

Artículo recibido 12 de junio de 2025.

Artículo aceptado 15 de agosto de 2025.

Artículo publicado 5 de octubre de 2025.

## **Optimización del tratamiento de explantes y su influencia en la microporpagación *in vitro* de *Zingiber officinale***

Zarate, Iris P<sup>1</sup>; Bustos, Mariana C.<sup>1</sup>; Garro, Oscar A.<sup>1</sup>; Maguna, Fabiana P<sup>1</sup>; Herman, Cristian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Química Inorgánica, Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAUS), Cte. Fernandez 755 (3700) - Pcia. Roque Saenz Peña, Chaco, Argentina

[zarateiris1@gmail.com](mailto:zarateiris1@gmail.com)      [marianacarolinabustos@gmail.com](mailto:marianacarolinabustos@gmail.com)      [garro@uncaus.edu.ar](mailto:garro@uncaus.edu.ar)  
[fmaguna@uncaus.edu.ar](mailto:fmaguna@uncaus.edu.ar) [cristian@uncaus.edu.ar](mailto:cristian@uncaus.edu.ar)

ORCID Iris Zarate 0009-0000-2622-1387

ORCID Mariana Bustos 0009-0006-0482-1406

ORCID Oscar Garro 0000-0003-4106-2315

ORCID Fabiana Maguna 0009-0003-4027-9819

ORCID Herman Cristian 0009-0000-6321-6210

### **Resumen**

La microporpagación de *Zingiber officinale* es una estrategia clave para su producción y expansión comercial, ofreciendo ventajas respecto a la eficiencia en la producción masiva y en relación con la sanidad vegetal obtenida. Esta investigación se centró en optimizar el pretratamiento de explantes obtenidos de rizomas de comercios locales y productores de la provincia de Misiones, así como el protocolo de sanitización para una iniciación exitosa del cultivo *in vitro*. Los resultados indican que las yemas de rizomas de no más de 7 días de antigüedad son los explantes más adecuados para la microporpagación. La combinación de métodos mecánicos y químicos resultó en una sanitización óptima. A pesar de identificar el método de sanitización más apropiado, la

persistencia de contaminación llevó a evaluar el biocida PPM® (Mezcla Conservante de Plantas), a una concentración de 0,5 mg/L, cuya incorporación aumentó significativamente la tasa de supervivencia de los explantes y disminuyó la contaminación. Si bien se encontraron desafíos en el establecimiento de plantas madre *ex vitro* debido a la sensibilidad a las condiciones ambientales, se lograron desarrollar plantas bajo condiciones controladas, aunque en número limitado. Esta investigación resalta la importancia de la selección adecuada del explante y la optimización del protocolo de sanitización, incluyendo el uso de PPM®, para mejorar la eficiencia de la micropagación.

*Palabras clave:* Jengibre, *Zingiber officinale*, micropagación, cultivo *in vitro*

## Abstract

*Optimization of explant treatment and its influence on in vitro micropropagation of Zingiber officinale*

Micropropagation of *Zingiber officinale* is a key strategy for its production and commercial expansion, offering advantages in terms of efficiency in mass production and plant health. This research focused on optimizing the pretreatment of explants obtained from rhizomes sourced from local markets and producers in Misiones, as well as the sanitization protocol for a successful initiation of in vitro culture. The results indicate that rhizome buds no more than 7 days old are the most suitable explants for micropropagation. The combination of mechanical and chemical methods resulted in optimal sanitization. Despite identifying the most appropriate sanitization method, the persistence of contamination led to the evaluation of the biocide PPM® (Plant Preservative Mixture) at a concentration of 0,5 mg/L, whose incorporation significantly increased the survival rate of the explants and reduced contamination. Although challenges were encountered in establishing mother plants *ex vitro* due to sensitivity to environmental conditions, plants were successfully developed under controlled

conditions, albeit in limited numbers. This research highlights the importance of proper explant selection and optimization of the sanitization protocol, including the use of PPM®, to improve the efficiency of micropropagation.

**Keywords:** Ginger, *Zingiber officinale*, micropropagation, *in vitro* culture

## INTRODUCCIÓN

*Zingiber officinale* Roscoe, conocida comúnmente como jengibre o ginger, es una especie cultivada desde la antigüedad en Asia. Es una planta monocotiledónea perteneciente a la familia de las zingiberáceas (Incer Rocha & León Lopez, 2016; Nair, 2013b, 2013a). Fue descrita por primera vez en 1807 por William Roscoe (botánico). Su nombre, *Zingiber*, deriva de una palabra sánscrita que significa “cuerno” en referencia a las protuberancias que surgen en la superficie del rizoma, las cuales lo hacen característico (Elpo & Negrelle, 2004). Morfológicamente, la planta llega a tener hasta 90 cm. de altura, con largas hojas de hasta 20 cm. (Figura 1). El elemento morfológico característico y de interés para este estudio es el rizoma. Externamente, su color va del amarillo al marrón brillante con terminaciones conocidas como “dedos” que surgen oblicuamente de los rizomas (Elpo & Negrelle, 2004).



Figura 1: *Zingiber officinale* Roscoe: vista general de la planta y detalles de las flores. Fuente: Brandt et al., 2016.

*Zingiber officinale* Roscoe, es una especie herbácea de gran relevancia económica y terapéutica a nivel mundial. Su valor comercial resulta de su uso culinario,

así como también de su aplicación en la industria farmacéutica (Kandiannan et al., 1996; Seran, 2013; Villegas Ramírez & Palma Zúñiga, 2019). Esta importancia se atribuye a su compleja composición química, especialmente a los compuestos fenólicos de su rizoma, como los gingeroles y shogaoles, que le confieren propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras (Syafitri et al., 2018; Zhang et al., 2021). Acuña & Torres (2010) y Platinetti et al. (2016) mencionan su uso para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades como artritis reumatoide, hipercolesterolemia, asma, estreñimiento, entre otras. Mora et al. (2021) publicaron la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos metanólicos de jengibre frente a patógenos gram-positivos y gram-negativos, mostrando su actividad antimicrobiana. Todos los usos antes mencionados se deben a que el rizoma posee una oleoresina, donde el aceite esencial está constituido por sesquiterpenos ( $\alpha$ -zingiberene, arcurcumene,  $\beta$ -bisabolene) que proporcionan el aroma característico del jengibre; y la resina está compuesta por gingerol, shogaol, zingerona, que otorgan la pungencia. Estos últimos compuestos son responsables de las propiedades medicinales atribuidas a esta especie (Acuña & Torres, 2010).

El jengibre, suele consumirse en forma de rizoma maduro fresco, en la preparación de infusiones y alimentos funcionales, y también como condimento seco y molido en el ámbito culinario. A pesar de su alta demanda, la propagación del jengibre enfrenta limitaciones significativas. Al ser una especie estéril que no produce semillas viables, su multiplicación depende exclusivamente de la propagación vegetativa a través de segmentos de rizoma (Sera, 2013). Este método tradicional resulta lento y facilita la transmisión sistémica de patógenos como hongos y bacterias, lo que reduce drásticamente el rendimiento y la calidad fitosanitaria de los cultivos. Aquí es donde cobra importancia la micropropagación como método de producción y expansión comercial de muchos cultivos hortícolas. Frente a estos desafíos, la micropropagación *in vitro* emerge como una herramienta biotecnológica crucial que permite la producción masiva de plantas libres de enfermedades, homogéneas y de alta calidad en un espacio y tiempo reducidos. Esta técnica tiene su esencia en la totipotencialidad de las especies vegetales, donde la manipulación *in vitro* de células, tejidos u órganos permite la regeneración de individuos completos, aprovechando su capacidad inherente de

desarrollo (Brijesh & Ajjappala, 2023; Rodríguez Hernández, 2024; Wijerathna-Yapa & Hiti-Bandaralage, 2023). Este método puede realizarse a través de diferentes vías de regeneración, como ser: brotación de yemas adventicias preexistentes, producción de yemas nuevas, embriogénesis somática y multiplicación clonal (Nair, 2013a, 2013b). El cultivo de tejidos *in vitro* tiene una gran importancia, no solo por el papel clave que desempeña hoy en la biotecnología agrícola, sino también por el enorme potencial que ofrece como herramienta de investigación para entender mejor los desafíos, tanto teóricos como prácticos de la biología de las plantas. Sin embargo, el principal cuello de botella para el éxito de esta técnica en jengibre es la alta incidencia de contaminación microbiana. Dado que los explantes se obtienen de rizomas, órganos de reserva subterráneos, estos albergan una elevada carga de microorganismos tanto en su superficie como en sus tejidos internos (endófitos), lo que dificulta enormemente el establecimiento de un cultivo axénico inicial.

El establecimiento de protocolos eficientes para la micropropagación de *Zingiber officinale* es un área de investigación activa. Estudios recientes continúan optimizando la desinfección de explantes, explorando la eficacia de aditivos como nanopartículas o biocidas como PPM® para controlar contaminantes persistentes (Hürkan & Hürkan, 2025; Ongtanasup et al., 2024; Tung et al., 2022). Paralelamente, en las fases de multiplicación se investiga el ajuste fino de reguladores de crecimiento como 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido 1-naftalenacético (ANA)(Karyanti et al., 2021; Zahid et al., 2021), y se avanza hacia sistemas de cultivo líquido, como los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT), para incrementar las tasas de multiplicación y la producción de biomasa (Lim et al., 2024; Villegas Ramírez & Palma Zúñiga, 2019). Por lo tanto, este estudio se centra en optimizar la fase inicial y más crítica del proceso: la obtención de un cultivo aséptico y viable a partir de material vegetal de alta carga microbiana. Abordar este prerequisito es esencial para la posterior aplicación de técnicas avanzadas de multiplicación y escalado masivo. Esta investigación tuvo como objetivo optimizar el pretratamiento de explantes obtenidos a partir de rizomas provenientes de comercios locales y productores de Misiones, así como mejorar el protocolo de sanitización para favorecer una iniciación exitosa del cultivo *in vitro*. Para ello, se determinó la edad óptima de las yemas de rizoma utilizadas como explantes

iniciales, se comparó la eficacia de tres protocolos de sanitización química en la reducción de la contaminación y la supervivencia de los explantes, y se evaluó el efecto del biocida PPM® en el control de contaminantes persistentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Selección de material vegetal*

Para asegurar la representatividad y diversidad de la muestra, se seleccionaron especímenes de jengibre comercial aplicando criterios como variedad de origen, tamaño del rizoma, turgencia, entre otros detallados más adelante. Paralelamente, se identificaron y adquirieron plantas madre de cultivos tradicionales en la región de Misiones, considerando criterios de edad de la planta, vigor y ausencia de signos de enfermedad. Esta estrategia de muestreo estratificado permitió incluir tanto la variabilidad presente en el mercado comercial como las características de plantas cultivadas en entornos rurales, enriqueciendo el estudio con diversos contextos y condiciones de crecimiento.

### *Establecimiento y mantenimiento de plantas madre ex vitro*

Se utilizó material vegetal de un doble origen. Por un lado, se establecieron plantas madre *ex vitro* a partir de plántulas y rizomas frescos de Misiones (Biofábrica de Oberá y Gdor. López). Estas plantas se cultivaron en una mezcla 1:1 de tierra negra y sustrato comercial (Grow-Mix®) bajo malla de media sombra, con riego diario y soportando temperaturas de hasta 42 °C.

Se realizó un seguimiento fenológico diario y personalizado, llevado a cabo por un único operario para garantizar la consistencia en la toma de datos. Las variables registradas incluyeron: altura de la planta (cm), número de hojas funcionales, diámetro del tallo y la aparición de signos de senescencia como la clorosis foliar. De los 20 ejemplares iniciales, 5 alcanzaron una altura promedio de 65 cm antes de mostrar un deterioro significativo, momento en el cual partes aéreas y subterráneas se utilizaron como fuente de explantes. El deterioro se caracterizó por clorosis y escaso desarrollo de rizoma. Los ensayos *in vitro* demostraron un bajo índice de iniciación de crecimiento en las partes aéreas, confirmando que las yemas axilares son los explantes más adecuados.

La selección de estas plantas como fuente de explantes se basó en criterios fenotípicos como el vigor general, la altura, el número de hojas y el desarrollo del rizoma. La integración de estos parámetros proporcionó una evaluación exhaustiva del estado de desarrollo y el potencial de crecimiento de las plantas silvestres para su inclusión en el estudio. Esto, permite inferir el potencial de iniciación y crecimiento de los cultivos *in vitro*, siendo fundamentales para la correcta selección del material vegetal.

La selección de rizomas de origen comercial se realizó basándose en criterios morfológicos como tamaño, turgencia, coloración del peridermo, número de yemas adventicias visibles. Y parámetros morfológicos microscópicos mediante inspección de forma visual ausencia de signos de patógenos fúngicos o áreas senescentes. Esta evaluación primaria se complementó con una inspección microscópica utilizando una lupa binocular (Motic DM39®).

Para la extracción de yemas de sus rizomas se utilizan pinzas metálicas, bisturíes, lupa binocular, campana de flujo laminar y esterilizador de anzales eléctrico DLAB ST800-E.

*Otros materiales usados:* agua corriente, agua destilada, cepillos de diferentes largo y tipo de cerda, detergente comercial, Tween 20, hipoclorito de sodio (Ayudín®) 5,6 % NaClO, papel tissue tipo servilleta, frascos de vidrio de diferentes tamaños, PPM®, tubos de ensayo fondo plano, cortos y largos.

#### *Sanitización del material vegetal*

El proceso de aseguramiento de la asepsia de los explantes es una etapa crítica que implica una serie de procedimientos secuenciales y rigurosos como lo menciona (Posada-Pérez, et al. 2021). El objetivo principal de esta fase es la eliminación exhaustiva de cualquier contaminante superficial y endógeno que pueda comprometer el establecimiento y desarrollo del cultivo *in vitro*. Para ello, se diseñó un protocolo de sanitización escalonado, que abarca desde la eliminación macroscópica y mecánica de contaminantes superficiales hasta una desinfección química exhaustiva. Este proceso culmina con una verificación microscópica bajo lupa binocular para asegurar la asepsia del explante.

Para determinar el tratamiento de sanitización más adecuado, se realizaron los ensayos detallados en la tabla 1. En cada tratamiento se utilizaron 12 explantes con 3 (tres) repeticiones cada uno. Se dejó en condiciones de fotoperiodo de 16/8 de luz/oscuridad y 28 ±1°C con una lámpara de luz blanca fría de 3000 lux. Los tratamientos fueron evaluados durante un período de 2 semanas. Al finalizar este tiempo, se procedió a observar las siguientes variables: porcentaje de contaminación total (%CT) y porcentaje de sobrevivencia (%S). Para ello, se aplicaron las fórmulas descritas por Aguilera-Arango et al. (2021):

$$\%CT = \frac{N^{\circ} \text{de explantes contaminados por tratamiento}}{N^{\circ} \text{total de explantes por tratamiento}} \times 100 \quad (1)$$

$$\%S = \frac{N^{\circ} \text{de explantes vivos por tratamiento}}{N^{\circ} \text{total de explantes por tratamiento}} \times 100 \quad (2)$$

Tabla 1: Descripción de los tratamientos ensayados para la sanitización de *Zingiber officinale*.

Tratamiento	A	B	C
<b>PASO 1</b>	Enjuague con agua corriente para descartar cuerpos extraños groseros		
<b>PASO 2</b>	Lavado bajo agua corriente con cepillado suave en los pliegues y retirar restos de sustrato		
<b>PASO 3</b>	Lavado con agua y detergente - 15 min	Lavado con agua y detergente - 15 min	Lavado con agua y detergente - 20 min
<b>PASO 4</b>	Lavado con NaClO 2,5% <sup>1</sup> + TWEEN®20 15 min	Lavado con etanol 70% 1 min	Lavado con etanol 70% 2 min
<b>PASO 5</b>	Lavado con etanol 70% 2 min	Lavado con NaClO 1,5% + TWEEN®20 15 min	Lavado con NaClO 2,5% + TWEEN®20 20 min
<b>FINAL</b>	Enjuague con agua destilada estéril		

<sup>1</sup> expresados en v/v

Finalmente, se efectuó un enjuague exhaustivo con agua destilada y se dispusieron sobre papel absorbente para su secado a temperatura ambiente. En la (figura 2) se puede observar un esquema que representa las actividades realizadas.

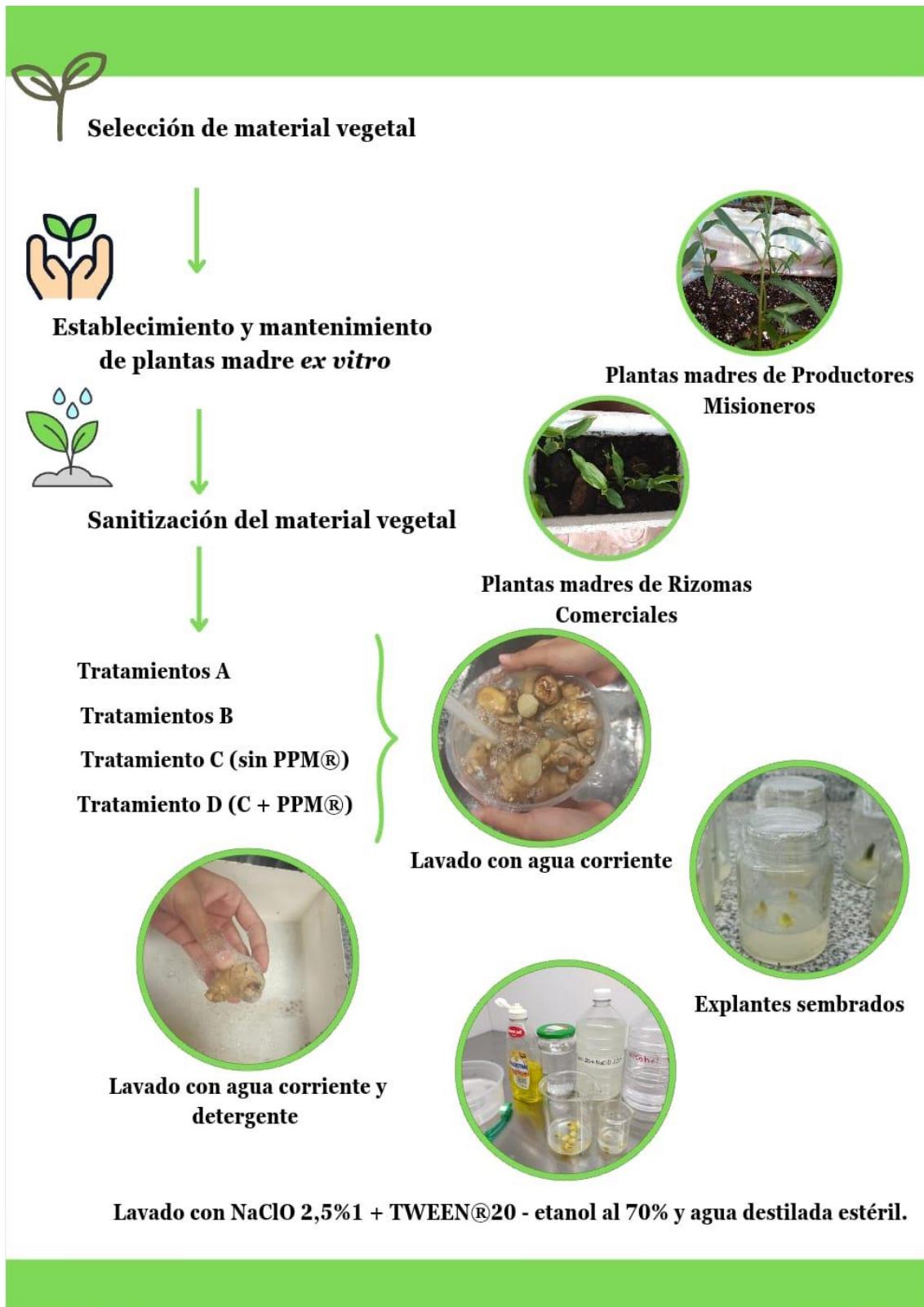


Figura 2: Esquema de actividades realizadas para la optimización del tratamiento de *Zingiber officinale* Roscoe.

#### Análisis estadístico

Los datos obtenidos para las variables de porcentaje de contaminación (%CT) y porcentaje de supervivencia (%S) fueron analizados estadísticamente. Se empleó un diseño completamente al azar, seguido de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos de sanitización. Las medias de los tratamientos fueron comparadas mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de  $p<0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El establecimiento de plantas madre *ex vitro* para generar una fuente de explantes de alta calidad fisiológica mostró un éxito limitado bajo las condiciones agroclimáticas locales. De un total de 20 ejemplares iniciales puestos en cultivo, se registró una tasa de supervivencia y desarrollo viable del 25% tras 12 semanas de seguimiento. Estos 5 ejemplares alcanzaron una altura promedio de 65 cm. Sin embargo, coincidiendo con el incremento de las temperaturas en noviembre y diciembre, que alcanzaron picos de hasta 42 °C, todo el lote de plantas, incluyendo las de mayor desarrollo, manifestó un severo estrés abiótico. Se observó clorosis foliar progresiva, detención del crecimiento y senescencia prematura, lo que impidió su consolidación como fuente sostenible de explantes. Este resultado subraya la alta sensibilidad de *Zingiber officinale* a condiciones de estrés térmico y justifica la decisión de centrar los esfuerzos de optimización en protocolos de desinfección para rizomas comerciales, que representan un material de partida más accesible, aunque con una mayor carga contaminante inicial.

Como resultado, en relación con la generación de rizomas y/o planta madre para insumo como explantes, estamos en condiciones de afirmar que es posible establecer una planta madre con características fitosanitarias aceptables y significativamente superiores a las especies cultivadas de modo tradicional, dado que se ha conseguido desarrollar especies de hasta 90 cm de altura con rizomas de hasta 5 cm de largo, en laboratorio. Sin embargo, el número de ejemplares ha sido insuficiente para

los ensayos requeridos y para convertirse en fuente continua de explantes. Esto podría deberse a la alta sensibilidad de la especie a cambios mínimos en las condiciones ambientales. Los resultados relacionados con esta variable coinciden con el estudio de Chavarría et al. (2020), que indica que muchas plantas, al brotar, se ven afectadas por las altas temperaturas y la elevada humedad. Uno de los efectos más destructivos para el cultivo son las altas temperaturas, que calientan la superficie del suelo, causando daños en la epidermis a nivel del suelo. Esto puede llevar a la estrangulación y, finalmente, a la muerte de la planta. Cabe destacar que nuestras plantas alcanzaron su mejor estado en la segunda quincena de noviembre, periodo en el que se registraron elevadas temperaturas en Roque Sáenz Peña.

En el tratamiento de las yemas seleccionadas como explantes, posterior a la limpieza macroscópica y la sanitización con agentes químicos, se implementó una microdissección manual progresiva bajo condiciones de aumento visual. Este procedimiento consistió en la remoción secuencial y controlada de las capas externas protectoras (catáfilas) de la yema hasta aislar el meristemo apical y las primordiales foliares subyacentes, alcanzando un tamaño final del explante de aproximadamente 7 mm. Esta extracción de catáfilas, que redujo el tamaño del explante, buscó minimizar la carga microbiana endófita potencialmente alojada en los tejidos más externos, y los resultados obtenidos revelaron un retraso significativo en la incidencia de contaminación en los cultivos *in vitro*.

La comparación de los tres métodos de sanitización permitió identificar el protocolo más eficaz, destacándose aquel que exhibió la mayor tasa de supervivencia y la menor incidencia de contaminación. Cabe señalar que la presencia de contaminación fúngica y/o bacteriana persistió en todos los métodos, aunque en diversas proporciones.

El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de sanitización tanto para el porcentaje de contaminación ( $p<0,05$ ) como para el de supervivencia ( $p<0,05$ ). Como se observa en la Tabla 2, la prueba de comparación de medias mostró que el tratamiento C fue significativamente más efectivo que los tratamientos A y B en la reducción de la contaminación. Con el tratamiento C se logró disminuir la contaminación a un 39,4%,

un valor significativamente inferior al 90,6% y 86,1% observados en los tratamientos A y B, respectivamente. Sin embargo, una tasa de contaminación persistente cercana al 40% sigue representando un problema para el establecimiento exitoso del cultivo. Por consiguiente, se determinó la necesidad de utilizar PPM® (Mezcla Conservante de Plantas). Este es un biocida de amplio espectro, cuya naturaleza termoestable permite esterilizarlo directamente en el autoclave junto con el medio de cultivo (Grimaldi & Assumpção Bastos, 2023). En dosis óptimas, PPM® es extremadamente eficaz para prevenir la germinación de esporas bacterianas y fúngicas sin afectar la proliferación y regeneración de los callos. Por estas razones, y por ser una alternativa económica a los antibióticos , se procedió a adicionarlo en una concentración de 0,5 mg/L al medio de cultivo basal del tratamiento C, dando origen al tratamiento D.

Tabla 2: Tasa de contaminación y supervivencia de explantes de *Zingiber officinale* según el tratamiento de sanitización. Los valores representan la media ± el error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ( $p<0,05$ ).

Tratamiento	Total de explantes (n)	Contaminación Total (%)	Supervivencia (%)
A	32	90,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	9,4 ± 1,0 <sup>a</sup>
B	36	86,1 ± 1,5 <sup>a</sup>	13,9 ± 0,6 <sup>a</sup>
C (sin PPM®)	33	39,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	60,6 ± 1,5 <sup>b</sup>
D (C + PPM®)	36	33,3 ± 1,0 <sup>b</sup>	66,7 ± 2,0 <sup>b</sup>

En cuanto a la supervivencia, los tratamientos C (60,6%) y D (66,7%) mostraron resultados significativamente superiores a los tratamientos A y B. En este contexto, Sanatombi & Sanatombi (2017), señalan que las bajas tasas de supervivencia debido a la contaminación son un problema recurrente en los estudios de micropagación. Aunque la adición de PPM® en el tratamiento D incrementó la supervivencia en aproximadamente un 6% en comparación con el tratamiento C, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Esto sugiere que, si bien el PPM®

contribuye al control de contaminantes, el protocolo de sanitización C es el principal responsable de la mejora en la viabilidad de los explantes. Así, la efectividad del protocolo en la reducción de la contaminación depende críticamente del tipo de agente y el tiempo de exposición utilizados, lo que también concuerda con dichos autores. En este trabajo se ha buscado la optimización sin recurrir a compuestos de alta toxicidad como el  $HgCl_2$ , como lo mencionan Chavan et al. (2018); Mehaboob et al., (2019); Mohd Azmi Muda et al., (2004) en diferentes concentraciones y con distintos tiempos de exposición para la sanitización de los explantes.

Los resultados de supervivencia refuerzan la eficacia del tratamiento combinado. Si bien el método C por sí solo es apropiado, la adición de PPM® (D) incrementó la supervivencia en casi un 6% hasta alcanzar un 66,7% (%S). Al respecto, Miri (2020) afirma que debido a que el rizoma es una parte subterránea altamente contaminada, una combinación de agentes sanitizantes muestra efectos sinérgicos en el control de la contaminación fúngica y bacteriana. Aunque el protocolo específico de dicha investigación difiere del nuestro, el autor reportó una tasa de esterilización del 65%, similar al 66,7% de supervivencia obtenido en nuestro trabajo, lo que valida la estrategia de incorporar PPM® como un refuerzo eficaz al protocolo de sanitización.

## CONCLUSIONES

En conclusión, la presente investigación ha permitido optimizar aspectos cruciales para el establecimiento exitoso de la micropropagación de *Zingiber officinale*. Se determinó que las yemas originadas en rizomas con no más de 7 días de antigüedad constituyen los explantes más adecuados para iniciar el cultivo *in vitro*. Además, se estableció que una combinación de métodos mecánicos y químicos resulta en una sanitización óptima de los explantes.

Entre los métodos de sanitización evaluados, el tratamiento C demostró ser el más apropiado, exhibiendo la mayor tasa de supervivencia y la menor incidencia de contaminación. No obstante, la persistencia de contaminación fúngica y/o bacteriana en todos los tratamientos condujo a la exploración del uso de conservantes. La incorporación del biocida PPM® (Mezcla Conservante de Plantas) al protocolo de

cultivo demostró ser una estrategia útil, elevando la tasa de supervivencia al 66,7% y validando el enfoque combinado para el control de la contaminación.

Por otro lado, se encontraron desafíos en el establecimiento de plantas madre con características fitosanitarias óptimas y en cantidad suficiente para los ensayos y como fuente de explantes. La sensibilidad de la especie a las variaciones ambientales, especialmente las altas temperaturas, afectó el desarrollo y ocasionó pérdidas significativas. Sin embargo, se logró desarrollar plantas de hasta 90 cm de altura con rizomas de hasta 5 cm de largo bajo condiciones controladas, aunque en número limitado.

Así, esta investigación destaca la importancia de la selección del explante y la optimización del protocolo de sanitización, incluyendo el uso de PPM®. Los resultados obtenidos en el cultivo *in vitro* sientan las bases para la producción masiva de plántulas de jengibre con sanidad superior, lo cual tiene implicaciones significativas para su producción y expansión comercial.

Se aborda un problema persistente y de gran relevancia práctica en la micropropagación de especies geófitas como el jengibre: la alta carga de contaminantes endógenos y superficiales. Si bien el uso de PPM® o de protocolos de desinfección con hipoclorito y etanol ya está en uso, la contribución del trabajo radica en la optimización sistemática y la combinación de estos elementos para material vegetal específico (rizomas de origen comercial y de productores locales), lo cual ofrece un valor práctico directo para laboratorios de biotecnología.

A partir de estos hallazgos, surgen nuevas líneas de investigación, como: La evaluación de un gradiente de concentraciones de PPM® para determinar la dosis óptima para el control de la contaminación con la fitotoxicidad; El análisis de la estabilidad genética de las plántulas regeneradas mediante marcadores moleculares; La optimización de la aclimatación *ex vitro*, explorando diferentes sustratos y condiciones ambientales para superar la sensibilidad ambiental detectada.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Acuña, O., & Torres, A. (2010). Aprovechamiento de las propiedades funcionales del jengibre (*sinvivir officinale*) en la elaboración de condimento en polvo, infusión filtrante y aromatizante para quema directa. *Revista Politécnica*, 29(1), 60–69.
- Aguilera-Arango, G. A., Puentes-Díaz, C. L., Rodríguez-Henao, E., Aguilera-Arango, G. A., Puentes-Díaz, C. L., & Rodríguez-Henao, E. (2021). Métodos de desinfección para el establecimiento in vitro de dos variedades de yuca para uso agroindustrial. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(3), 21–30. <https://doi.org/10.53287/kdux7546xv191>
- Brijesh, H., & Jayapal, B. (2023). Micropropagation strategies in medicinally important turmeric (*Curcuma spa*): Current research and future challenges. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(3), 1–8.
- Chavan, J. J., Kshirsagar, P. R., Pai, S. R., & Pawar, N. V. (2018). Micropropagation, metabolite profiling, antioxidant activities and chromatographic determination of bioactive molecules across in vitro conditions and subsequent field cultivation stages of ‘Shampoo Ginger’(*Zingiber zerumbet L. Roscoe ex Smi*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.015>
- Chavarría, M., Uribe Loro, L., & Bolaños, A. (2020). Microorganismos benéficos en el control de enfermedades en la producción de jengibre. *Agronomía Costarricense Vol. 29 Núm. 3 2005*.
- Elpo, E. R. S., & Negrelle, R. R. B. (2004). *Zingiber officinale* Roscoe: aspectos botánicos y ecológicos. *Visio Acadêmica*, 5(1).

Grimaldi, F., & Assumpção Bastos, F. E. (2023). Control of in vitro contamination during the establishment of *Pyrus communis* explants using Plant Preservative Mixtures. *Plant Cell Culture & Micropropagation*.

<https://doi.org/10.46526/pccm.2023.v19.185>

Hurka, Y. K., & Hurka, K. (2025). Silver Nanoparticles as the Sterilant in Large-Scale Micropropagation of Plants. In A. Husen (Ed.), *Plant Response to Silver Nanoparticles: Plant Growth, Development, Production, and Protection* (pp. 307–316). Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-97-7352-7\\_17](https://doi.org/10.1007/978-981-97-7352-7_17)

Inker Rocha, M. L., & León Lopez, V. A. (2016). Establecimiento y micropropagación de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) colectado en el departamento de Carazo. *Repositorio Universidad Nacional Agraria Facultad de Agronomía*.

Kandiannan, K., Thankamani, C. K., & Peter, K. V. (1996). Agronomy of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Journal of Spices and Aromatics Crops.*, 5(1), 1–27.

Karyanti, Sukarnih, T., Rudiyan, Y., Hanifah, N. F., Sa'adah, N., & Dasumiati. (2021). Micropropagation of Red Ginger (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) Using Several Types of Cytokinins. *Journal of Physics: Conference Series*, 1751(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1751/1/012051>

Lim, M. J., Han, J. E., Murthy, H. N., Song, H. Y., Lee, S. Y., & Park, S. Y. (2024). A Comparison of Semi-Solid, Liquid, and Temporary Immersion Bioreactor Systems for Effective Plant Regeneration of *Gerbera jamesonii* “Shy Pink.” *Horticulturae*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/horticulturae10080836>

- Mehaboob, V. M., Faizal, K., Shamsudheen, K. M., Raja, P., Thiagu, G., & Shahajan, A. (2019). Direct organogenesis and microrhizome production in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 2880–2883.
- Miri, S. M. (2020). Micropropagation, callus induction and regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Open Agriculture*, 5(1), 75–84.  
<https://doi.org/10.1515/opag-2020-0008>
- Mohd Azmi Muda, Khalid, N., & Ibrahim, H. (2004). Micropropagation study on three varieties of *Zingiber officinale* Rosc. *Faculty of Science, University of Malaya*, 23(2). <http://ejum.fsktm.um.edu.my/>
- Mora, E. D. V., Paredes, J. L. P., Wong, H. V. D., Osores, S. A. I., & Rodríguez, R. del C. M. V. (2021). Estudio comparativo in vitro de la actividad antibacteriana de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Medicina Naturista*, 15(1), 69–79.
- Nair, K. P. P. (2013a). Cropping Zones and Production Technology. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*, 347–373. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394801-4.00018-1>
- Nair, K. P. P. (2013b). The Biotechnology of Ginger. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*, 375–400. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394801-4.00019-3>
- Ongtanasup, T., Kamdenlek, P., Manaspon, C., & Eawsakul, K. (2024). Green-synthesized silver nanoparticles from *Zingiber officinale* extract: antioxidant potential, biocompatibility, anti-LOX properties, and in silico analysis. *BMC*

*Complementary Medicine and Therapies*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04381-w>

Platinetti, L. A., Porcal Ruiz, M. N., Sánchez, R. M., & Bergia, M. L. (2016). *Galletas a base de harina de trigo enriquecidas con Extracto de Jengibre rico en polifenoles*. Universidad Nacional de Córdoba.

Posada-Pérez, L., Padrón, Y., Roque, B., La, M., & Rivero, L. (2021). Protocolo para la propagación in vitro de Zingiber officinale Roscoe vía organogénesis. *Biotecnología Vegetal*, 21(2), 113-118.

Rodríguez Hernández, M. (2024). Reseña bibliográfica. In *Cultivos Tropicales* (Vol. 45, Issue 3). <https://www.redalyc.org/journal/1932/193279253008/html/>

Sanatombi, R., & Sanatombi, K. (2017). Biotechnology of Zingiber montanum (Koenig) link ex A. Dietr.: a review. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 1–4.

Seran, T. H. (2013). In vitro propagation of ginger (Zingiber officinale Rosc.) through direct organogenesis: A review. In *Pakistan Journal of Biological Sciences* (Vol. 16, Issue 24, pp. 1826–1835). <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.1826.1835>

Syafitri, D. M., Levita, J., Mutakin, M., & Diantini, A. (2018). A review: is ginger (*Zingiber officinale* var. Roscoe) potential for future phytomedicine? *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 8(1).

Tung, H., Huynh Gia, B., Ngo, Q., Hoai Chau, N., & Duong Tan, N. (2022). *The Use of Silver Nanoparticles as a Disinfectant and Media Additive in Plant Micropropagation* (pp. 287–302). [https://doi.org/10.1007/978-981-16-6498-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-16-6498-4_14)

Villegas Ramírez, J. G., & Palma Zúñiga, T. (2019). Multiplicación in vitro de *Zingiber officinale* Roscoe cv. ‘Gran Caimán’ en Sistema de Inmersión Temporal.

*Biotecnología Vegetal*, 19(4), 297–306.

Wijerathna-Yapa, A., & Hiti-Bandaralage, J. (2023). Tissue Culture—A Sustainable Approach to Explore Plant Stresses. In *Life* (Vol. 13, Issue 3). MDPI.  
<https://doi.org/10.3390/life13030780>

Zahid, N. A., Jaafar, H. Z. E., & Hakiman, M. (2021). Alterations in microrhizome induction, shoot multiplication and rooting of ginger (*Zingiber officinale* roscoe) var. bentong with regards to sucrose and plant growth regulators application. *Agronomy*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy11020320>

Zhang, M., Zhao, R., Wang, D., Wang, L., Zhang, Q., Wei, S., Lu, F., Peng, W., & Wu, C. (2021). Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. In *Phytotherapy Research* (Vol. 35, Issue 2, pp. 711–742). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.6858>