, principalmente mediante el establecimiento de bancos de germoplasma destinados a la preservación de

recursos genéticos para futuras generaciones. Esta técnica resulta especialmente importante en especies con semillas recalcitrantes, en híbridos que requieren propagación vegetativa o cuando la disponibilidad de material vegetal es limitada (53,54).

- ***Obtención de plantas libres de patógenos***

La micropropagación se ha consolidado como una técnica eficaz para la obtención de plantas libres de patógenos, ya que permite trabajar con explantes bajo estrictas condiciones de asepsia y en un entorno controlado. A diferencia de la propagación convencional, en la cual los microorganismos asociados al material vegetal pueden transmitirse fácilmente, el cultivo *in vitro* posibilita la regeneración de tejidos sin la interferencia de contaminantes externos. Diversos tipos de explantes pueden emplearse con este propósito, ya que su multiplicación en medios estériles da lugar a plántulas libres de virus, bacterias y hongos (41).

- ***Desarrollo de semillas sintéticas***

La aplicación de la embriogénesis somática en la micropropagación ha permitido el desarrollo de semillas sintéticas mediante la encapsulación de embriones somáticos u otros regenerantes, lo que facilita tanto la propagación como la conservación del material genético. Estas semillas constituyen una alternativa viable en cultivos de difícil manejo, como la caña de azúcar, y han mostrado resultados favorables en especies como papa y orquídeas, manteniendo su viabilidad tras el almacenamiento a bajas temperaturas (53).

- ***Producción de principios activos***

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales en biorreactores permite la obtención de metabolitos secundarios de alto valor farmacéutico y comercial. Se han reportado avances significativos en la producción de compuestos como la shikonina, con aplicaciones cosméticas y antisépticas, la berberina, la digitoxina, la codeína, la sanguinarina y el taxol, este último ampliamente estudiado por su efecto antitumoral. Asimismo, se ha logrado la obtención de alcaloides como la atropina y la hioscina a partir de cultivos de raíces de *Atropa belladonna*, así como diosgenina y solasodina, precursores de hormonas esteroides, a partir de callos somáticos de *Dioscorea deltoidea* y *Solanum khasianum*. De igual manera, se ha reportado la producción de aceites esenciales, como el aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*),

mediante brotes proliferantes cultivados *in vitro*. Estos antecedentes evidencian el amplio potencial de la micropropagación y del cultivo *in vitro* en las industrias farmacéutica y cosmética (53,55,56).



CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La ejecución de la investigación se desarrolló en el Laboratorio Plantilab de Boniplant en el distrito de Chorrillos, Lima. El material vegetal se recolectó del mercado “Los Cedros” en Chorrillos.

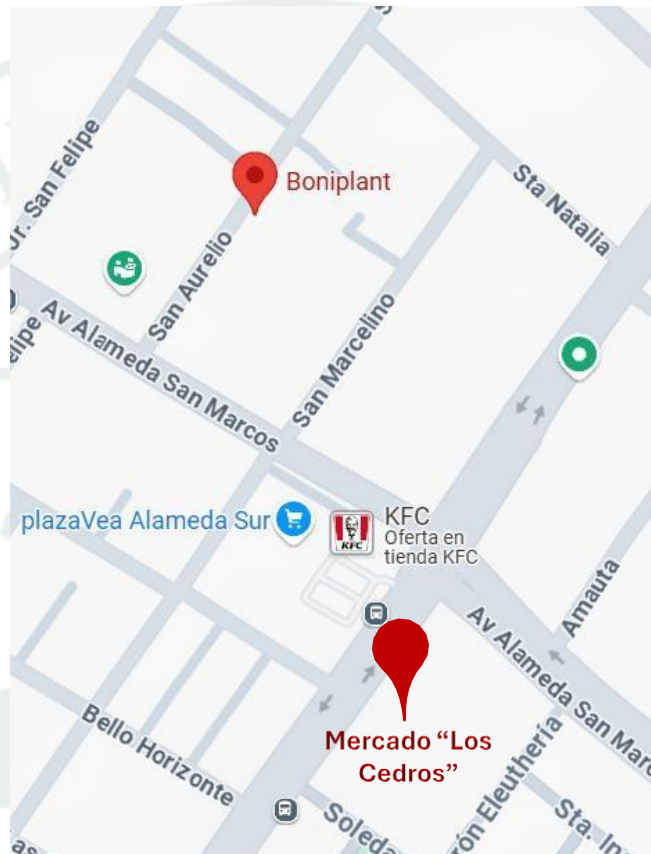


Figura 2. Mapa de localización del mercado “Los Cedros” y la empresa Boniplant

2.2. MATERIALES

2.2.1. *Material vegetal*

- Rizomas de *Zingiber officinale* (jengibre o kión)

2.2.2. *Insumos y reactivos químicos*

- Medio de cultivo de Murashige & Shoog, PhytoTechnology Laboratories®
- Sacarosa
- Plant Preservative Mixture (PPM), Plant Cell Technology®
- Polivinilpirrolidona (PVP), PhytoTechnology Laboratories®
- Benomilo, ENLACE 50 PM®

- Etanol al 70% y 96%
- Hipoclorito de sodio 7,5%
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio 1N
- Ácido clorhídrico 1N
- Detergente Sapolio®
- Buffer pH 4, HANNA®
- Buffer pH 7, HANNA®
- Buffer pH 10 HANNA®

2.2.3. Material de vidrio

- Tubos de ensayo 15 mL
- Frascos con tapa de plástico
- Pipetas de 10, 5 y 1 mL
- Probeta 1000 mL
- Frascos 200 mL
- Botellas 500 mL
- Frasco con corcho

2.2.4. Aparatos y equipos

- Autoclave, ZOMAX®
- Balanza analítica, BIOBASE®
- Cámara de flujo laminar, BIOBASE®
- Estufa, BIOBASE®
- Potenciómetro, BIOBASE®
- Agitador orbital, BIOBASE®
- Microondas, LG®

2.2.5. Software

- IBM SPSS Statistics v31

2.2.6. Otros

- Jarra de plástico 2L, BASA®
- Cucharillas medidoras inoxidables
- Pinzas punta curva, ROTTMANN®

- Pinza punta recta mediana, ROTTMANN®
- Mangos de bisturí, DURAMGO®
- Hojas de bisturí número 22, ALKHOKAR®
- Algodón
- Film de polietileno
- Tapas de plástico para frascos
- Hojas bond
- Mechero de alcohol
- Bolsas de polipropileno
- Encendedor
- Etiquetas
- Papel aluminio
- Lápiz
- Tajador
- Guantes desechables
- Mascarillas desechables
- Gorros desechables
- Mandil
- Zapatos de laboratorio
- Papel toalla
- Papel filtro

2.3. MÉTODOS

2.3.1. *Recolección y selección del material vegetal*

Los rizomas de la planta *Zingiber officinale* fueron comprados en el mercado “Los Cedros”. Se seleccionaron explantes a partir de rizomas de tamaño intermedio, forma regular y con yemas visibles, aunque no completamente desarrolladas. Los rizomas seleccionados presentaron piel firme, sin arrugas ni manchas o zonas blandas que pudieran indicar enfermedades o un deterioro por plagas. Se consideraron en un estado fitosanitario aceptable aquellos rizomas que mostraban un color externo marrón claro y un color interno amarillento.

2.3.2. *Brotación y activación de yemas*

Los rizomas fueron cortados en fragmentos de entre 3 y 6 cm de largo, eligiendo los cortes de tal manera que cada fragmento contuviera al menos una yema visible. Los cortes de los rizomas fueron realizados con un bisturí que previamente había sido desinfectado por inmersión en etanol al 96%. Posteriormente, los fragmentos fueron sumergidos en agua del grifo durante 6 horas, transcurrido el tiempo fueron escurridos y posteriormente incubados en oscuridad a 25°C durante dos semanas para inducir la brotación de las yemas activas las que fueron utilizadas posteriormente como explantes.



Figura 3. Desarrollo de yemas en rizomas de *Zingiber officinale* utilizados para la obtención de explantes: (A) yema en estado latente; (B) yema desarrollada seleccionada como explante.

2.3.3. *Introducción y establecimiento in vitro de Zingiber officinale (jengibre)*

Preparación del medio de cultivo

Se preparó un medio de cultivo MS basal con vitaminas sin fitohormonas, con un 3% (p/v) de sacarosa, 0,025% (p/v) de PVP y 0,1% (v/v) de PPM. El pH del medio se modificó hasta llegar a 5,8 con las soluciones de NaOH 1 N y HCl 1 N. Se distribuyeron 8 mL del medio a tubos de ensayo, cada uno con un papel filtro en su interior que sirvió como soporte para los explantes. Los tubos se cubrieron con papel aluminio y se esterilizaron por autoclave a 121°C durante 15 minutos. También se prepararon modificaciones del medio MS que solo contenían PVP, PPM, ninguno o ambos de los dos aditivos según los tratamientos establecidos.

Desinfestación del material vegetal

Se trabajó con trozos de rizoma que presentaban yemas activas que medían entre 1 y

2 cm de longitud y tenían un diámetro superior a 1 cm. Las yemas se lavaron con detergente y se agitaron durante 30 minutos a 250 rpm. Seguidamente se enjuagaron con agua de grifo. Los tratamientos que incluyeron Benomilo, la concentración aplicada fue al 0,2% (p/v) por un tiempo de 10 minutos. Luego, cada yema fue enjuagada cinco veces con agua destilada. En condiciones de cabina de flujo laminar, se continuó con la desinfestación usando etanol al 70% durante 2 minutos, seguido de un enjuague con agua destilada estéril. Después, según el tratamiento correspondiente, se aplicó hipoclorito de sodio en concentraciones del 1%, 1,5% y 2% por 15 minutos. Y nuevamente, cinco enjuagues, uno tras otro, con agua estéril. Al terminar toda la desinfestación, se retiraron cuidadosamente las capas externas de las yemas, eliminando cualquier tejido que pudiera haber estado en contacto directo con los desinfectantes. Se colocaron, una por una, en tubos de ensayo con 8 mL del medio de cultivo correspondiente.



Figura 4. Eliminación de tejidos externos de yemas de *Zingiber officinale* en condiciones estériles bajo cabina de flujo laminar.

Condiciones de cultivo

Las condiciones de cultivo se establecieron con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad utilizando tubos fluorescentes que proporcionen una intensidad

lumínica de 200 a 2500 lux. La temperatura fue de 25°C y la humedad relativa entre 50 y 60%.

Evaluación

Se registraron los porcentajes de explantes asépticos, sobrevivientes, oxidados, necrosados y vitrificados después de 7 días durante 4 semanas. Cabe mencionar que se consideraron como explantes sobrevivientes aquellos que mantenían una coloración verde, con o sin signos de oxidación y que no presentaban contaminación ni necrosis.

2.3.4. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con estructura factorial $2^3 \times 3$, correspondiente a cuatro factores: Benomilo (presente/ausente), PPM (presente/ausente), PVP (presente/ausente) y NaClO (1%, 1.5%, 2%), generando un total de 24 tratamientos como se muestra en la Tabla 4. Cada tratamiento fue evaluado con tres repeticiones y en cada repetición se emplearon 10 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió en un tubo de ensayo que contenía un explante de yema. En total, se utilizaron 720 unidades experimentales.

Tabla 4. Combinaciones de factores utilizadas en los 24 tratamientos experimentales.

Tratamiento	Benomilo	PPM	PVP	NaClO (%)
T1	Sí	Sí	Sí	1,0
T2	Sí	Sí	Sí	1,5
T3	Sí	Sí	Sí	2,0
T4	Sí	Sí	No	1,0
T5	Sí	Sí	No	1,5
T6	Sí	Sí	No	2,0
T7	Sí	No	Sí	1,0
T8	Sí	No	Sí	1,5
T9	Sí	No	Sí	2,0
T10	Sí	No	No	1,0
T11	Sí	No	No	1,5
T12	Sí	No	No	2,0

T13	No	Sí	Sí	1,0
T14	No	Sí	Sí	1,5
T15	No	Sí	Sí	2,0
T16	No	Sí	No	1,0
T17	No	Sí	No	1,5
T18	No	Sí	No	2,0
T19	No	No	Sí	1,0
T20	No	No	Sí	1,5
T21	No	No	Sí	2,0
T22	No	No	No	1,0
T23	No	No	No	1,5
T24	No	No	No	2,0

Nota: “Sí” indica la presencia del factor correspondiente en el tratamiento, mientras que “No” indica su ausencia.

2.3.5. Análisis estadístico

Los datos fueron organizados y analizados mediante el software IBM SPSS Statistics v31. Dado que el diseño experimental incluyó múltiples factores, se aplicó un análisis de varianza multifactorial (ANOVA) con el fin de evaluar los efectos principales e interacciones sobre la variable asepsia (véase Anexo 5), previa verificación de la distribución normal y homogeneidad de varianzas (véase Anexo 3 y 4). Para el factor NaClO, se realizó una prueba post hoc de Tukey HSD, a fin de identificar diferencias significativas entre sus niveles, considerando un valor $p < 0,05$ (véase Anexo 6). La variable sobrevivencia fue analizada mediante la prueba no paramétrica de Mann–Whitney, para comparar la presencia y ausencia de los factores evaluados, debido a que los datos no seguían una distribución normal y homogeneidad de varianzas (véase Anexo 7). En el caso del factor NaClO, que presentó tres niveles, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (véase Anexo 8). En cuanto a las variables de oxidación y vitrificación, no se realizó análisis estadístico debido a la alta concentración de datos en valores cercanos a 0% o 10%, lo que impidió la aplicación de pruebas estadísticas válidas. Finalmente, la variable de brotación no fue incluida en el análisis, ya que no se registró brotación en ninguno de los tratamientos evaluados.

2.4. DIAGRAMA DE FLUJO DE ACTIVIDADES

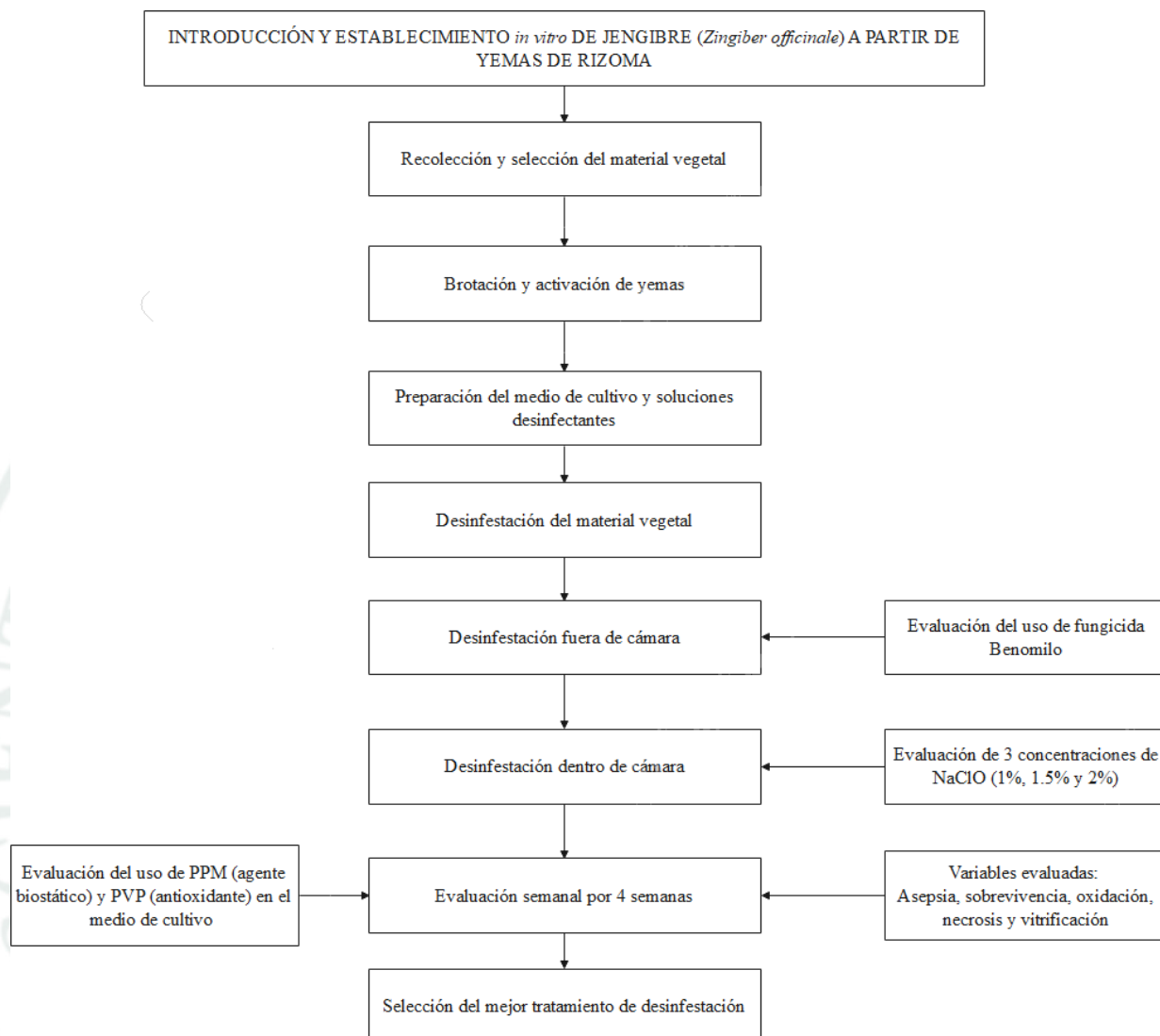


Figura 5. Diagrama de flujo de actividades de la introducción y establecimiento *in vitro* de *Zingiber officinale*.

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evaluación del efecto del uso de Benomilo en el proceso de desinfestación para la introducción *in vitro* de *Zingiber officinale* (jengibre)

El análisis de varianza multifactorial evidenció que el uso de Benomilo influyó de manera estadísticamente significativa en el porcentaje de asepsia de los explantes de jengibre ($p < 0,001$), lo que indica que las diferencias observadas entre tratamientos con y sin fungicida responden a un efecto atribuible directamente al compuesto. En promedio, los tratamientos que incluyeron Benomilo lograron un 59,72% de asepsia, mientras que aquellos sin fungicida alcanzaron un 46,94%, lo que representa una mejora del 12,78% (Figura 6A).

La mayor eficacia de los tratamientos con Benomilo respecto al control puede explicarse por su actividad sistémica. Este fungicida puede ser absorbido por los tejidos del explante, donde se metaboliza en carbendazim, su forma biológicamente activa. Dicho metabolito actúa a nivel celular mediante la unión a las subunidades de β -tubulina, impidiendo la formación del huso mitótico y bloqueando la división celular del patógeno, lo que conduce a la inhibición de su proliferación y eventual eliminación (57,58). Este mecanismo resulta particularmente relevante para el control de hongos filamentosos comúnmente asociados a la contaminación en el cultivo de tejidos de jengibre, entre los que se reportan *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* (59).

No obstante, a pesar de la mejora observada, el porcentaje de asepsia alcanzado (~60%) indica que una fracción considerable de los contaminantes persiste tras el tratamiento con Benomilo, lo que sugiere que su acción, aunque efectiva, fue limitada bajo las condiciones experimentales evaluadas. Esta persistencia podría estar asociada a la coexistencia de hongos endófitos protegidos en los tejidos internos del explante, favorecida por una absorción tisular incompleta y un tiempo de residencia insuficiente del fungicida para alcanzar y neutralizar hifas fúngicas localizadas en espacios intercelulares profundos (60,61). Adicionalmente, la presencia de hongos con sensibilidad reducida al Benomilo podría contribuir a restringir la eficacia global del tratamiento (62,63).

En este contexto, Manisha et al. (2018) evaluaron el uso de carbendazim, metabolito activo del Benomilo, a una concentración menor (0,1%) y con un tiempo de exposición prolongado (45 min), obteniendo un 70,99% de asepsia en yemas de *Zingiber officinale* tras cuatro semanas de cultivo (64). Pese a que existen diferencias metodológicas y que el estado sanitario del material vegetal también difiere, sus resultados ponen de

manifiesto la importancia del tiempo de residencia del fungicida como un factor determinante de su eficacia, al favorecer una mayor interacción del compuesto activo con los tejidos del explante. En contraste, bajo las condiciones del presente estudio, el tiempo de contacto limitado podría haber restringido la eliminación de contaminantes internos. Esta interpretación resulta coherente con el hecho de que la hidrólisis del Benomilo para generar carbendazim ocurre de manera relativamente lenta; por lo tanto, bajo condiciones de preparación acuosa habituales y tiempos de exposición cortos, la conversión al metabolito activo podría haber sido incompleta, limitando de forma transitoria su disponibilidad biológicamente efectiva (65).

Este comportamiento, caracterizado por una eficacia parcial del Benomilo, coincide con lo reportado en otras especies tropicales. En yemas de plátano (*Musa spp.*), Echenique Quezada y Huanca Cardozo (2022) emplearon Benomilo a una concentración similar (2 mL/L) durante un tiempo de exposición corto (30 s), en combinación con tetraciclina (0,5 g/L), alcanzando únicamente un 55,6% de asepsia tras 45 días de cultivo. Este resultado sugiere que, aun en tejidos meristemáticos y bajo el uso de antibióticos, los tiempos de exposición muy cortos pueden resultar insuficientes para lograr una desinfestación efectiva, lo que respalda la necesidad de ajustar el tiempo de contacto del fungicida según el contexto experimental (66).

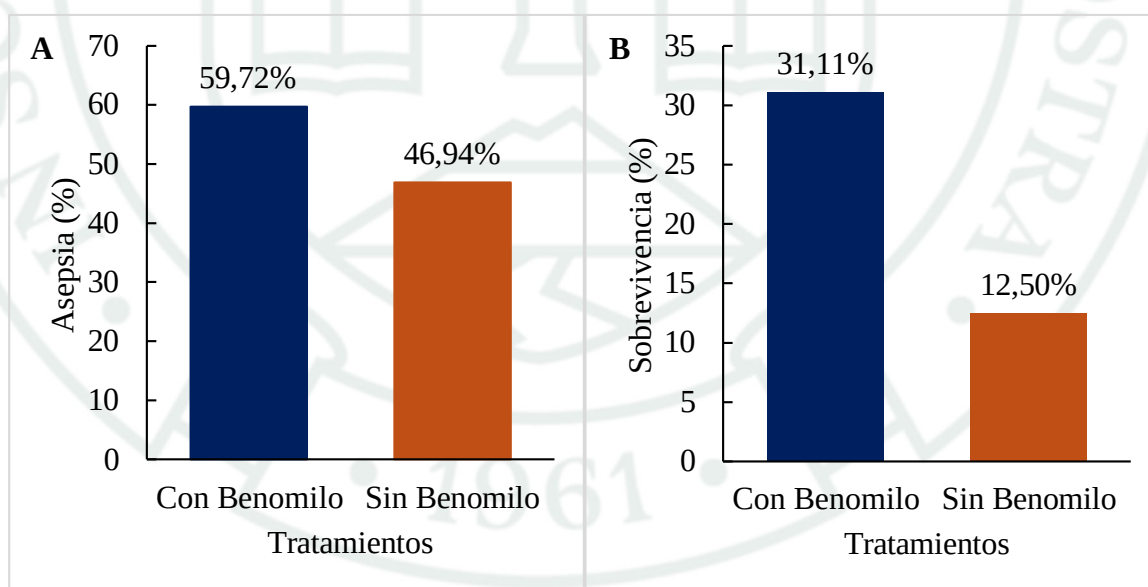


Figura 6. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de *Zingiber officinale* entre tratamientos con y sin Benomilo.

Respecto a la sobrevivencia, la prueba no paramétrica de Mann–Whitney reveló una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con y sin Benomilo ($p <$

0,001). En promedio, los tratamientos que incluyeron Benomilo alcanzaron un 31,11% de sobrevivencia, mientras que aquellos sin fungicida lograron únicamente un 12,50%, lo que representa un incremento del 18,61% (Figura 6B). Si bien este aumento es estadísticamente significativo, su magnitud indica que el efecto del Benomilo, aunque positivo, es moderado y no suficiente por sí solo para garantizar un establecimiento *in vitro* exitoso.

La reducción en la sobrevivencia observada, incluso en los tratamientos con Benomilo, puede atribuirse a la condición sanitaria inicial del material vegetal. Durante la fase de inducción de brotación de los rizomas se evidenciaron signos de deterioro, tales como olor desagradable y la presencia de manchas oscuras en algunos segmentos, lo que sugiere una elevada carga microbiana previa al proceso de desinfestación. Esta condición inicial desfavorable, sumada al corto tiempo de inmersión empleado, habría limitado la eficacia del Benomilo, favoreciendo la persistencia de los contaminantes.

En este contexto, resulta fundamental considerar las condiciones de inducción de brotación con el fin de reducir la carga microbiana inicial, así como evaluar adecuadamente el tiempo de exposición al fungicida, manteniendo siempre un equilibrio entre la eficacia antimicrobiana y el riesgo de fitotoxicidad. Hardjo y Krisnawan (2020) evaluaron distintos protocolos de esterilización en yemas de *Zingiber officinale* var. *rubrum* y observaron que exposiciones prolongadas o combinaciones intensivas de agentes desinfectantes, si bien redujeron la contaminación, ocasionaron una marcada disminución de la viabilidad de los explantes. Incluso el método más eficiente de dicho estudio, que incluyó Benomilo (100 mg/L, 60 min), cefotaxima (200 mg/L, 60 min) y una exposición corta a NaClO, alcanzó únicamente un 20% de explantes axénicos sobrevivientes (67).

En conjunto, los resultados indican que el uso de Benomilo tuvo un efecto positivo y estadísticamente significativo en la desinfestación de explantes de *Zingiber officinale*, reflejado en una mejora de la asepsia. Sin embargo, bajo las condiciones evaluadas, su eficacia fue parcial y estuvo condicionada por la calidad sanitaria del material vegetal de partida, lo cual pudo comprometer la sobrevivencia de tejidos meristemáticos altamente sensibles como los de *Zingiber officinale*.

3.2. Determinación de la concentración de hipoclorito de sodio más efectiva para obtener el mayor número de explantes asépticos de *Zingiber officinale* (jengibre)

El análisis de varianza multifactorial evidenció que la concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) influyó de manera altamente significativa en el porcentaje de asepsia de los explantes de jengibre ($p < 0,001$), lo que indica que las diferencias observadas entre las concentraciones evaluadas responden a un efecto real del desinfectante. Además, la prueba post hoc de Tukey HSD confirmó diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles estudiados ($p < 0,001$), demostrando que las concentraciones de 1%, 1,5% y 2% ejercen efectos diferenciados sobre la asepsia. En promedio, la concentración de NaClO al 2% permitió alcanzar el mayor porcentaje de explantes libres de contaminación (78,33%), seguida por 1,5%, mientras que la concentración de 1% presentó los valores más bajos (Figura 7A).

La mayor eficacia observada con el incremento de la concentración de NaClO puede atribuirse a su mecanismo de acción oxidante. El hipoclorito actúa tanto mediante la forma ionizada predominante (OCl^-), responsable de la oxidación de componentes externos de las células microbianas, como a través del ácido hipocloroso (HOCl), que penetra por difusión pasiva y provoca la inactivación de enzimas, la alteración de membranas y el daño a macromoléculas esenciales como el ADN (68). En este sentido, el aumento de la concentración del desinfectante incrementa la probabilidad de contacto efectivo con los microorganismos presentes en la superficie del explante, favoreciendo la reducción de la contaminación.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Koné et al. (2022), quienes lograron un 71,34% de asepsia empleando NaClO al 2% durante 10 minutos en yemas de jengibre, valor comparable al registrado en el presente estudio (78,33%). Esta concordancia sugiere que la concentración del 2% constituye un nivel eficaz para la desinfestación superficial de explantes de *Zingiber officinale*. Asimismo, la baja asepsia observada con NaClO al 1% (29,17%) coincide con lo reportado por dichos autores (48,34%) (69), reforzando la noción de que concentraciones bajas resultan insuficientes para eliminar la elevada carga microbiana característica de tejidos rizomatosos, cuya superficie irregular y presencia de fisuras limitan la acción de los agentes desinfectantes (70).

No obstante, el incremento de la asepsia no se tradujo en una mejora significativa de la sobrevivencia de los explantes. El análisis no paramétrico de Kruskal–Wallis no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de NaClO

evaluadas ($p = 0,281$). Aunque se observó un aumento de la sobrevivencia entre 1% (16,88%) y 1,5% (24,00%), este valor se mantuvo prácticamente constante al incrementar la concentración a 2% (24,13%) (Figura 7B). Estos resultados evidencian una disociación entre la eficacia antimicrobiana del NaClO y la viabilidad de los tejidos, indicando que una mayor asepsia no garantiza necesariamente un establecimiento *in vitro* exitoso.

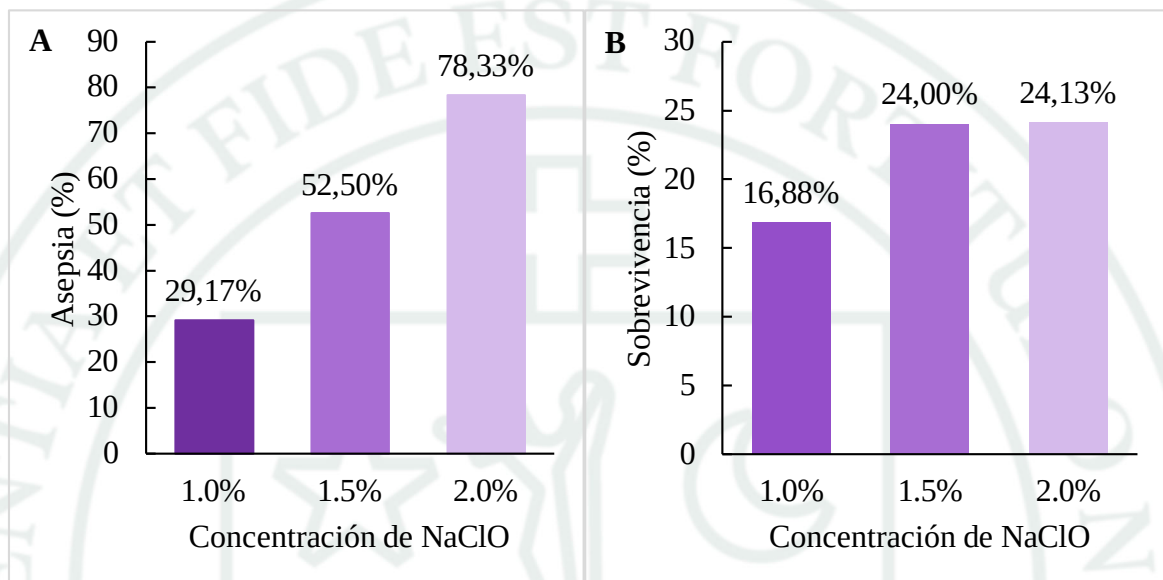


Figura 7. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de *Zingiber officinale* entre 3 concentraciones de NaClO.

Esta disociación puede explicarse en parte por la naturaleza no selectiva del NaClO como agente oxidante. Si bien su acción es efectiva para la eliminación de microorganismos, también puede inducir daño oxidativo en los tejidos vegetales, comprometiendo la integridad celular y la capacidad de recuperación del explante. Estrela et al. (2002) señalan que el NaClO puede generar cloro libre y cloraminas capaces de alterar procesos metabólicos esenciales, afectando la estructura y funcionalidad de los tejidos vegetales y reduciendo su viabilidad (71). En este contexto, incrementos en la concentración del desinfectante mejoran la asepsia hasta un umbral determinado, a partir del cual pueden manifestarse efectos fitotóxicos que limitan la sobrevivencia.

Sin embargo, la sobrevivencia también depende del estado fisiológico y sanitario previo del explante. Por ejemplo, Zahid et al. (2021) reportaron que concentraciones de NaClO equivalentes a 1,5% y 2% aplicadas durante 30 minutos permitieron mantener el 100% de sobrevivencia en explantes de yemas de jengibre, aunque con porcentajes de asepsia moderados (41,25% y 43,75%, respectivamente) (72). Aunque el NaClO puede inducir

daño oxidativo, estudios como Zahid et al. (2021) demuestran que explantes con adecuada condición fisiológica pueden mantener una alta sobrevivencia incluso bajo exposiciones prolongadas.

En contraste, en el presente estudio, la baja sobrevivencia observada en todas las concentraciones evaluadas sugiere que el factor limitante no fue la concentración del desinfectante *per se*, sino la condición sanitaria inicial del material vegetal. Durante la fase de inducción de brotación de los rizomas se registraron signos de deterioro, como olor desagradable y manchas oscuras, lo que sugiere una elevada carga microbiana previa al proceso de desinfestación. Esta condición inicial desfavorable habría incrementado la sensibilidad de los explantes al estrés oxidativo inducido por el NaClO, limitando su capacidad de recuperación tras el tratamiento químico.

En conjunto, los resultados evidencian que el hipoclorito de sodio al 2% fue la concentración más eficaz para reducir la contaminación superficial en explantes de *Zingiber officinale*, logrando mayores niveles de asepsia. Sin embargo, bajo las condiciones experimentales evaluadas, este efecto no se acompañó de un incremento significativo en la sobrevivencia, la cual estuvo principalmente influenciada por la condición sanitaria inicial del material vegetal, más que por la concentración del desinfectante aplicada.

3.3. Evaluación del efecto de la adición de PPM en el medio de introducción para reducir la contaminación y mejorar la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale* (jengibre)

El análisis de varianza multifactorial evidenció que la adición de *Plant Preservative Mixture* (PPM) al medio de cultivo influyó de manera estadísticamente significativa en el porcentaje de asepsia de los explantes de jengibre ($p < 0,001$), lo que indica que las diferencias observadas entre tratamientos con y sin PPM responden a un efecto atribuible directamente al compuesto. En promedio, los tratamientos que incluyeron PPM lograron un 60,28% de asepsia, mientras que aquellos sin PPM alcanzaron un 46,39%, lo que representa una mejora del 13,89% (Figura 8A).

Respecto a la sobrevivencia, la prueba no paramétrica de Mann–Whitney reveló igualmente una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con y sin PPM ($p < 0,001$). En promedio, los tratamientos con PPM alcanzaron un 30,83% de sobrevivencia, mientras que aquellos sin el agente biostático lograron únicamente un

12,78% (Figura 8B). Si bien estos resultados confirman un efecto positivo del PPM sobre ambas variables, la magnitud del incremento en la sobrevivencia fue limitada.

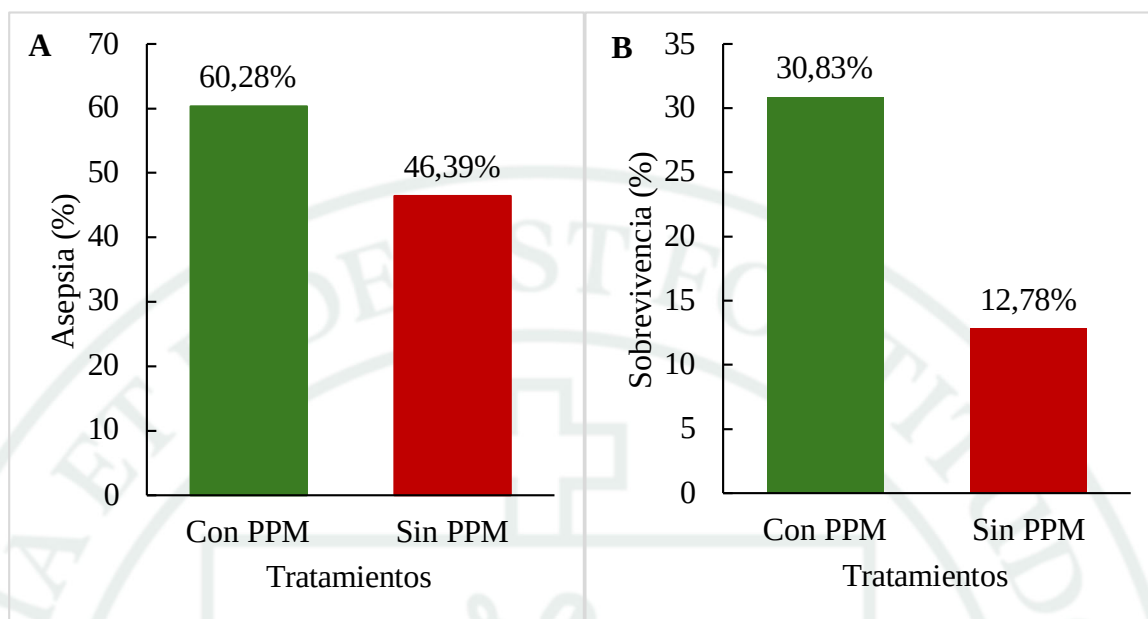


Figura 8. Comparación del porcentaje promedio de asepsia (A) y sobrevivencia (B) en explantes de *Zingiber officinale* entre tratamientos con y sin PPM.

El comportamiento observado puede explicarse por el mecanismo de acción del PPM cuando se emplea a concentraciones inferiores a 2 mL/L, rango en el cual actúa predominantemente como un agente biostático, inhibiendo la proliferación de microorganismos bacterianos y fúngicos sin ejercer un efecto letal directo. Esta acción permite reducir la manifestación visible de la contaminación, pero no garantiza la eliminación completa de microorganismos latentes o endófitos asociados al explante (73).

Los resultados obtenidos concuerdan parcialmente con lo reportado por Zarate et al. (2025), quienes evaluaron el uso de PPM a una concentración de 0,5 mL/L en yemas de jengibre y registraron un 66,7% de asepsia frente a un 60,6% en el medio sin PPM, así como un incremento similar en la sobrevivencia durante las primeras semanas de cultivo (74). No obstante, el efecto observado en dicho estudio fue menos pronunciado que el registrado en la presente investigación, lo que sugiere diferencias en las condiciones iniciales del material vegetal.

En este sentido, las discrepancias entre ambos estudios pueden atribuirse, en parte, a variaciones en la carga microbiana inicial de los explantes. Mientras que en el estudio de Zarate et al. (2025) esta carga habría sido relativamente baja o adecuadamente controlada

mediante protocolos de desinfestación previos, en el presente trabajo la mayor mejora relativa en la asepsia sugiere una carga microbiana inicial más elevada, que permitió una manifestación más evidente del efecto biostático del PPM (75).

Sin embargo, pese a la reducción significativa de la contaminación, la sobrevivencia registrada fue considerablemente menor, incluso en los tratamientos con PPM. Esta respuesta indica que la microflora residual no solo afectó la asepsia del cultivo, sino que habría comprometido la viabilidad fisiológica de los explantes, reduciendo su capacidad de recuperación y establecimiento *in vitro* (76). La variabilidad en la composición y abundancia de microorganismos endófitos asociada al material vegetal de distinta procedencia podría explicar la respuesta diferencial al PPM y la baja sobrevivencia observada (77).

En este contexto, el incremento de la concentración de PPM podría constituir una estrategia para mejorar el control de la contaminación endófito bajo determinadas condiciones. Gu et al. (2022) reportaron que la aplicación de 4 mL/L de PPM durante 14 días permitió alcanzar simultáneamente un 72,22% de asepsia y sobrevivencia en segmentos jóvenes de tallo de *Cnidioscolus aconitifolius* (78), evidenciando que, en ciertos sistemas, concentraciones mayores pueden traducirse en beneficios combinados. No obstante, este incremento debe evaluarse con cautela, considerando el tipo de explante y su estado fisiológico. Digonzelli et al. (2005) demostraron que, en meristemos de caña de azúcar, concentraciones relativamente bajas de PPM (0,250–0,750 mL/L) fueron suficientes para controlar el crecimiento microbiano sin comprometer la sobrevivencia (79). Asimismo, Niedz (1998) evidenció que protoplastos de cítricos recién aislados presentan alta sensibilidad al PPM, mientras que aquellos en proceso de regeneración de la pared celular desarrollan una mayor tolerancia (80).

En conjunto, los resultados obtenidos confirman que la adición de PPM al medio de introducción fue efectiva para reducir la contaminación y mejorar la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale*, cumpliendo el objetivo planteado. No obstante, su efecto sobre la sobrevivencia estuvo condicionado por la carga microbiana inicial y la sensibilidad del tejido vegetal, lo que explica que la mejora en la asepsia no se tradujera en un incremento proporcional de la sobrevivencia de los explantes.

3.4. Evaluación del efecto de la adición del PVP en el medio de introducción para minimizar la fenolización y mejorar la viabilidad de los explantes de *Zingiber officinale* (jengibre)

En promedio, los tratamientos que incluyeron polivinilpirrolidona (PVP) lograron un 2,50% de oxidación fenólica, mientras que aquellos sin PVP alcanzaron un 7,20% (Figura 9A), esta diferencia no pudo ser confirmada estadísticamente debido a la escasa variabilidad de los datos (véase Anexo 1). Respecto a la sobrevivencia, la prueba no paramétrica de Mann–Whitney reveló una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con y sin PVP ($p = 0,023$). En promedio, los tratamientos con PVP alcanzaron un 26,94% de sobrevivencia, mientras que aquellos sin PVP lograron únicamente un 16,67%, lo que representa una mejora del 10% (Figura 9B).

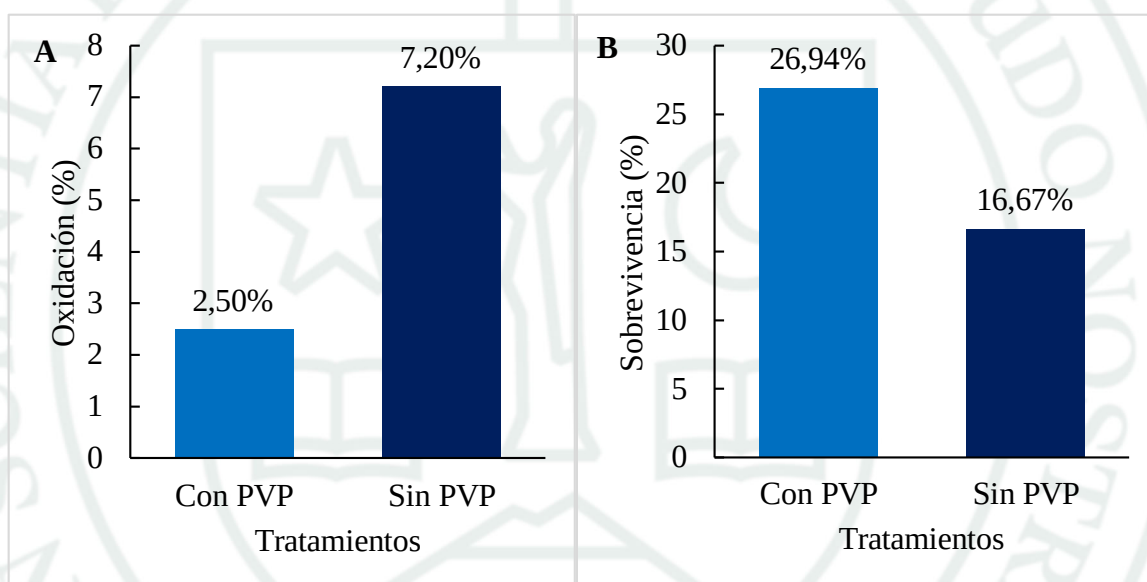


Figura 9. Comparación del porcentaje promedio de oxidación (A) y sobrevivencia (B) en explantes de *Zingiber officinale* entre tratamientos con y sin PVP.

La adición de PVP al medio de cultivo permitió una mejora parcial de la sobrevivencia de los explantes, lo que sugiere un efecto protector durante las etapas iniciales del establecimiento *in vitro*, asociado a su capacidad para atenuar la manifestación de la oxidación fenólica. Este comportamiento concuerda con lo reportado en cultivos *in vitro* de *Paeonia lactiflora*, donde la incorporación de PVP al medio permitió una supresión eficiente del pardeamiento cuando la fenolización constituyó el principal factor limitante del sistema, atribuida a la reducción de la actividad de enzimas oxidativas como la fenilalanina amonio-liasa (PAL) y la polifenoloxidasas (PPO) (81).

En el presente estudio, la relación entre oxidación fenólica, sobrevivencia y eficacia parcial del PVP puede explicarse en parte por la naturaleza bioquímica de los compuestos fenólicos presentes en *Zingiber officinale*. Esta especie se caracteriza por la presencia de gingeroles, metabolitos fenólicos con reconocida actividad antioxidante y antimicrobiana (19). Sin embargo, durante la desinfestación superficial y el establecimiento *in vitro*, la manipulación mecánica del explante y la exposición a agentes químicos como el hipoclorito de sodio y el Benomilo pueden inducir la liberación y posterior oxidación de estos compuestos, contribuyendo a los procesos de fenolización observados.

Bajo estas condiciones, considerando el periodo de evaluación de cuatro semanas, se evidenció que la oxidación fenólica constituyó un proceso transitorio que culminó en necrosis del tejido, lo que indica que el PVP no neutralizó completamente las quinonas tóxicas ni evitó el daño celular acumulado. Adicionalmente, la elevada carga microbiana inicial presente durante la etapa de introducción, la cual no fue completamente controlada durante el proceso de desinfestación, habría limitado significativamente la sobrevivencia de los explantes, reduciendo el impacto del PVP. Dado que este compuesto carece de actividad antimicrobiana, su acción se restringe al control parcial del daño oxidativo, resultando insuficiente bajo condiciones dominadas por factores microbiológicos.

En este contexto, futuros estudios podrían considerar la evaluación de sistemas antioxidantes complementarios al PVP, tales como el ácido ascórbico o la L-cisteína (82), condicionalmente a la implementación previa de un proceso de desinfestación más eficiente. La incorporación de antioxidantes de acción directa podría contribuir a mitigar el estrés oxidativo durante las etapas iniciales del cultivo *in vitro*; sin embargo, su eficacia dependería del control adecuado de la carga microbiana inicial, identificada en el presente estudio como el principal factor limitante de la viabilidad de los explantes.

En conjunto, los resultados indican que, si bien el PVP contribuye a mejorar la sobrevivencia y a atenuar la oxidación fenólica en *Zingiber officinale*, su eficacia depende en gran medida de la eficiencia del proceso de desinfestación inicial, por lo que no constituye una estrategia suficiente por sí sola para garantizar una alta viabilidad de los explantes bajo condiciones de elevada presión microbiana.

3.5. Evaluación del efecto combinado de los factores sobre la asepsia, sobrevivencia, oxidación y necrosis de explantes de *Zingiber officinale*

El análisis de varianza multifactorial (ANOVA) evidenció la presencia de interacciones significativas entre los factores evaluados, particularmente para la variable asepsia, lo que demuestra que la respuesta de los explantes no depende de la acción aislada de cada agente, sino de su interacción funcional dentro del protocolo de desinfestación e introducción *in vitro*.

Las interacciones dobles significativas Benomilo $\times$ PPM ($p < 0,001$), Benomilo $\times$ PVP ($p = 0,010$) y Benomilo $\times$ NaClO ($p = 0,015$) indican que el efecto del Benomilo sobre la asepsia varía de acuerdo con la presencia de otros componentes del sistema. En este contexto, la interacción Benomilo $\times$ NaClO indica que la desinfestación superficial y el control sistémico no son procesos redundantes, sino complementarios, cuyo efecto depende de un balance adecuado entre eficacia antimicrobiana y tolerancia del tejido vegetal mientras que la interacción con PPM pone en evidencia la necesidad de combinar estrategias de control microbiano inmediato con mecanismos de protección prolongada durante el cultivo. Por su parte, la interacción con PVP resalta la importancia de considerar factores asociados al estrés fisiológico del explante, particularmente aquellos relacionados con la oxidación y la necrosis, variables evaluadas de manera complementaria en este estudio.

La detección de una interacción significativa de orden superior entre Benomilo $\times$ PVP $\times$ PPM $\times$ NaClO ($p = 0,025$) confirma que la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale* responde a una dinámica multifactorial compleja. En ese contexto, los tratamientos que incluyeron los cuatro factores (Figura 11), mostraron un perfil fisiológico favorable con bajos niveles de contaminación, oxidación y necrosis y altos porcentajes de sobrevivencia (Figura 10).

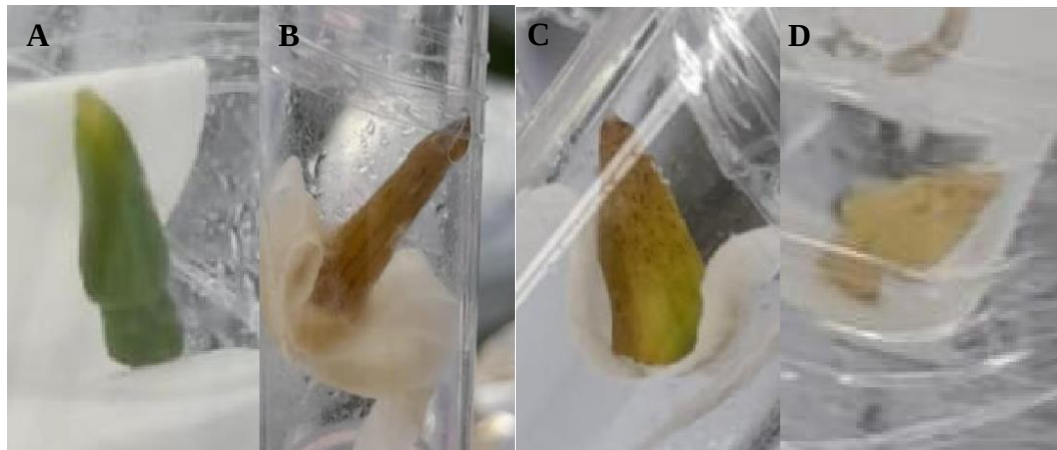


Figura 10. Tipos de alteraciones fisiológicas observadas en los explantes de *Zingiber officinale* durante la fase de establecimiento *in vitro*: (A) aséptico y sobreviviente; (B) contaminado y necrosado; (C) oxidado; (D) vitrificado.

En particular, el Tratamiento 2 (1,5% NaClO) presentó el valor más alto de sobrevivencia (60,00%) y los niveles más bajos de necrosis (33,3%) con un 76,67% de asepsia y 0% de oxidación, lo que sugiere que la concentración de 1,5% de NaClO resultó compatible con la combinación de agentes evaluados bajo las condiciones de este estudio. Esto concuerda con los autores Gheisari y Miri (2017) quienes utilizaron el fungicida Captán, etanol e hipoclorito de sodio para desinfectar bulbos de jacinto y afirmaron que debido a que las partes subterráneas de las plantas se encontraban altamente infectadas, una combinación de varios agentes esterilizantes mostró mejores efectos sinérgicos en el control de la contaminación fúngica y bacteriana (83).

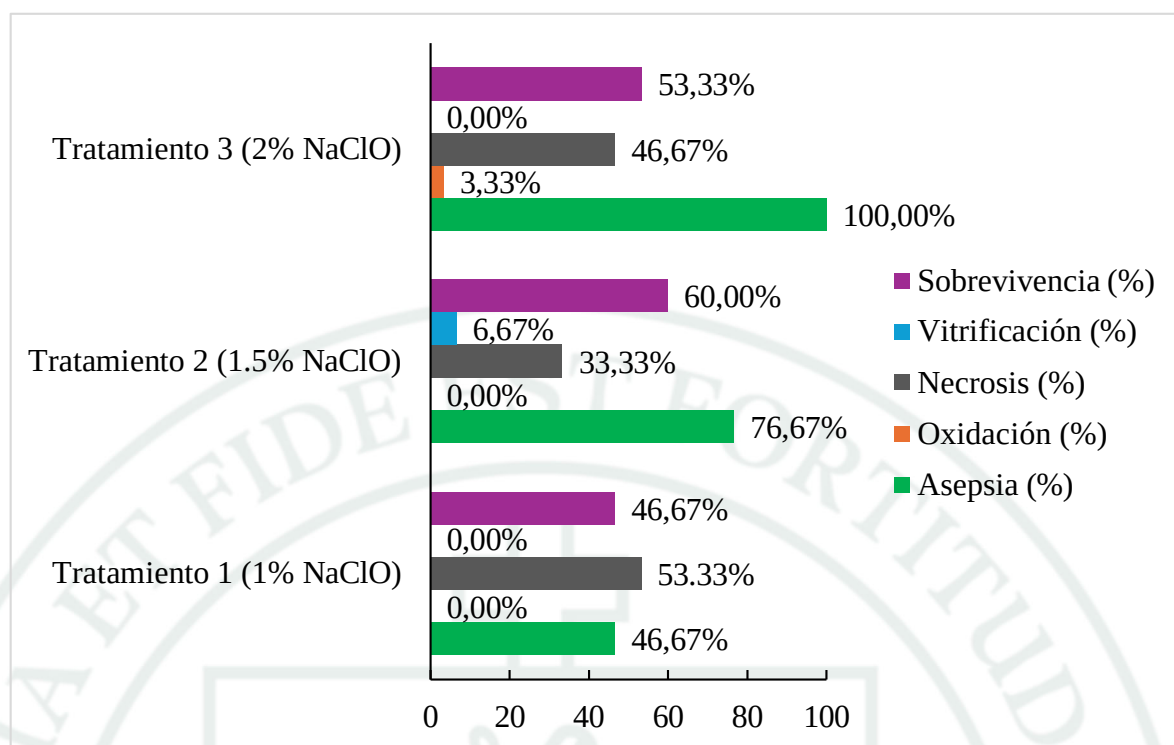


Figura 11. Evaluación comparativa de variables fisiológicas en los tres tratamientos que incluyen simultáneamente Benomilo, PVP, PPM y NaClO a diferentes concentraciones.

Esta evidencia respalda que la combinación de los cuatro factores contribuye a mejorar de manera integral el estado fisiológico de los explantes durante su establecimiento *in vitro*, por lo que el Tratamiento 2 se perfila como una opción adecuada dentro del conjunto de tratamientos evaluados para la introducción y establecimiento del jengibre. Cabe señalar que la vitrificación no fue analizada estadísticamente debido a la escasa cantidad de datos disponibles, y que la brotación no fue evaluada, ya que ninguno de los tratamientos mostró esta respuesta durante el periodo de cultivo *in vitro*. A pesar del uso de medio MS en estado líquido, en el presente estudio se registraron tasas muy bajas de vitrificación en los explantes de *Zingiber officinale*. Una posible explicación es la ausencia de fitohormonas, en particular citoquininas, las cuales suelen estar asociadas con la inducción de hiperhidricidad (84). Al no incorporarse este tipo de reguladores del crecimiento, es probable que los tejidos hayan mantenido una mayor estabilidad fisiológica, reduciendo así el riesgo de vitrificación. No obstante, esta misma ausencia de reguladores del crecimiento también limitó la brotación y el crecimiento activo de los explantes, dado que la organogénesis en cultivos *in vitro* requiere un equilibrio adecuado entre auxinas y citoquininas.

Desde una perspectiva aplicada, estos hallazgos tienen implicaciones directas para el desarrollo de protocolos más eficientes y reproducibles de micropropagación de jengibre, así como para futuras investigaciones orientadas a ajustar concentraciones, tiempos de exposición o sustituir agentes químicos por alternativas con menor impacto fisiológico, manteniendo el equilibrio entre asepsia y viabilidad del material vegetal.



CONCLUSIONES

- El Benomilo mejoró significativamente la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale*, incrementando el porcentaje de explantes asépticos de 46,94% a 59,72%, y se asoció con una mayor sobrevivencia respecto a los tratamientos sin Benomilo (31,11% frente a 12,50%). Sin embargo, su eficacia fue parcial y dependió de las condiciones de aplicación y del estado sanitario inicial del material vegetal.
- La concentración de hipoclorito de sodio al 2% fue la más efectiva para mejorar la asepsia de los explantes de *Zingiber officinale*, alcanzando un 78,33% de explantes asépticos. Sin embargo, bajo las condiciones experimentales evaluadas, este efecto no se tradujo en un incremento significativo de la sobrevivencia, la cual estuvo principalmente condicionada por la calidad sanitaria inicial del material vegetal, más que por la concentración del desinfectante aplicada.
- La adición de PPM al medio de cultivo incrementó significativamente la asepsia en un 14% comparado con los tratamientos sin PPM (60,28% vs 46,39%). También mejoró la sobrevivencia de los explantes de 12,78% a 30,83%. No obstante, su efecto sobre la sobrevivencia estuvo condicionado por la carga microbiana inicial y la sensibilidad del tejido vegetal.
- Aunque el PVP mostró una tendencia hacia la reducción de la oxidación fenólica (2,50% vs 7,20% sin PVP), esta diferencia no fue estadísticamente significativa. No obstante, el PVP sí contribuyó positivamente a la sobrevivencia general de los explantes (26,94% vs 16,67% sin PVP), lo que sugiere un efecto protector parcial durante el establecimiento *in vitro*, condicionado por la eficacia del proceso de desinfestación inicial.
- La combinación simultánea de los cuatro factores (Benomilo + PPM + PVP + NaClO al 1,5%) mostró el mejor desempeño integral. En este contexto, el Tratamiento 2 resultó ser el más eficaz para la introducción y el establecimiento *in vitro* de *Zingiber officinale*, alcanzando 76,67% de asepsia, 60,00% de sobrevivencia, 33,33% de necrosis, 6,67% de vitrificación y ausencia de oxidación fenólica (0%).

RECOMENDACIONES

- Se recomienda emplear rizomas con certificación fitosanitaria en estudios futuros, a fin de reducir la variabilidad genética y sanitaria del material vegetal y mejorar la respuesta *in vitro*.
- Se recomienda evaluar transferencias tempranas a medios frescos para disminuir la acumulación de compuestos fenólicos y mejorar la sobrevivencia de los explantes.
- Se recomienda investigar el uso de medios semisólidos como alternativa al medio líquido para mejorar la adaptación de los explantes.
- Se recomienda explorar concentraciones intermedias de Benomilo (0.1% - 0.15%) combinadas con tiempos de exposición más prolongados (30 - 60 minutos), buscando el punto de inflexión donde se maximice la absorción sistémica sin inducir necrosis tisular.
- Se recomienda evaluar en estudios futuros la aplicación temporal de PPM a concentraciones biocidas para el control de contaminación endógena.
- Se recomienda que futuros estudios evalúen la incorporación de antioxidantes de acción directa complementarios al PVP, como el ácido ascórbico o la L-cisteína, condicionando su aplicación a una desinfestación inicial más eficiente que permita controlar la carga microbiana, principal factor limitante de la sobrevivencia de los explantes en el presente estudio.
- Se recomienda realizar ensayos posteriores que incluyan reguladores de crecimiento con el fin de promover la brotación y regeneración de los explantes en etapas posteriores del cultivo *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Cuadros A. Perú es el tercer exportador de jengibre (kion) en el mundo: el 95% de su producción exportada proviene de Junín [Internet]. La República. 2025 ene 31 [citado 2025 feb 27]. Disponible en: <https://larepublica.pe/economia/2025/01/31/peru-es-el-tercer-exportador-de-jengibre-kion-en-el-mundo-el-95-de-su-produccion-exportada-proviene-de-junin-atmp-633082>
- (2) Nair KP. Turmeric (*Curcuma longa* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) - world's invaluable medicinal spices: the agronomy and economy of turmeric and ginger. Cham: Springer International Publishing; 2020.
- (3) La producción de jengibre en Perú disminuirá un 20% y los precios serán más altos [Internet]. Agraria.pe. [citado 2024 sep 30]. Disponible en: <https://agraria.pe/index.php/noticias/la-produccion-de-jengibre-en-peru-disminuira-un-20-y-los-pre-35758>
- (4) ITIS - report: *Zingiber officinale* [Internet]. Integrated Taxonomic Information System. [citado 2024 sep 29]. Disponible en: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42402&print_version=PRT#null
- (5) Kumari M, Kumar M, Solankey SS. *Zingiber officinale* Roscoe: ginger. En: [obra no especificada]. 2020. p. 605-21.
- (6) Parry JW. Spices: the morphology, histology and chemistry. vol. 2. New York: Chemical Pub. Co.; 1969.
- (7) Rosengarten F Jr. The book of spices. Wynnewood (PA): Livingston Pub. Co.; 1969.
- (8) Ravindran PN, Babu KN, editores. Ginger: the genus *Zingiber*. Boca Raton: CRC Press; 2016.
- (9) World ginger production by country [Internet]. AtlasBig. [citado 2025 mar 3]. Disponible en: <https://www.atlasbig.com/countries-ginger-production>
- (10) Cruz Soriano J. Palabras chinas en el diccionario de la Academia de la Lengua. Bol Acad Peruana Leng. 2002;191-9.
- (11) Holttum RE. The Zingiberaceae of the Malay Peninsula. Gard Bull Straits Settlm. 1950;13:1-249.
- (12) *Zingiber officinale* Roscoe [Internet]. PlantIllustrations.org. [citado 2025 jul 2]. Disponible en: http://www.plantillustrations.org/illustration.php?id_illustration=195465

- (13) Lin X, Xiao B, Liu J, Cao M, Yang Z, Zhao L, et al. An acidic heteropolysaccharide rich in galactose and arabinose derived from ginger: structure and dynamics. *Food Biosci.* 2023;56:103127.
- (14) Liao D, Cheng C, Liu J, Zhao L, Huang D, Chen G. Characterization and antitumor activities of polysaccharides obtained from ginger (*Zingiber officinale*) by different extraction methods. *Int J Biol Macromol.* 2020;152:894-903.
- (15) Ajayi OB, Akomolafe SF, Akinyemi FT. Food value of two varieties of ginger (*Zingiber officinale*) commonly consumed in Nigeria. *Int Sch Res Notices.* 2013;2013:359727.
- (16) Oforma CC, Udourioh GA, Ojinnaka CM. Characterization of essential oils and fatty acids composition of stored ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *J Appl Sci Environ Manage.* 2019;23(12):2231-8.
- (17) Pandotra P, Viz B, Ram G, Gupta AP, Gupta S. Multi-elemental profiling and chemometric validation revealed nutritional qualities of *Zingiber officinale*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2015;114:222-31.
- (18) Abara PN, Adjero LA, Nwachukwu MO, Osinomumu ID. Differentiation between two spices: *Zingiber officinale* (ginger) and *Curcuma longa* (turmeric); their proximate, mineral and vitamin contents. *Int J Res Rev Pharm Appl Sci.* 2021;11(1):26-35.
- (19) Abdullahi A, Khairulmazmi A, Yasmeen S, Ismail IS, Norhayu A, Sulaiman MR, et al. Phytochemical profiling and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against important phytopathogens. *Arab J Chem.* 2020;13(11):8012-25.
- (20) Ghafoor K, Al-Juhaimi F, Özcan MM, Uslu N, Babiker EE, Mohamed Ahmed IA. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT.* 2020;126:109354.
- (21) Promdam N, Panichayupakaranant P. -Gingerol: a narrative review of its beneficial effect on human health. *Food Chem Adv.* 2022;1:100043.
- (22) Tanaka K, Arita M, Sakurai H, Ono N, Tezuka Y. Analysis of chemical properties of edible and medicinal ginger by metabolomics approach. *Biomed Res Int.* 2015;2015:671058.
- (23) Li N, Li X, Deng L, Yang H, Gong Z, Wang Q, et al. 6-Shogaol inhibits the proliferation, apoptosis, and migration of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via the PI3K/AKT/NF- κ B pathway. *Phytomedicine.* 2023;109:154562.

- (24) Jiang H, Sólyom AM, Timmermann BN, Gang DR. Characterization of gingerol-related compounds in ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2005;19(20):2957-64.
- (25) Islam M, Hossain A, Rahman MA, Khatun MA, Shahjalal M, Hossain MA, et al. Potentiality of ginger extract as natural preservative for raw tilapia fish (*Oreochromis mossambicus*) during storage at refrigerated temperature. *J Food Process Preserv*. 2022;46(7):e16729.
- (26) Apariman S, Ratchanon S, Wiriyasirivej B. Effectiveness of ginger for prevention of nausea and vomiting after gynecological laparoscopy. *J Med Assoc Thai*. 2006;89(12):2003-9.
- (27) Aryaeian N, Shahram F, Mahmoudi M, Tavakoli H, Yousefi B, Arablou T. The effect of ginger supplementation on some immunity and inflammation intermediate genes expression in patients with active rheumatoid arthritis. *Gene*. 2019;698:179-85.
- (28) Rayati F, Hajmanouchehri F, Najafi E. Comparison of anti-inflammatory and analgesic effects of ginger powder and ibuprofen in postsurgical pain model: a randomized, double-blind, case-control clinical trial. *Dent Res J (Isfahan)*. 2017;14(1):46-50.
- (29) Meysami M, Rahaie M, Ebrahimi A, Samiee F. Four matrix metalloproteinase genes involved in murine breast cancer affected by ginger extract. *Gene Rep*. 2021;25:101332.
- (30) Seif M, Abd El-Aziz T, Sayed M, Wang Z. *Zingiber officinale* ethanolic extract attenuates oxidative stress, steroidogenic gene expression alterations, and testicular histopathology induced by sodium arsenite in male rats. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(16):19783-98.
- (31) Hassan A, Abd El-Salam HS, Hassan AA. Phytochemicals boost anti-inflammatory effect against gamma radiation: activities of ginger and coriander extracts. *Arab J Nucl Sci Appl*. 2017;50(1):126-38.
- (32) El Gayar MH, Aboromia MMM, Ibrahim NA, Abdel Hafiz MH. Effects of ginger powder supplementation on glycemic status and lipid profile in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Obes Med*. 2019;14:100094.
- (33) Altman RD, Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2001;44(11):2531-8.
- (34) Fahmi A, Hassanen N, Abdur-Rahman M, Shams-Eldin E. Phytochemicals,

- antioxidant activity and hepatoprotective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on diethylnitrosamine toxicity in rats. *Biomarkers*. 2019;24(5):436-47.
- (35) Jengibre peruano: exportación arrancó el 2025 en rojo, ¿qué pasó? [Internet]. *Gestión.pe*. 2025 [citado 2025 mar 2]. Disponible en: <https://gestion.pe/economia/kion-jengibre-peruano-exportacion-arranco-el-2025-en-rojo-que-paso-agroexportaciones-noticia/>
- (36) Meenu G, Kaushal M. Diseases infecting ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review. *Agric Rev*. 2017;38(4):307-16.
- (37) Gamborg OL, Phillips GC, editores. *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Berlin: Springer; 1995.
- (38) Sharry S, Adema M, Abedini W. *Plantas de probeta: manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. Buenos Aires: Hemisferio Sur; 2015.
- (39) Gamborg OL, Murashige T, Thorpe TA, Vasil IK. Plant tissue culture media. *In Vitro*. 1976;12(7):473-85.
- (40) Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 1962;15(3):473-97.
- (41) Hartmann HT, Kester DE, Davies FT Jr, Geneve RL. *Hartmann & Kester's plant propagation: principles and practices*. 8th ed. Boston: Pearson; 2014.
- (42) Sharma HP. *Plant tissue culture: totipotency to transgenic*. Jodhpur: Agrobios (India); 2012.
- (43) Neumann KH, Kumar A, Imani J. *Plant cell and tissue culture - a tool in biotechnology: basics and application*. Cham: Springer; 2019.
- (44) Ko WH, Su CC, Chen CL, Chao CP. Control of lethal browning of tissue culture plantlets of Cavendish banana cv. Formosana with ascorbic acid. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2009;96(2):137-41.
- (45) Krishna H, Sairam RK, Singh SK, Patel VB, Sharma RR, Grover M, et al. Mango explant browning: effect of ontogenic age, mycorrhization and pre-treatments. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2008;118(2):132-8.
- (46) Abdelwahd R, Hakam N, Labhilili M, Udupa SM. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics in *in vitro* plantlet regeneration of faba bean. *Afr J Biotechnol*. 2008;7(8):997-1002.
- (47) Nishchal N, Mir H, Rani R, Pal AK. Effect of antioxidants in controlling phenol exudation in micropropagation of litchi cv. Purbi. *Curr J Appl Sci Technol*. 2018;31(4):1-7.

- (48) García E, Lorente P, Marín JA, Andreu P, Arbeloa A. Factores que afectan a la necrosis apical de brotes de *Pistacia vera* L. cultivados *in vitro*. Acta Hortic. 2007
- (49) Cid M, Pina D, Capote I, Escalona M, Daquinta M. Estrategias para disminuir la necrosis apical en la multiplicación y el enraizamiento *in vitro* del pistacho. Rev Colomb Biotechnol. 2016;18(2):97-105.
- (50) Castillo A. Aplicación de la biotecnología a la producción de frutales de carozo en Uruguay. Montevideo: INIA
- (51) Gaspar T. Vitrication in micropropagation. En: Bajaj YPS, editor. Biotechnology in agriculture and forestry. vol. 17. High-tech and micropropagation VI. Berlin: Springer; 1991. p. 116-26.
- (52) Bhatia S, Sharma K. Micropropagation. En: Bhatia S, Sharma K, editores. Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences. Amsterdam: Academic Press; 2015. p. 361-8.
- (53) Dubey RK, Singh AK. Plant biotechnology: importance of plant tissue culture, applications and advantages. Eur Acad Res. 2015;3(9):1126-43.
- (54) Bhatia S. Application of plant biotechnology. En: Bhatia S, Sharma K, editores. Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences. Amsterdam: Academic Press; 2015. p. 157-207.
- (55) Bhatia S, Sharma K. Plant tissue culture-based industries. En: Bhatia S, Sharma K, editores. Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences. Amsterdam: Academic Press; 2015. p. 405-17.
- (56) Debnath M, Malik CP, Bisen PS. Micropropagation: a tool for the production of high quality plant-based medicines. Curr Pharm Biotechnol. 2006;7(1):33-49.
- (57) Zhou Y, Xu J, Zhu Y, Duan Y, Zhou M. Mechanism of action of the benzimidazole fungicide on *Fusarium graminearum*: interfering with polymerization of monomeric tubulin but not polymerized microtubule. Phytopathology. 2016;106(8):807-13.
- (58) Yang C, Hamel C, Vujanovic V, Gan Y. Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. ISRN Ecol. 2011;2011:130640.
- (59) Choi JH, Nah JY, Lee MJ, Yim SB, Jang JY, Lee T, et al. Fungal diversity in ginger and effect of storage conditions on occurrence of *Fusarium* and its mycotoxins. Food Control. 2024;165:110631.
- (60) Sahu PK, Tilgam J, Mishra S, Hamid S, Gupta A, Jayalakshmi K, et al. Surface sterilization for isolation of endophytes: ensuring what (not) to grow. J Basic Microbiol. 2022;62(6):647-68.

- (61) Hauptmann RM, Widholm JM, Paxton JD. Benomyl: a broad spectrum fungicide for use in plant cell and protoplast culture. *Plant Cell Rep.* 1985;4(4):179-81.
- (62) Dana MA, Hashemi SJ, Ghazvini RD, Khodavesi S, Modiri M, Nazemi L, et al. Effect of benomyl and diazinon on acquired azole resistance in *Aspergillus flavus* and expression of *mdr1* and *cyp51c* genes. *Curr Med Mycol.* 2019;5(2):27-34.
- (63) Vela-Corcía D, Romero D, de Vicente A, Pérez-García A. Analysis of β -tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance. *Sci Rep.* 2018;8(1):7161.
- (64) Manisha T, Vishal S, Garima K. *In vitro* production of disease free planting material of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) - a single step procedure. *Res J Biotechnol.* 2018;13(3):48-52.
- (65) Helliker PE. Benomyl risk characterization document. Sacramento (CA): California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation; 1999.
- (66) Echenique Quezada MA, Huanca Cardozo W. Evaluación de antibióticos y fungicidas, en la introducción *in vitro* de banano (*Musa acuminata*) en la Estación Experimental Sapecho. *Rev Apthapi.* 2022;8(3):2410-7.
- (67) Hardjo PH, Krisnawan AH. Rhizome buds disinfection for preparation of red ginger (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) *in vitro* culture. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana).* 2020;3(1):19-26.
- (68) Nizer WS da C, Inkovskiy V, Overhage J. Surviving reactive chlorine stress: responses of Gram-negative bacteria to hypochlorous acid. *Microorganisms.* 2020;8(8):1220.
- (69) Koné D, Kouadio OKS, Silué O, N'guessan AR, Yeo N, Kouakou TH. Optimization of bud disinfection technique and influence of growth regulators on micropropagation in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Int J Biol Chem Sci.* 2022;16(6):2892-904.
- (70) Seran TH. *In vitro* propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) through direct organogenesis: a review. *Pak J Biol Sci.* 2013;16(24):1826-35.
- (71) Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):113-7.
- (72) Zahid NA, Jaafar HZE, Hakimian M. Micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) 'Bentong' and evaluation of its secondary metabolites and antioxidant activities compared with the conventionally propagated plant. *Plants.* 2021;10(4):692.

- (73) Plant preservative mixture (PPM™) [Internet]. Plant Cell Technology. [citado 2025 jun 21]. Disponible en: <https://plantcelltechnology.com/products/plant-preservative-mixture-ppm>
- (74) Zarate I, Bustos M, Garro O, Maguna F, Cristian H. Optimización del tratamiento de explantes y su influencia en la micropropagación *in vitro* de *Zingiber officinale*. Revista de Ciencias Básicas y Aplicadas [Internet]. 5 de octubre de 2025 [citado 2026 ene 15];3:20. Disponible en: https://revistas.uncaus.edu.ar/index.php/revista_ciencia_interior/article/view/73
- (75) Huang K, Sun X, Zou Y, Li H, Xu P, Zhang W, et al. Comparison of the endophytic bacterial microbiota of asymptomatic and symptomatic ginger rhizomes during the activation of adventitious bud development. Plant Dis. 2022;106(9):2470-9.
- (76) Huang K, Sun X, Li Y, Xu P, Li N, Wu X, et al. Fusarium as potential pathogenic fungus of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) wilt disease. NPJ Sci Food. 2024;8(1):72.
- (77) Mengs B. Control of contamination and explants phenolics in ginger accession (*Zingiber officinale* Rosc.) *in vitro* cultures. J Adv Bot Zool Res. 2018;8(9):1-6.
- (78) Gu M, Li Y, Jiang H, Zhang S, Que Q, Chen X, et al. Efficient *in vitro* sterilization and propagation from stem segment explants of *Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst, a multipurpose woody plant. Plants. 2022;11(15):2005.
- (79) Digonzelli P, Díaz L, Carrizo de Bellone S. Uso de PPM (Plant Preservative Mixture) para controlar contaminantes bacterianos en la multiplicación *in vitro* de caña de azúcar. Rev Fac Agron (La Plata). 2005;22(1):23-33.
- (80) Niedz RP. Using isothiazolone biocides to control microbial and fungal contaminants in plant tissue cultures. HortTechnology. 1998;8(4):598-601.
- (81) Cai X, Wei H, Liu C, Ren X, Thi LT, Jeong BR. Synergistic effect of NaCl pretreatment and PVP on browning suppression and callus induction from petal explants of *Paeonia lactiflora* Pall. 'Festival Maxima'. Plants. 2020;9(3):346.
- (82) Permadi N, Akbari SI, Prismantoro D, Indriyani NN, Nurzaman M, Alhasnawi AN, et al. Traditional and next-generation methods for browning control in plant tissue culture: current insights and future directions. Curr Plant Biol. 2024;38:100339.
- (83) Gheisari M, Miri SM. *In vitro* callus induction and bulblet regeneration of hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.). Plant Cell Biotechnol Mol Biol. 2017;18(4):145-55.
- (84) Echenique V, Rubinstein C, Hopp LE, Mroginski G, Levitus E. Biotecnología y mejoramiento vegetal II [Internet]. ArgenBio. Disponible en:



ANEXOS

Anexo 1. Resultados experimentales de las variables evaluadas en 24 tratamientos con tres repeticiones, tras 4 semanas de cultivo *in vitro*.

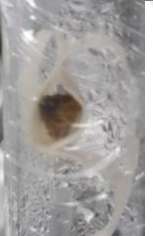
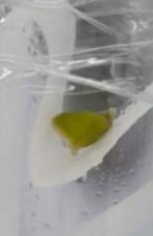
Tratamiento	Benomilo	PPM	PVP	Concentración de NaClO (%)	Repetición	Asepsia (%)	Oxidación (%)	Necrosis (%)	Vitrificación (%)	Sobrevivencia (%)	Brotación (%)
1	Sí	Sí	Sí	1.0	1	40	0	60	0	40	0
	Sí	Sí	Sí	1.0	2	50	0	50	0	50	0
	Sí	Sí	Sí	1.0	3	50	0	50	0	50	0
2	Sí	Sí	Sí	1.5	1	70	0	30	0	70	0
	Sí	Sí	Sí	1.5	2	80	0	40	10	50	0
	Sí	Sí	Sí	1.5	3	80	0	30	10	60	0
3	Sí	Sí	Sí	2.0	1	100	0	50	0	50	0
	Sí	Sí	Sí	2.0	2	100	10	40	0	60	0
	Sí	Sí	Sí	2.0	3	100	0	50	0	50	0
4	Sí	Sí	No	1.0	1	20	0	80	0	20	0
	Sí	Sí	No	1.0	2	30	10	70	0	30	0
	Sí	Sí	No	1.0	3	30	0	80	0	20	0
5	Sí	Sí	No	1.5	1	40	10	60	0	40	0
	Sí	Sí	No	1.5	2	50	10	60	0	40	0
	Sí	Sí	No	1.5	3	50	10	60	0	40	0
6	Sí	Sí	No	2.0	1	80	0	70	0	30	0
	Sí	Sí	No	2.0	2	90	0	60	0	40	0
	Sí	Sí	No	2.0	3	90	10	70	0	30	0
7	Sí	No	Sí	1.0	1	30	0	80	0	20	0
	Sí	No	Sí	1.0	2	40	0	70	0	30	0
	Sí	No	Sí	1.0	3	30	0	80	0	20	0
8	Sí	No	Sí	1.5	1	70	0	80	30	30	0
	Sí	No	Sí	1.5	2	60	0	70	20	10	0

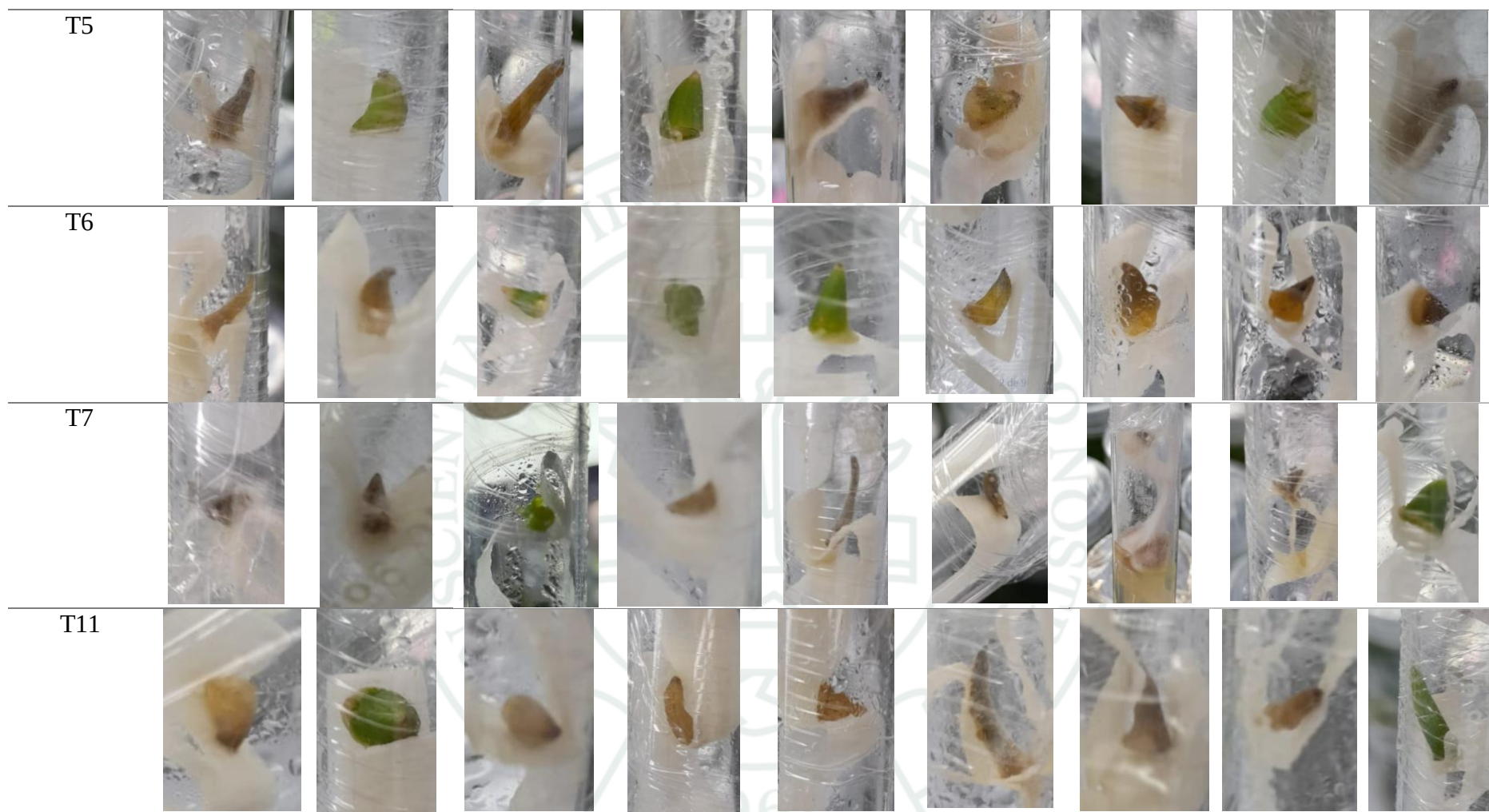
9	Sí	No	Sí	1.5	3	70	0	70	30	0	0
	Sí	No	Sí	2.0	1	90	0	70	0	30	0
	Sí	No	Sí	2.0	2	90	0	60	10	30	0
	Sí	No	Sí	2.0	3	90	0	70	10	20	0
10	Sí	No	No	1.0	1	20	0	100	0	0	0
	Sí	No	No	1.0	2	30	0	90	0	10	0
	Sí	No	No	1.0	3	20	0	100	0	0	0
11	Sí	No	No	1.5	1	50	10	60	0	20	0
	Sí	No	No	1.5	2	60	10	50	0	40	0
	Sí	No	No	1.5	3	40	10	60	0	10	0
12	Sí	No	No	2.0	1	70	10	40	20	30	0
	Sí	No	No	2.0	2	70	20	40	20	30	0
	Sí	No	No	2.0	3	70	10	50	20	20	0
	No	Sí	Sí	1.0	1	40	0	80	0	20	0
13	No	Sí	Sí	1.0	2	50	10	70	0	30	0
	No	Sí	Sí	1.0	3	40	0	80	0	20	0
	No	Sí	Sí	1.5	1	60	0	70	10	20	0
14	No	Sí	Sí	1.5	2	70	0	60	10	30	0
	No	Sí	Sí	1.5	3	60	0	70	10	20	0
	No	Sí	Sí	2.0	1	80	10	50	0	40	0
15	No	Sí	Sí	2.0	2	90	10	50	0	40	0
	No	Sí	Sí	2.0	3	80	10	60	0	30	0
	No	Sí	No	1.0	1	30	0	80	10	10	0
16	No	Sí	No	1.0	2	40	0	70	10	20	0
	No	Sí	No	1.0	3	30	0	80	10	10	0
	No	Sí	No	1.5	1	40	0	80	10	10	0
17	No	Sí	No	1.5	2	50	10	70	10	20	0
	No	Sí	No	1.5	3	40	0	80	10	10	0
	No	Sí	No	2.0	1	70	10	80	20	0	0
18	No	Sí	No	2.0	2	80	10	70	10	10	0

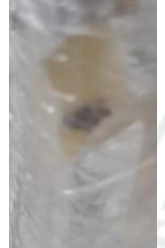
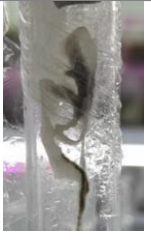
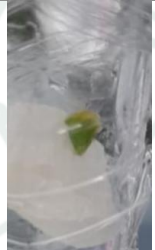
19	No	Sí	No	2.0	3	70	10	80	10	0	0
	No	No	Sí	1.0	1	20	0	100	10	0	0
	No	No	Sí	1.0	2	30	0	90	10	0	0
	No	No	Sí	1.0	3	20	0	100	10	0	0
20	No	No	Sí	1.5	1	40	0	90	0	10	0
	No	No	Sí	1.5	2	50	0	80	0	20	0
	No	No	Sí	1.5	3	30	0	90	0	10	0
21	No	No	Sí	2.0	1	60	20	90	0	0	0
	No	No	Sí	2.0	2	70	10	80	0	10	0
	No	No	Sí	2.0	3	50	10	90	0	0	0
22	No	No	No	1.0	1	0	10	100	0	0	0
	No	No	No	1.0	2	10	0	90	0	10	0
	No	No	No	1.0	3	0	10	100	0	0	0
23	No	No	No	1.5	1	30	10	80	10	0	0
	No	No	No	1.5	2	40	10	70	10	10	0
	No	No	No	1.5	3	30	10	80	10	10	0
24	No	No	No	2.0	1	60	10	80	10	0	0
	No	No	No	2.0	2	70	10	70	10	20	0
	No	No	No	2.0	3	60	30	80	10	10	0

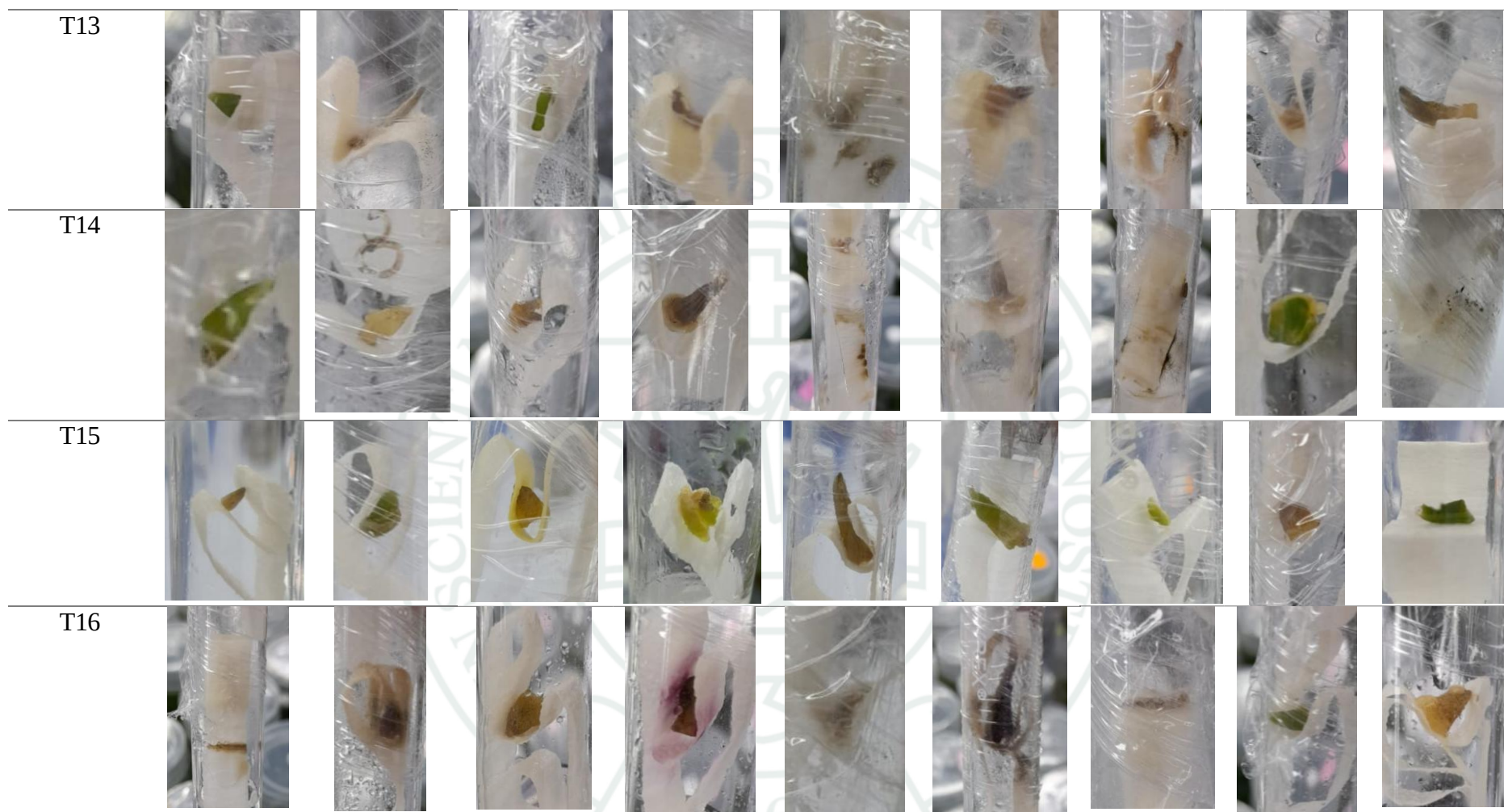
Nota: “Sí” indica la presencia del factor correspondiente en el tratamiento, mientras que “No” indica su ausencia.

Anexo 2. Imágenes representativas de explantes correspondientes a los diferentes tratamientos.

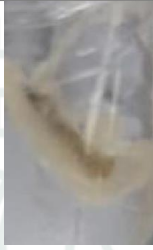
Tratamiento	Réplica 1			Réplica 2			Réplica 3		
	Unidad 1	Unidad 2	Unidad 3	Unidad 1	Unidad 2	Unidad 3	Unidad 1	Unidad 2	Unidad 3
T1									
T2									
T3									
T4									



T12									
T10									
T8									
T9									



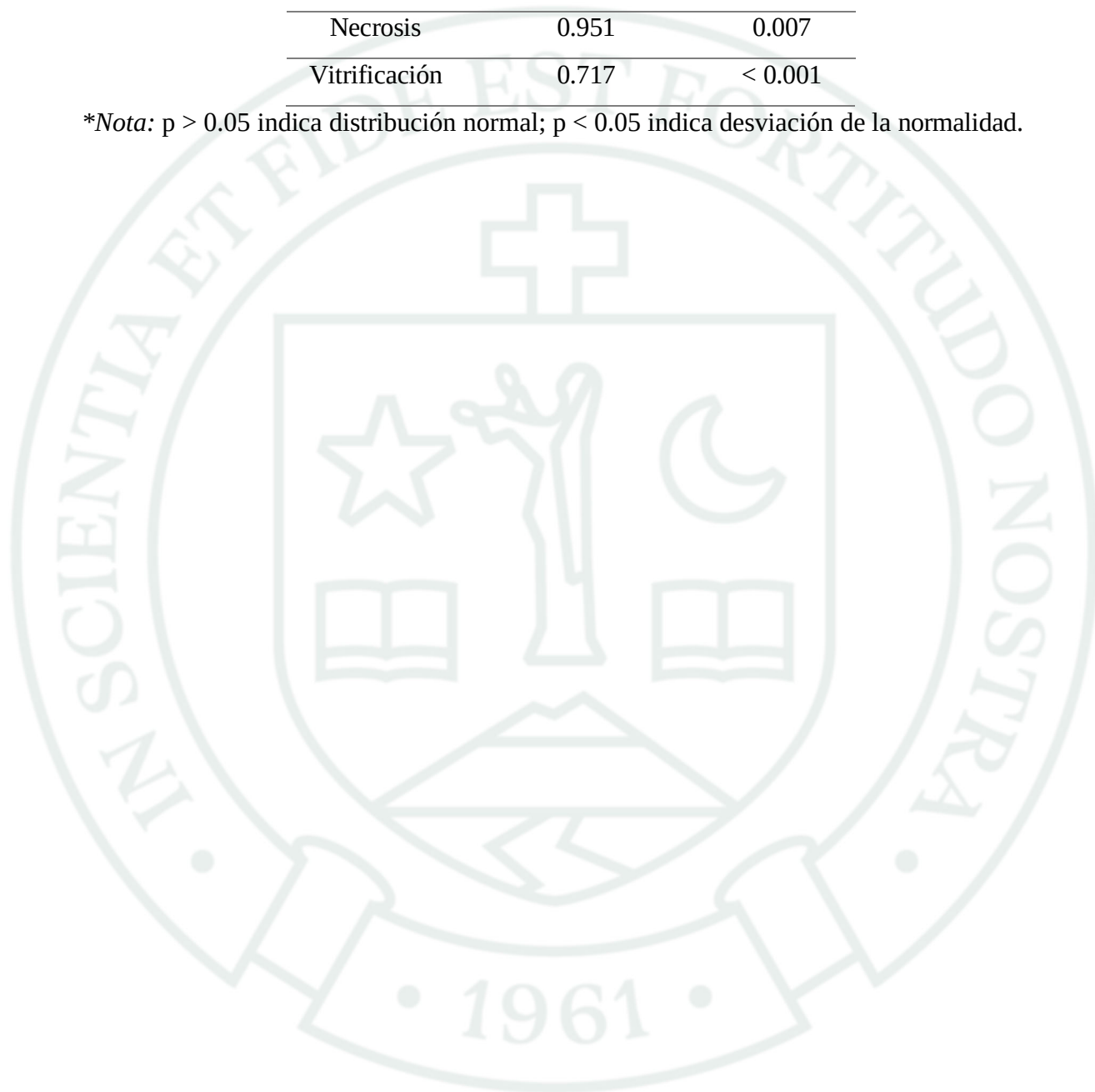


T21									
T22									
T23									
T24									

Anexo 3. Resultados de la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk).

Variable	W de Shapiro-Wilk	p-valor*
Asepsia	0.967	0.056
Sobrevivencia	0.923	< 0.001
Oxidación	0.692	< 0.001
Necrosis	0.951	0.007
Vitrificación	0.717	< 0.001

*Nota: $p > 0.05$ indica distribución normal; $p < 0.05$ indica desviación de la normalidad.



Anexo 4. Resultados de la prueba de Levene para la variable asepsia.

Método aplicado	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor*
Basado en la media	1.357	23	48	0.184
Basado en la mediana	0.298	23	48	0.999
Basado en la mediana (gl ajustados)	0.298	23	42	0.999
Basado en la media recortada (5%)	1.230	23	48	0.267

**Nota:* $p > 0.05$ indica homogeneidad de varianzas; $p < 0.05$ indica heterogeneidad.



Anexo 5. Resultados del análisis de varianza multifactorial para la variable asepsia en *Zingiber officinale*.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	p-valor
Benomilo	1	2938.889	2938.889	78.370	< 0.001
PPM	1	3472.222	3472.222	92.593	< 0.001
PVP	1	3755.556	3755.556	100.148	< 0.001
NaClO	2	29033.333	14516.667	387.111	< 0.001
Benomilo × PPM	1	555.556	555.556	14.815	< 0.001
Benomilo × PVP	1	272.222	272.222	7.259	0.010
Benomilo × NaClO	2	344.444	172.222	4.593	0.015
PPM × PVP	1	138.889	138.889	3.704	0.060
PPM × NaClO	2	144.444	72.222	1.926	0.157
PVP × NaClO	2	211.111	105.556	2.815	0.070
Benomilo × PPM × PVP	1	0.000	0.000	0.000	1.000
Benomilo × PPM × NaClO	2	144.444	72.222	1.926	0.157
Benomilo × PVP × NaClO	2	144.444	72.222	1.926	0.157
PPM × PVP × NaClO	2	144.444	72.222	1.926	0.157
Benomilo × PPM × PVP × NaClO	2	300.000	150.000	4.000	0.025
Error	48	1800.000	37.500		
Total corregido	71	43400.000			

Nota: gl = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrado medio. $R^2 = 0.959$; R^2 ajustado = 0.939.

Anexo 6. Resultados de la prueba post hoc de Tukey HSD para el factor NaClO sobre la variable asepsia.

Comparación de niveles (NaClO)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p-valor	IC 95% inferior	IC 95% superior
1% vs 1.5%	-23.33 *	1.768	< 0.001	-27.61	-19.06
1% vs 2%	-49.17 *	1.768	< 0.001	-53.44	-44.89
1.5% vs 2%	-25.83 *	1.768	< 0.001	-30.11	-21.56

Nota: Prueba de Tukey HSD aplicada sobre el modelo de ANOVA multifactorial, utilizando el cuadrado medio del error (CM(Error) = 37.500). En un diseño balanceado, las medias observadas coinciden con las medias marginales estimadas del modelo. Las diferencias marcadas con asterisco (*) son significativas al nivel de $p < 0.05$.

Anexo 7. Resultados de la prueba U de Mann–Whitney para las variables sin normalidad.

Variable	Factor evaluado	Grupos comparados	N total	U de Mann–Whitney	p-valor*
Sobrevivencia	Benomilo	Con vs. Sin	72	1047.0	< 0.001
Sobrevivencia	PPM	Con vs. Sin	72	1029.5	< 0.001
Sobrevivencia	PVP	Con vs. Sin	72	846.0	0.023
Necrosis	PVP	Con vs. Sin	72	551.0	0.266

Nota: $p > 0.05$ indica ausencia de diferencias; $p < 0.05$ indica diferencias significativas.

Anexo 8. Resultados de la prueba de Kruskal–Wallis para la variable supervivencia según niveles de NaClO.

Variable	Factor	Niveles	Estadístico H	gl	p-valor*
Supervivencia	NaClO	1%, 1.5%, 2%	2.541	2	0.281

Nota: $p > 0.05$ indica ausencia de diferencias entre grupos; $p < 0.05$ indica diferencias significativas según Kruskal–Wallis.

