

PROPAGACIÓN CLONAL DEL YACÓN [*Smallanthus sonchifolius* (POEPP. AND
ENDL.) H. ROBINSON] Y DETERMINACIÓN DE LOS CONTENIDOS DE
INULINA.

MARÍA ALEJANDRA CANO ROMERO

CONVENIO
UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE ORIENTE
UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDELLÍN
2016

PROPAGACIÓN CLONAL DEL YACÓN [*Smallanthus sonchifolius* (POEPP. AND
ENDL.) H. ROBINSON] Y DETERMINACIÓN DE LOS CONTENIDOS DE
INULINA.

MARÍA ALEJANDRA CANO ROMERO

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE MAGÍSTER EN
BIOTECNOLOGÍA

ASESOR
DAGOBERTO CASTRO RESTREPO. PhD.
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO
UNIVERSIDAD CATOLICA DE ORIENTE

CONVENIO
UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE ORIENTE
UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDELLÍN
2016

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

DEDICATORIA:

A mi esposo, quien con paciencia y amor, estuvo cada día al frente del hogar mientras estaba inmersa en el mundo de la biotecnología vegetal. ILY.

A mis dos hijas, Juliana y Manuela, mis amadas preguntonas, a quienes tuve que explicar una y otra vez que “tanto” estaba haciendo.

A mis queridos padres, por su fortaleza e ingenio en saber inculcarnos el gusto por el estudio, la lectura y la pasión para hacer las cosas.

A mis hermanos, que me hacen mejor persona cada día con sus aportes y enseñanzas, ¡Los adoro!

A Dios, por permitirme hacer lo que me gusta y estar rodeada de personas tan maravillosas.

María Alejandra.

AGRADECIMIENTOS:

Expreso mi más sentido agradecimiento a:

Mi asesor, Dagoberto Castro, por su valioso tiempo, apoyo y dedicación; personas como él hacen posible creer en nuestro potencial agrícola, en todo lo que podemos mejorar aplicando las diferentes técnicas de cultivo y procesos biotecnológicos.

Camilo Suárez, quien pacientemente me fue llevando por el maravilloso mundo del cultivo de tejidos vegetales, sus aportes tan oportunos y acertados se ven reflejados en éste proyecto, lleno de conocimiento, trabajo, logros y experiencias vividas.

Beatriz y Olga, amigas y compañeras de trabajo, pendientes y dispuestas, de quienes recibí sinceras recomendaciones, sugerencias y apoyo incondicional.

Todos y cada uno en la Unidad de Biotecnología Vegetal de la Universidad Católica de Oriente, en especial a Esteban Loaiza, siempre tan atento y colaborador.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
Planteamiento del Problema:.....	11
ANTECEDENTES.....	12
Impacto esperado.....	13
1 Revisión de literatura.....	14
1.1 Botánica.....	15
1.2 Género.....	15
1.3 Morfología.....	16
1.3.1 Tallo.....	16
1.3.2 Corona: raíces y rizomas.....	16
1.3.3 Hojas.....	16
1.3.4 Inflorescencia.....	17
1.3.5 Flores.....	17
1.3.6 Flor femenina.....	18
1.3.7 Flor masculina.....	18
1.3.8 Fruto.....	18
1.4 Taxonomía.....	19
1.5 Distribución mundial.....	20
1.6 Distribución en Colombia.....	20
2 Ecología.....	21
2.1 Hábitat.....	22
2.2 Crecimiento.....	22
2.3 Propagación.....	23
2.4 Propagación por cepa (sistema convencional).....	23
2.5 Propagación por esquejes de tallo.....	23
2.6 Propagación por nudos de tallo individuales.....	24
3 Usos del yacón.....	24
3.1 Usos del yacón en Colombia.....	25
4. Composición química.....	25
4.1 Los fructooligosacáridos.....	26
4.2 Producción de fructooligosacáridos.....	29
4.3 La inulina.....	29
4.4 Técnicas de cuantificación de la inulina.....	30
4.5 HPLC.....	30

5 Cultivo de tejidos.	31
6. METODOLOGÍA	32
6.1 Establecimiento aséptico.	32
6.2 Fase de multiplicación de meristemos.....	33
6.3 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indolbutírico).....	33
6.4 Efecto de la sacarosa y BAP sobre la inducción de microrrizomas.	34
6.5 Evaluación de la concentración de inulina en planta madre y plántulas <i>in vitro</i>	34
6.6 Preparación de la solución muestra.....	34
6.7 Medición de la concentración de inulina en planta madre y plántulas <i>in vitro</i>	35
6.8 Aclimatización de las plantas.....	35
6.9 Análisis estadístico.	35
7 RESULTADOS.....	35
7.1 Fase de multiplicación de meristemos.	36
7.2 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indolbutírico).....	37
7.3 Aclimatización de las plantas.....	38
7.4 Evaluación de producción de microrrizomas con BAP.	38
7.5 Evaluación del contenido de inulina en material vegetal.	39
7.6 Cromatogramas de estándares de inulina.	40
7.7 Evaluación del contenido de inulina en plántulas <i>in vitro</i>	42
7.8 Evaluación contenido de inulina en plantas madre.....	44
8 ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	46
8.1 Fase de multiplicación de meristemos.....	46
8.2 Evaluación de número de hojas con BAP.....	47
8.3 Evaluación longitud de tallo.	48
8.4 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indol-3 butírico).	48
8.5 Evaluación longitud de raíz.....	48
8.6 Evaluación de producción de microrrizomas con BAP y sacarosa.	48
8.7 Evaluación contenido de inulina en plántulas y planta madre de yacón.	49
9 CONCLUSIONES	52
10 RECOMENDACIONES	52
11 BIBLIOGRAFÍA	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estándares de inulina y medida de áreas, según la concentración.....	39
Tabla 2. Concentraciones y áreas de las muestras analizadas (plántulas).....	44
Tabla 3. Concentraciones y áreas de las muestras analizadas (planta madre).....	46

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Efecto de diferentes concentraciones de la citoquinina 6 – Bencilaminopurina (BAP) sobre la inducción de brotes, número de hojas y longitud de los brotes en la fase de proliferación <i>in vitro</i> de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).	36
Gráfica 2. Beanplots que muestran el efecto de diferentes concentraciones de AIB (mg/L) sobre el porcentaje de enraizamiento, número de raíces y longitud de las raíces en brotes	37
Gráfica 3. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de BAP (mg/L) y sacarosa (%) sobre la inducción de microrrizomas en brotes de yacón <i>in vitro</i>	39
Gráfica 4. Cromatograma 1. Estándar 0.2 mg/mL	40
Gráfica 5. Cromatograma 2. Estándar 0.14 mg/mL	41
Gráfica 6. Cromatograma 3. Estándar 0.1 mg/mL	41
Gráfica 7. Cromatograma 4. Estándar 0.06 mg/mL	41
Gráfica 8. Concentración de inulina vs área de su señal cromatográfica.	42
Gráfica 9. Cromatograma 5. Extracto acuoso de plántulas: hojas	43
Gráfica 10. Cromatograma 6. Extracto acuoso de plántulas: tallos	43
Gráfica 11. Cromatograma 7. Extracto acuoso de plántulas: raíces+microrrizomas	43
Gráfica 12. Cromatograma 8. Extracto acuoso de raíces, planta madre	45
Gráfica 13. Cromatograma 9. Extracto acuoso de hojas, planta madre	45
Gráfica 14. Cromatograma 10. Extracto acuoso de tubérculos, planta madre	45

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Morfología de la planta de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	19
Ilustración 2. Planta madre de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>), en preacondicionamiento.....	33
Ilustración 3. Plántulas endurecidas de yacón de 45 días listas para ser establecidas en campo...	38
Ilustración 4. Brote de yacón in vitro en medio ms más 0.5 mg/L de BAP.....	47
Ilustración 5. Inducción de microrrizomas en brotes de yacón.....	49
Ilustración 6. Fases del trabajo <i>in vitro</i> con yacón.....	51

RESUMEN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*), es una planta nativa andina que se cultiva desde épocas prehispanicas, produce raíces tuberosas en las cuales se almacenan azúcares tipo fructano y es considerado como un alimento nutracéutico. Debido a las dificultades que presenta para la reproducción sexual, esta especie se propaga convencionalmente mediante división de coronas de raíces, hijos y esquejes. Sin embargo, existen riesgos para la transmisión de problemas fitosanitarios como nemátodos, enfermedades bacterianas como *Ralstonia solanacearum* y virus, lo cual afecta los procesos de fomento del cultivo por las restricciones fitosanitarias tanto nacionales como internacionales debido a que no hay oferta de semilla certificada. El objeto del presente proyecto fue establecer un protocolo para la propagación clonal *in vitro* del yacón y determinar el contenido del oligofruetosacárido tipo inulina en los diferentes órganos de la planta. Para su desarrollo se estableció la micropropagación, la inducción de microrrizomas *in vitro* y la determinación de la presencia de inulina en plantas madres y plantas *in vitro*. Entre los resultados más importantes se destacan que, al utilizar la citoquinina BAP en concentración de 5 mg/L se produjo el mayor número de brotes (3.1 por explante) a los 30 días después del subcultivo; el mayor porcentaje de enraizamiento (92%) se obtuvo con 1 mg/L de ácido indolbutírico. Respecto a la inducción de microrrizomas *in vitro* se demostró que la combinación de sacarosa (6%) y BAP (2 mg/L) indujeron la formación de éstos (2.4 microrrizomas por explante) a los 60 días en condiciones de total oscuridad. Cuando se realizó la cuantificación de inulina mediante HPLC, se encontró que los rizomas de las plantas madres (plantas de campo) se detectó una concentración de 4,7097 mg/g y hubo ausencia en las hojas y tallos; mientras que, en los materiales *in vitro* (brotes) se obtuvo en hojas una concentración de 3.9901 mg/g y en las raíces y microrrizomas 0.8443 mg/g, en los tallos hubo ausencia del analito. Este trabajo muestra el potencial de las técnicas del cultivo de tejidos *in vitro* para la propagación masiva de materiales libres de patógenos y que se puede producir biomasa para la producción de inulina bajo condiciones controladas en laboratorio.

PALABRAS CLAVES: yacón, inulina, cultivo de tejidos, HPLC.

INTRODUCCIÓN

El “yacón” es una planta con raíces tuberosas en las cuales se almacenan azúcares tipo fructano. Se cultiva en la zona andina desde épocas prehispánicas y es consumida habitualmente en forma cruda, como fruta en las zonas rurales (Herman *et al.* 1997. p.4). Según (Muñoz, 2009. p.3) el yacón tiene su agroecosistema original en las tierras altas de los Andes, desde Colombia hasta el norte de Argentina, entre los 1.800 y 2.800 m.s.n.m, en climas templados montañosos. Sin embargo, su adaptación es amplia en cuanto a climas y suelos, desde el nivel del mar hasta los 3.500 m.s.n.m. En Colombia se encuentra desde el sur occidente, Cauca, Nariño, Valle del Cauca, Risaralda, Quindío, Caldas, Antioquia y Cundinamarca entre otras regiones (García, 2003. p.1). Tradicionalmente, el yacón se cultiva en huertas familiares para autoconsumo y sólo una parte de este es destinado para el mercado, debido al desconocimiento de sus propiedades nutraceuticas. Según (Maldonado *et al.* 2008 p.2) hasta la década de los 90 se pensaba que el valor nutricional del yacón era bajo, por lo que la investigación acerca de su cultivo, prácticas de procesamiento y transformación requeridas para lograr su mejor beneficio, han sido pocas.

Ampliamente en la literatura el yacón como un alimento prebiótico ayuda al crecimiento de la flora intestinal previniendo el cáncer de colon y la disminución de enfermedades. Las raíces de yacón son de sabor dulce y agradable, se comen crudas en el campo, o después de solearlas por varios días hasta que la cáscara se arrugue (Chasquibol, 2002, p.47).

A diferencia de los tubérculos que almacenan la energía en forma de almidón, el yacón la almacena en forma de fructooligosacáridos (FOS) (Manrique. 2005. p.1), azúcares que no logran ser asimilados directamente por el cuerpo humano debido a la ausencia de las enzimas necesarias para el metabolismo de estos elementos y son considerados como compuestos bioactivos en los alimentos. Santana y Cardoso 2008. p.11). En artículos científicos y literatura, se menciona que las raíces de yacón contienen inulina como componente principal. Aunque muchas referencias científicas citan esta información, esto no es exacto, ya que estrictamente hablando, el yacón contiene sólo los fructooligosacáridos. La diferencia entre la inulina y los FOS es el número de moléculas de fructosa que tienen estas cadenas en inulina, este número varía de 2 a 60, mientras que en los FOS, que tienen cadenas más pequeñas, el número varía entre 2 y 10. Esto significa que los FOS puede considerarse como un subgrupo de la inulina, por lo que algunos autores prefieren el término tipo inulina fructooligosacáridos para

referirse con mayor precisión a la naturaleza de estos azúcares, incluso aunque la proporción puede variar para cada azúcar, podemos considerar la siguiente composición sobre una base seca: FOS 40-70%, 5-15% de sacarosa, 5-15% de fructosa y menos del 5% de glucosa (Manrique y Párraga, 2005. p.8).

A diferencia de otras fuentes de FOS, el consumo de yacón, en cantidades moderadas de raíz, garantiza su efecto nutracéutico y realza sus características organolépticas. El rendimiento por tonelada en el campo también es superior al de las fuentes convencionales de interés actuales de FOS (Ojansivu *et al.*, 2011. p.2). El objetivo de este estudio fue desarrollar alternativas para la multiplicación de esta especie con técnicas del cultivo de tejidos *in vitro* que permiten la producción de plántulas y de órganos de almacenamiento como los microrrizomas. De igual manera en esta investigación se realizó el análisis cuantitativo de inulina en plantas *in vitro* y en plantas madre que permitan observar el potencial nutracéutico de esta especie para el futuro prometedor como cultivo y por lo tanto el modo de subsistencia de una cadena que va desde la siembra, hasta la transformación del yacón.

Planteamiento del Problema:

En Colombia el yacón se encuentra amenazado en sus centros de producción históricos, debido al poco conocimiento que las comunidades locales tienen sobre sus propiedades alimenticias, medicinales y ecológicas, se cultiva ancestralmente en los municipios de la Sierra, Sotará, la Vega, San Sebastián, Santa Rosa (sur occidente del Cauca); en las reservas naturales adscritas a la “Red de Reservas de la Cocha” (Nariño) y en el área rural del municipio de Garzón (Huila).

El yacón con preferencia se propaga vegetativamente mediante su tronco tuberoso. La ventaja de la reproducción vegetativa es el mantenimiento de la estabilidad de cada clon, no obstante la desventaja está en el riesgo de crear monocultivos susceptibles a infecciones en masa y a las limitaciones de su capacidad de producción (Fernández *et al.* 2010. p.4). La escasa reproducción sexual es una característica de esta especie. Se le atribuye a factores como: problemas durante la meiosis, lo recalcitrante de sus semillas, la ausencia de polinizadores y a la alta esterilidad de los granos de polen que fuera observada en diferentes trabajos de investigación realizados tanto en Argentina como en clones ecuatorianos mediante técnicas de tinte diferencial (Coelho 2012. p.12).

El yacón se propaga convencionalmente mediante división de coronas de raíces, hijos y esquejes; sin embargo existen riesgos para la transmisión de enfermedades como nemátodos, enfermedades bacterianas como *Ralstonia solanacearum* y virus, que aunque no se reportan específicamente en esta planta, si existen en la familia *Asteracea* (Lizarraga, 2004. p.22). También se puede encontrar hongos como *Alternaria alternata*, moho blanco *Sclerotinia sclerotiorum* (Ames, 1997. p.153). Esta situación hace que el fomento del cultivo tenga

dificultades por las restricciones fitosanitarias tanto nacionales como internacionales debido a que no hay oferta de semilla certificada.

Una alternativa para la multiplicación y conservación de germoplasma de esta especie son las técnicas del cultivo de tejidos *in vitro* que permiten la producción de plántulas y de órganos de almacenamiento como los microrrizomas.

A nivel agroindustrial, cuando se habla de técnicas de cultivo, se abre un sin número de posibilidades a nivel biotecnológico con los cultivos de tejido *in vitro*, de las cuales hasta el momento, no figuran reportes científicos.

En la transformación del producto, autores como Arango 2008, afirman que la técnica de extracción de inulina del yacón, su cristalización y caracterización de los cristales muestran que la relación entre la optimización del proceso de extracción sólido-líquido, con agua caliente, a partir de raíces de yacón es el mejor método de extracción utilizado, esta medición y cuantificación de inulina presente en el extracto se hace a través de refractometría. Teniendo en cuenta la importancia de las combinaciones de tiempo, temperatura y relación solvente-materia prima. La técnica para la separación de los cristales a partir de la solución rica en inulina puede tener rendimientos del 17.3% con relación al peso en fresco del material experimental (Arango *et al.* 2008 p.2).

ANTECEDENTES

Algunos autores como Viehmannova *et al.* 2013 p.1, señala que las técnicas biotecnológicas ofrecen alternativas para formar y ampliar la variabilidad genética del yacón utilizando la embriogénesis somática, estos resultados muestran que la embriogénesis somática indirecta podría ser utilizada en el mejoramiento del yacón para ampliar la variabilidad genética, sobre todo cuando la baja capacidad reproductiva sexual dificulta la forma clásica de reproducción, dentro de las cuales se encuentra el cultivo del yacón. En ese orden de ideas, la micropropagación *in vitro* mediante segmentos nodales es una herramienta para la multiplicación de nuevos clones obtenidos con nuevas y valiosas cualidades, que mejoran la estabilidad de las mismas (Castillo, A. 2004).

Ko *et al.* (2009), refieren que en el proceso de micropropagación de materiales de siembra, una de las etapas críticas, es la desinfección de los explantes; en efecto se han dedicado publicaciones al tema de los métodos de producción de materiales libres de contaminación.

Según, Suárez. 2013, p.16. en la fase de establecimiento en la siembra *in vitro*, no encontró una diferencia significativa en los tratamientos con hipoclorito de sodio al 1% en los tiempos de 5, 15 y 30 minutos. Sin embargo, recomienda trabajar con el tratamiento de 15 minutos, debido a que utilizar una concentración mayor y un tiempo prolongado puede repercutir en la oxidación de los explantes a la hora de sembrar. Con respecto a la evaluación de las concentraciones de BAP (0 a 2.0

mg/L) no se encontraron diferencias significativas con la relación a la inducción de brotes axilares; sin embargo estos brotes se pudieron proliferar mediante segmentos nodales, Fernández *et al.* (2010), con un coeficiente promedio de 2.26 brotes cada 21 días.

Impacto esperado

El cultivo del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en los últimos años ha tenido un creciente interés debido a que es una importante fuente de fructooligosacáridos (FOS), con ventajas como una mayor producción de biomasa y bajo grado de polimerización frente a plantas de donde comúnmente se han extraído como la acerola y alcachofa (Douglas *et al.*, 2005. p.12). Los FOS son considerados como uno de los nuevos ingredientes alimenticios que cumplen los criterios como ingrediente prebiótico (Gibson y Roberfroid, 1998).

Estudios recientes se han centrado en el efecto antidiabético de esta fruta. Posiblemente, puede modular en el plasma la concentración de insulina e inhibir la gluconeogénesis hepática que recientemente se ha informado en el ámbito clínico (Genta y Col., 2009). Su consumo se hace atractivo para los diabéticos, como una herramienta potencial para el control del peso, ya que puede ser utilizado como edulcorante con valores de calorías relativamente bajos. Además de estos beneficios para la salud, existen informes sobre la función antioxidante del fruto (Takenaka *et al.* 2003) y reportes sobre los efectos hipoglucemiantes y antimicrobianos de las hojas (Utami *et al.* p.3).

Los estudios en humanos y animales, muestran los efectos benéficos del tubérculo de yacón, que incluyen mejoría en el tiempo de tránsito colónico, disminución significativa de medidas corporales como, peso, circunferencia abdominal e índice de masa corporal, además de la sensación de saciedad, mejoría de la biodisponibilidad de hierro y la retención de calcio en los huesos; éstos efectos pueden estar directa o indirectamente relacionados con la estimulación del crecimiento de bacterias beneficiosas y la producción de productos de fermentación (Ojansivu *et al.* 2011. p.4).

En animales como los porcinos los estudios han demostrado que la inulina puede modular e incrementar la microbiota intestinal, en particular las bifidobacterias y los lactobacilos de las cuales se notó incremento en diferentes segmentos del tracto intestinal, cuando se añadió inulina en concentraciones de 1,6% y 4% a la dieta de los cerdos y por otra parte, una disminución de microorganismos perjudiciales como, *Clostridium perfringens* en el colon y *Clostridium spp.*, en el recto (Paßlack *et al.* 2015 p.2).

Debido a los beneficios potenciales del uso de la raíz de yacón como un alimento funcional, existe la necesidad de obtener una mayor comprensión de la relación entre los fructooligosacáridos y otros componentes del tubérculo, con la salud gastrointestinal.

Perfeccionando la metodología de micropropagación en todas sus fases el impacto en la producción de yacón será de gran interés en el sector agrícola debido a la herramienta de trabajo tan importante que está despertando el cultivo del yacón en los agricultores por ser de gran potencial comercial para la industria nutracéuticas y alimenticia.

Teniendo en cuenta el interés que ha generado el yacón, se ha despertado una demanda creciente por obtener material vegetal certificado de excelente calidad, que es una cualidad innata que puede ofrecer el cultivo de tejidos al obtenerse plantas genéticamente homogéneas, de buena producción, resistentes y libre de patógenos.

En el ámbito científico se obtendrán metodologías que no solo servirán para trabajar con la misma especie, también serán referentes para trabajar con especies de la misma familia, además de esto, la transferencia de conocimiento entre los diferentes grupos de investigación, incentivando y motivando la generación de nuevos proyectos de investigación en la formación de nuevos paquetes tecnológicos para los productores tales como cultivo, cosecha, poscosecha y transformación.

Por lo anterior se estableció un protocolo para la propagación clonal *in vitro* del yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. y Endl.) Robinson] determinando el contenido del oligofruetosacárido tipo inulina en los diferentes órganos de la planta.

1 Revisión de literatura

El yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. y Endl.) Robinson] es una planta tuberosa de la familia *Asteraceae*, que en la última década ha despertado un gran interés por su importancia nutracéutica y económica ya que es utilizada como alimento completo. Sin embargo el reto está en su reproducción sexual el cual es la mayor limitante (Mansilla *et al.* 2010. p.2).

El yacón es una planta herbácea que puede llegar a medir desde 0,7 hasta 2,0 m de altura, con pocas o muchas ramas de acuerdo a su tamaño. Sus raíces son de

dos tipos, reservantes o tuberosas, engrosadas, fusiformes u ovadas que almacenan azúcares en forma de fructooligosacáridos (FOS), siendo éstos, los órganos de interés económico; exteriormente son de color crema, blanquecino o púrpura. Según la cepa tienen diferente color de pulpa, pudiendo ser blanca, anaranjada, crema o pigmentada de púrpura. El número de rizomas por planta varía desde 3 hasta 35 con un promedio de 12. Produce también algunas raíces delgadas, fibrosas, no engrosadas, cuyas funciones son fijación y absorción (ONU. 2012. p.5).

El yacón ha sido utilizado por las culturas andinas como una fruta refrescante o alimento bajo en calorías. Por esta misma razón, ha sido introducida a países como Estados Unidos, Nueva Zelanda, Japón, Corea y Brasil. Sus raíces están compuestas mayormente por agua (85 a 90%). El 40 al 70% de su peso seco está en forma de fructooligosacáridos (FOS), azúcares con efectos convenientes para la salud humana, y compuestos con un alto poder antioxidante, por lo que es considerado como nutraceutico, para tratar problemas de diabetes (Betalleluz. 2007. p.2).

1.1 Botánica

El yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl) Robinson. Es una planta perteneciente a la familia *Asteraceae* (también denominada *Compositae*) género *Smallanthus*. Inicialmente había sido clasificado por Wells en 1965, dentro de *Polymnia*, pero Robinson en 1972 lo reclasificó en un género que había sido creado por Mackensii en 1933 como *Smallanthus*, particularmente por un patrón de estrías que se encuentran en el fruto (Seminario *et al.* 2003). Las características morfológicas más sobresalientes son:

1.2 Género

El género *Smallanthus* pertenece a la familia *Asteraceae* (Compuestas) y actualmente contiene 21 especies que son incluidas en el género *Polymnia*. El género *Smallanthus* tiene su distribución restringida a América y su centro de diversidad se encuentra en Centroamérica y en los Andes. Las especies de *Smallanthus* son plantas perennes, raramente arbustos o pequeños árboles y sólo una especie es anual. El género se caracteriza por la superficie (con ligeras hendiduras) y forma del aquenio (radialmente engrosada y lateralmente comprimido), la nervadura foliar (casi siempre trinervadas o palmatilobuladas), presencia de un verticilio al exterior de las brácteas involucrales, la falta de glándulas en el ápice de las anteras y la forma de los pelos de la corola (con ápice agudo) (Dostert *et al.* 2009. p.8).

1.3 Morfología.

1.3.1 Tallo

Según Seminario *et al.* (2003), si la planta viene de una semilla, tiene un solo tallo principal, (ver ilustración 1C) a veces bifurcado desde la base, otras veces, sólo con ramas bajas en la parte superior. Si la planta proviene de propágulo o semilla vegetativa, consta de varios tallos. Los tallos son huecos, cilíndricos, de color verde a púrpura, su altura varía de 1 a 3 metros.

Smallanthus sonchifolius, es una hierba perenne de 1,5—3 m de altura, con tallo cilíndrico a angular, surcado, hueco en la madurez y densamente pubescente en la parte superior (Dostert *et al.* 2009. p.9).

1.3.2 Corona: raíces y rizomas.

Los órganos subterráneos del yacón están compuestos por un tronco engrosado y ramificado que se llama corona, con brotes que corresponden a los rizomas o propágulos. (ver ilustración 1E). A partir de los rizomas se forman las raíces, las cuales son de dos tipos: las fibrosas, delgadas y absorbentes que pueden alcanzar en promedio 60 cm de profundidad, y las raíces tuberosas, generalmente fusiformes, de almacenamiento con dimensiones que pueden sobrepasar los 25 cm largo y 10 cm de espesor. A diferencia de otras raíces de este tipo, su composición es un alto porcentaje de agua (70 - 90%) y azúcares del tipo fructanos en lugar de almidón.

El aspecto más llamativo de esta especie lo constituyen sus órganos subterráneos, conformados por un tronco engrosado y ramificado denominado corona, que presenta brotes cortos conocidos como propágulos o rizomas, en los cuales se almacenan sustancias de reserva en forma de carbohidratos simples y fructooligosacáridos (FOS), los cuales posiblemente sirven de alimento a las yemas, cuando estas van a brotar (Polanco, 2011. p.4).

1.3.3 Hojas

Las hojas son opuestas, con lámina decurrente hacia el pecíolo; la lámina foliar es anchamente obovada con la base hastada, auriculada o connada; las hojas

superiores son aovado-lanceoladas; el haz de la hoja es piloso y el envés pubescente. (Ver ilustración 1A) (Dostert, 2009. p.3).

1.3.4 Inflorescencia

La rama floral es terminal de ramificación dicásica, compuesta de inflorescencias llamadas capítulos. Cada rama puede contar con más de 40 capítulos (ver ilustración 1B). Una planta puede producir más 80 capítulos, los cuales son de colores brillantes amarillos o anaranjados y con pedúnculos sumamente pilosos. Cada capítulo tiene flores femeninas y masculinas. Las flores femeninas se ubican hacia el exterior del capítulo, cuya parte más vistosa y coloreada de amarillo es la lígula; presentan pistilo y estambres normales pero genéticamente están incapacitadas para producir semilla viable, y si producen dan lugar a plantas débiles (Polanco, 2011. p.24).

1.3.5 Flores

Las flores liguladas son femeninas, 2—3 dentadas, de hasta 12 mm de largo y 7 mm de ancho. Las flores tubulares son masculinas, con cerca de 7 mm de largo. El fruto es un aquenio, de 3,7 x 2,2 mm en promedio; tienen forma elipsoidal, color café oscuro, con epidermis lisa, endocarpio sólido caracterizado por el libre desprendimiento del pericarpio con un ligero frotamiento; algunos eco tipos no producen frutos y si los producen no son viables (Dostert *et al.* 2009. p.9).

Se plantea que el inicio de la escasa reproducción sexual se puede localizar en otro factor de la biología reproductiva como la androesterilidad citoplasmática. Esta ha sido descrita en más de 150 especies y colateralmente con los genes restauradores de la fertilidad fue usada en la multiplicación de híbridos. En las plantas androestériles citoplasmáticas el desarrollo de la antera puede estar afectado, o como en algunos mutantes CMS (Cytoplasmic Male Sterility) o Esterilidad Citoplasmática Masculina, las anteras pueden desarrollarse de forma normal, debido a la microsporogénesis y se detiene durante la meiosis o después. Generalmente en plantas (CMS), el tapetum o masa de células nutritivas de la antera sufre degeneración celular durante la meiosis, seguido después de la muerte de las microsporas inmaduras. Sin embargo, algunos genotipos (CMS) pueden estar cubiertos por la presencia de genes nucleares restauradores de la fertilidad. La androsterilidad citoplasmática en la mayoría de los casos se asocia a los ORFs (Open Reading Frames) o Marcos de Lectura Abiertos del genoma mitocondrial, y en otros casos como es el del tabaco se debe a la pérdida de genes mitocondriales. Según Mansilla *et al.* (2010), estos (ORFs) se originaron por algún tipo de recombinación aberrante en los genomas mitocondriales. Las

secuencias de los (ORFs) contienen a veces porciones parciales de genes mitocondriales y éstos pueden ser transcritos conjuntamente con otros genes funcionales. (ver ilustración 1B)

1.3.6 Flor femenina.

Cada capítulo presenta entre 14 a 16 flores femeninas y entre 80 a 90 flores masculinas. Las flores femeninas abren previamente que las masculinas e igual se marchitan primero que la flor macho. La corola de la flor femenina está formada por la fusión de cinco pétalos (corola simpétala) tres de estos pétalos constituyen la lígula, que es ampliada en la parte media y bi o tridentada en el ápice, a veces con dientes apenas evidente. Los otros dos pétalos están sometidos, formando un pequeño tubo en la parte basal de la lígula. Cercando a la rama estigmática, en su parte externa y por encima del ovario, se implanta el papus o vilano, que son brácteas modificadas en pequeñas cerditas o pelos de color blanquecino. La lígula mide aproximadamente entre 11 a 14 mm. Puede ser de carácter oblonga, oval-elíptica, o elíptica. La forma de la lígula es un carácter que se tiene en cuenta para la determinación del germoplasma del yacón. El estilo es recto y en el extremo superior se abre formando un estigma bilabiado. El ovario es fusiforme a troncocónico de color púrpura (Seminario *et al.* 2003. p.22).

1.3.7 Flor masculina

La flor masculina tiene gineceo no funcional. La corola está constituida por cinco pétalos soldados formando un tubo pentadentado (5 lobular), con una espesa pilosidad en la cara externa. Muestra cinco estambres de filamentos libres y anteras connadas a la porción apical del estilo (estigma). En la antesis, las anteras se rompen dejando evidente el estilo, de color amarillo, que sobresale de la corola tubular. Las anteras son de color negro, con finas líneas amarillentas en la connación. El grano de polen es esférico y espinoso y a veces tripulado, de color amarillo brillante y de consistencia pegajosa (Seminario *et al.* 2003. p.22).

1.3.8 Fruto.

El fruto es un aquenio, que proviene de un ovario ínfero, con más de un carpelo. El pericarpio es descarnado y seco a la madurez, exteriormente muestra estrías,

longitudinales, que constituyen surcos paralelos. La semilla se encuentra acoplada al pericarpio, sólo por el funículo. El aquenio es piramidal con ángulos no bien definidos y redondeados, de ápice truncado y base ensanchada. En promedio mide unos 3,7 mm de largo y 2,2 mm de ancho. Cien semillas pesan entre 0.6 a 1.2 gramos. (Ver ilustración 1D) (Seminario. p.22).

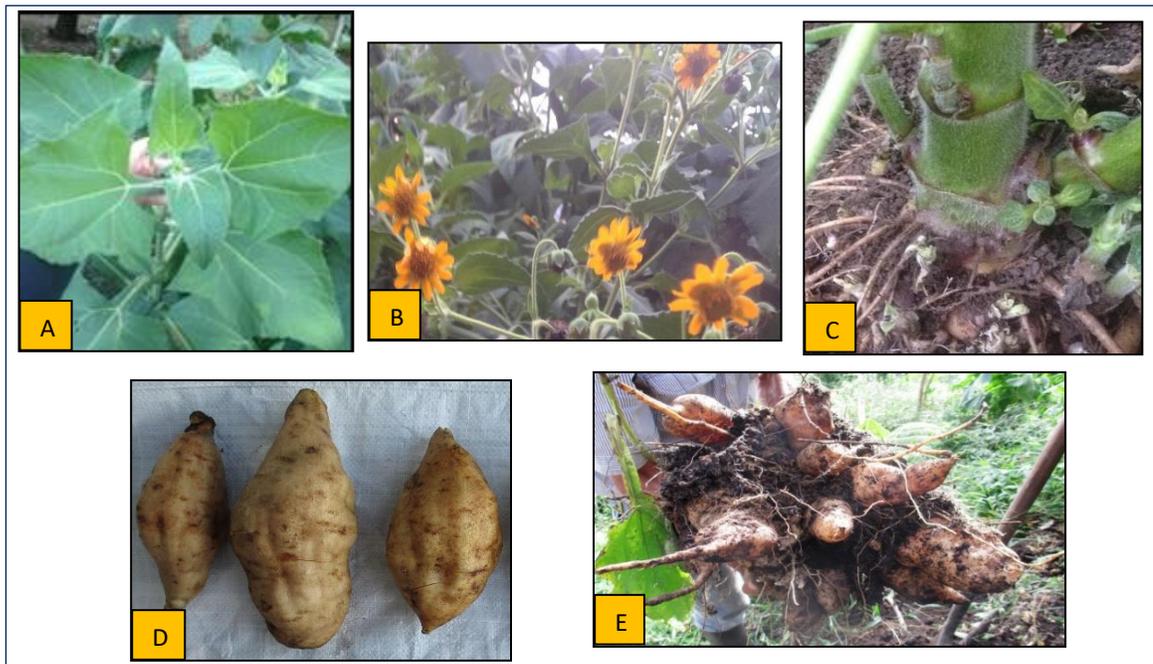


Ilustración 1. Morfología de la planta de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

A. Hojas. B. Flor compuesta. C. Cepa. D. Tubérculos color crema de forma napiforme. E. Raíces reservantes de yacón a la cosecha. Fotos: Autor - Unidad de biotecnología – UCO.

1.4 Taxonomía.

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Subfamilia: Asteroideae
Tribu: Millerieae
Género: *Smallanthus*
Especie: *S. Sonchifolius*
N.C.: *S. sonchifolius* (Poepp & Endl) H. Robinson
Sinonimia: *Polymnia sonchifolius* Poepp & Endl
(Polanco 2011. p.19)

1.5 Distribución mundial.

El yacón está distribuido en gran parte del territorio andino como planta silvestre o en cultivo, desde Ecuador en el norte, hasta el noroeste argentino en el sur ha sido ocasionalmente reportado para Colombia y Venezuela. El centro de diversidad se encuentra entre la cuenca del Apurímac en el sur de Perú (14°S) y La Paz en Bolivia (17°S). En esta zona se encuentra la más alta diversidad genética, y tres especies silvestres relacionadas en las últimas tres décadas, también se han realizado cultivos fuera de su área de distribución natural, parte de ellos en forma masiva, sobre todo en Nueva Zelanda, China, Rusia, Taiwán, Japón, Corea, Brasil y en la antigua Checoslovaquia (Dostert *et al.* 2009. p.10).

1.6 Distribución en Colombia.

Se cultiva ancestralmente en el departamento del Cauca, en los municipios de la Sierra, Sotará, la Vega, San Sebastián, Santa Rosa en la Red de Reservas de la Cocha departamento de (Nariño); en el departamento del Huila, municipio de Garzón. También se puede encontrar cultivares de yacón en el departamento de Risaralda municipios de Pereira, Guática y Santa Rosa de Cabal; en el departamento del Quindío en los municipios de Salento, Calarcá y Córdoba; en el departamento de Cundinamarca municipio de Anolaima; también se puede encontrar en los departamentos del Valle, Antioquia y Tolima en este último, el germoplasma repartido a los campesinos de las localidades de Palocabildo, Cajamarca, Falán e Ibagué, se encuentra mayoritariamente en proceso de multiplicación. La zona agroecológica más apta para el desarrollo y adaptación del yacón es el bosque húmedo tropical, presenta buena adaptación por encima de los 1.200 m.s.n.m hasta los 2.700 m.s.n.m. Es utilizado para alimentar al

ganado, eliminar el sobre parto en las vacas, aliviar el dolor de espalda, controlar la hipertensión y la fiebre. (Renso 2003, p.3).

En general, el cultivo es posible en latitudes templadas y subtropicales (0—24°). Aun cuando el yacón puede ser cultivado en casi todo Perú, este se desarrolla de la mejor manera en los pisos altitudinales entre 1.100 y 2.500 m; sin embargo, en Amazonas y San Martín, puede ser cultivado exitosamente incluso hasta en los bosques nublados (3.600 m). Los rangos de altitud que han sido indicados para otros países sugieren una alta capacidad de adaptación: 900—3.500 m en Bolivia y Ecuador, 600-2.500 m en el noroeste argentino, 600 m en Brasil y al nivel del mar en Nueva Zelanda y Japón (Dostert *et al.* 2009. p.4).

2 Ecología

Según Polanco (2011)., la información acerca de los requerimientos medioambientales del yacón, es mínima y desactualizada, siendo una planta que coevolucionó en las laderas húmedas de los Andes Occidentales cerca la línea ecuatorial, una región con temperaturas medias y generalmente con abundantes lluvias aunque con distintos períodos secos, estas condiciones ecológicas son probablemente las requeridas. El crecimiento y formación de raíces del yacón no son afectados por el fotoperíodo, sin embargo este proceso es más lento en los lugares de alta latitud (mayores a 23°C). La temperatura óptima para su crecimiento está en el rango de 18 a 25°C, siendo necesarias las bajas temperaturas en la noche para una apropiada formación y llenado de la raíz. No soporta las heladas, pero si hay daño, esto, es compensado por una gran capacidad de rebrote (Grau y Rea, 1997). Agricultores de Argentina y del Sureste de Bolivia indican que la mejor altitud para que haya una buena producción de raíces está entre los 1.500 a 2.000 m.s.n.m., mientras que las tierras bajas y cálidas son mejores para la producción de semilla vegetativa (rizomas). Los requerimientos de agua están entre los 600 y los 1.000 mm³ de lluvia anuales, siendo considerado como óptimo 800 mm³. El yacón puede sobrevivir largos periodos secos, sin embargo la productividad es severamente afectada bajo estas condiciones. La abundante humedad puede conducir al rajamiento y pudrición de las raíces afectando la calidad externa y su valor en el mercado (Grau y Rea, 1997). Se adapta a un amplio rango de tipos de suelos, aunque prefiere los francos, a francos arenosos, moderadamente profundos a profundos, con buena estructura y bien drenados, con pH ligeramente ácido a neutro, con buena cantidad de materia orgánica y rico en minerales. Crece bien bajo la sombra de los árboles, como también a plena exposición solar.

2.1 Hábitat.

Se entiende que el yacón y las especies emparentadas han prosperado en territorios húmedos de la vertiente oriental de los Andes, bajo condiciones de temperaturas moderadas y un período estacional con sequía acentuada (Machuca, 2007, p.11).

Es una planta nativa que prospera entre los 900 y 2.750 m.s.n.m. a lo largo de los Andes sudamericanos. También se cultiva en algunas regiones del sureste de Asia, difundiéndose en varias áreas del trópico y subtropical. Es una especie que se desarrolla en días cortos y largos; requiere humedad en las primeras etapas de crecimiento, después puede soportar períodos de sequía; soporta temperaturas altas y mínimas de 4 - 5 °C y muestra una amplia adaptación para la producción de follaje, sin embargo para raíces comestibles, requiere suelos profundos, ricos y bien drenados. Su desarrollo vegetativo abarca de seis a siete meses, pudiendo cultivarse todos los meses del año (Machuca, 2007, p.21).

2.2 Crecimiento.

Un buen crecimiento se produce bajo temperaturas entre 18 y 25°C, en el que las hojas toleran temperaturas de hasta 40°C sin daño visible. Temperaturas nocturnas bajas en lugares de altitud media llevan a un desarrollo óptimo de raíces de almacenaje, mientras que zonas bajas cálidas favorecen un mayor desarrollo de porciones caulinares subterráneas o propágulos (erróneamente llamados rizomas). Los órganos aéreos del yacón no son tolerantes a las heladas y evidencian daño bajo temperaturas desde -1°C (Dostert *et al.* 2009. p.17). El cultivo del yacón, sin embargo, no presenta problemas en zonas con heladas débiles en tanto que estas ocurran al término del período vegetativo. En Nueva Zelanda, temperaturas de alrededor de -7°C producen también la muerte de todos los órganos subterráneos de la planta. Temperaturas menores a 10 - 12°C bajo radiación solar intensa llevan a daño en las hojas.

En general, el cultivo es posible en latitudes templadas y subtropicales (0 - 24°). Aun cuando el yacón puede ser cultivado en casi toda la región andina, desde la costa (Lima, Trujillo) hasta los bosques lluviosos de tierras bajas, este se desarrolla de la mejor manera en los pisos altitudinales entre 1.100 y 2.500 m.s.n.m. Los rangos de altitud que han sido indicados para otros países sugieren una alta capacidad de adaptación: 900—3.500 m.s.n.m. en Bolivia y Ecuador, 600-2.500 m.s.n.m. en el noroeste argentino, 600 m.s.n.m. en Brasil y al nivel del mar en Nueva Zelanda y Japón (Dostert, 2007. p.11 - 12).

2.3 Propagación.

El yacón es propagado vegetativamente por medio del rizoma, un órgano subterráneo de la planta del cual se pueden obtener entre 6 a 14 propágulos. Otros métodos de propagación no tradicionales incluyen los nudos y los esquejes de tallo. La reproducción sexual del yacón no es común debido a la escasa formación de semilla sexual fértil haciendo de este un método difícil de reproducción (Hermann *et al.* 2004. p.2).

2.4 Propagación por cepa (sistema convencional).

De la cepa o corona, se extraen, seccionándolas con un cuchillo, porciones que deben tener de 4 a más yemas o brotes. Cada porción debe tener suficiente tejido de reserva que asegure su establecimiento en el campo y el brotamiento de las yemas. El peso promedio de cada una debe estar entre 50 y 80 g con dimensiones aproximadas de 8 a 12 cm de largo. Dependiendo del tamaño de la cepa, se pueden extraer de 3 a 30 porciones de cada una (Valderrama, 2005. p.3).

2.5 Propagación por esquejes de tallo.

Seleccionadas las plantas madres, se cortan desde la base, tallos maduros y se les quita las hojas. Luego se cortan los esquejes, cada uno con dos o más nudos: El corte inferior es transversal y debajo del nudo; y el superior se hace en forma de bisel. La longitud del esqueje varía de 10 hasta 20 cm, procurando uniformidad en el tamaño. No se recomienda obtener estacas con entrenudos excesivamente largos, seleccionar aquellas cuya distancia entre sus nudos no sea mayor a 15 cm y tampoco aquellas que son delgadas o que presentan magulladuras y daños por fitófagos (Valderrama 2005. p.3)

El enraizamiento alcanza el 96% a los 30 días aproximadamente para estos dos tipos de prácticas. Si el terreno definitivo para el trasplante se halla lejos, sacar cuidadosamente los esquejes enraizados con algo de sustrato y colocarlos en un recipiente con agua de tal manera que las raíces no pierdan humedad. En estas condiciones, los esquejes pueden permanecer sin problema por dos días como máximo. Realizar el trasplante por las tardes y en suelo húmedo (Valderrama 2005. p.3).

2.6 Propagación por nudos de tallo individuales.

Para esta técnica, se cortan tallos de plantas que cumplan con las condiciones descritas en la propagación por esquejes. Luego se les quita las hojas, cuidando de no cortar excesivamente la base del peciolo, pues las nuevas yemas se originan en este punto. Sobre una tabla, se coloca el tallo sin hojas y con una cuchilla filuda, se corta a ambos lados del nudo, de 1.5 a 2.0 cm (ancho del dedo pulgar), de tal manera que la porción de nudo tenga entre 4 a 5 cm. Se desinfectan de la misma manera que para estacas, debido a que los nudos deben permanecer en la solución desinfectante sólo 2 minutos, para evitar “quemar” las yemas (Valderrama 2005. p.3).

3 Usos del yacón

Según Sequeiros *et al.* 2003. p.5, el tubérculo es cortado y añadido a las ensaladas, impartiendo sabor y textura. También se consume sancochado u horneado, en la cocción estos permanecen dulces y ligeramente tostados. A pesar de sus cualidades solo el 1% de la población suramericana lo consume, ya que este producto llega en forma limitada al mercado.

Esta especie es producida con diversos fines, en los andes, se rallan y se exprimen para ser filtrados por una tela para obtener una bebida dulce y refrescante.

Algunas veces cuando está concentrado, forma bloques de azúcar, un turrón oscuro llamado chancaca. La cáscara puede tener un sabor desagradable, por lo que los tubérculos se pelan antes de comerlos. Uno de los usos potenciales de la especie es el forraje, ya que se puede alimentar ganado con los tallos y las hojas, los cuales contienen entre 11 y 17% de proteína (Sequeiros, p.5).

Como uso procesado está el zumo, que se obtiene de manera similar a como se procede con la caña de azúcar, también se producen jarabes y chips secos, para esto la raíz es pelada y luego cortada en rodajas bien delgadas y por último encurtido de yacón.

Según (Seminario *et al.* 2003. p.8), existe un interés creciente por diversificar e inventar nuevas formas del consumo del yacón, en la gastronomía novandina existen ya algunos platos y postres que usan el yacón como ingrediente principal. Simultáneamente, en varias instituciones del país (Perú) se están desarrollando diferentes productos procesados sobre la base del yacón, como pasas de yacón, jarabe de yacón, hojuelas de yacón, jarabe de yacón de alta fructosa y té de yacón.

3.1 Usos del yacón en Colombia.

Manrique *et al.* 2003, describen, que el yacón tradicionalmente se consume como fruta fresca o deshidratada en diferentes grados, de manera ocasional en algunas localidades, en forma de jalea, chicha, tisanas, grageas y jarabe de yacón. Como fruta fresca es un buen rehidratante debido a su alto contenido de agua, además puede prevenir la fatiga y los calambres por su alto contenido de potasio (Polanco 2011, p.35).

4. Composición química

Los efectos beneficiosos para la salud de los prebióticos han provocado un aumento de los estudios de ecología microbiana en el intestino humano y de los animales con el fin de comprender mejor los vínculos entre la alimentación, la microbiota intestinal y la salud general. Dos enfoques se utilizan para incluir prebióticos en la dieta. Una de ellas es la adición de compuestos prebióticos a los alimentos de consumo habitual. La otra es la de incluir alimentos funcionales, alimentos que contienen naturalmente altas concentraciones de prebióticos en la dieta. Polímeros de fructosa son un grupo de prebióticos que pueden ser divididos en oligofructosa de cadena larga, se encuentran comúnmente en la achicoria y alcachofa, y la oligofructosa de cadena corta, que se encuentra en el tubérculo yacón. La inclusión de estos alimentos en dietas ha informado para promover el crecimiento de microorganismos intestinales beneficiosos, tales como bifidobacterias y lactobacilos, y para aumentar la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el ciego. El uso del tubérculo yacón como alimento funcional está ganando interés, ya que contiene antioxidantes, y una alta fracción de su biomasa seca que se compone de compuestos prebióticos, fructo-oligosacáridos (FOS, de tipo inulina oligofructanos) (Utami, 2013. p.2).

Además del fruto, en las hojas y flores del yacón, autores como Forville *et al.* 2014., señalan que, en estas partes, se encuentran compuestos fenólicos, importantes por su acción antioxidante. El ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) y la rutina (quercetina-3-rutinósido trihydroxydrate), son los compuestos fenólicos más abundantes encontrados en los extractos de las hojas, en aproximadamente 42.2 mg y en 39.71 mg. respectivamente. Miricetina (3,3,4,5,7-hexahydroxyflavone) y ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico), proveen la actividad antioxidante más alta en hojas y flores. Esto afirma que además del fruto del yacón las hojas y las flores prometen una cantidad de ácidos fenólicos y flavonoides con propiedades antioxidantes apreciables.

Santana *et al.* 2008. p.4, describen que el yacón ha sido el foco de atención en las últimas décadas, ya que tiene compuestos bioactivos importantes para la salud humana, su composición principal es agua y sustancias de hidratos de carbono, que se almacenan principalmente en forma de fructooligosacáridos (FOS) y otros azúcares. El contenido de agua de la raíz se encuentra alrededor de 83-90% de peso fresco. Debido al alto contenido de agua, el valor de energía de la raíz es bajo. Este factor también reduce su vida útil en condiciones ambientales, (cerca de 7 días) ya que los tejidos internos de las raíces son sensibles, característica que los predispone a sufrir grietas o romperse fácilmente durante la cosecha, empaque y transporte (Santana, p4).

Con respecto a los hidratos de carbono, los azúcares que se encuentran entre los monosacáridos son la glucosa y la fructosa, disacáridos como la sacarosa, además de oligosacáridos y fructooligosacáridos como la Inulina, y finalmente también compuesto por pequeñas cantidades de almidón. Las raíces contienen entre el 10 y el 14% de materia seca y aproximadamente el 90% de carbohidratos. La composición de azúcares varía considerablemente dependiendo de factores tales como variedad, cada vez más tiempo de la temporada y la cosecha y la temperatura en post-cosecha (Santana, p4).

El contenido de otros nutrientes en yacón es bajo, sólo minerales como el potasio se encuentra en cantidades importantes. En las raíces como las hojas contienen compuestos con un alto poder antioxidante: ácido clorogénico, triptófano y varios fenoles derivados del ácido caféico. Es recomendable procesar el yacón inmediatamente o refrigerar, debido a que una semana después los contenidos de oligofructosa (OF) bajan en un 30 a 40%. Por otro lado, la costumbre tradicional de solear (exponer al sol) las raíces por unos días para que se vuelvan más dulces, acelera el proceso de conversión de la OF en azúcares simples. Para evitar la degradación de la OF en el procesamiento, es preferible no exceder temperaturas superiores a 120°C (Muñoz, 2009, p.21).

Varios compuestos se han aislado e identificado en las hojas y raíces de yacón, entre ellos, el ácido clorogénico, L-triptófano, ésteres de ácidos caféico, ácido ferúlico y los aceites esenciales β -pineno, cariofileno y γ -cadineno, entre otros. La mayoría de éstos fueron beneficiosos para el consumo humano, y se determinó, la actividad antioxidante del yacón, identificándose dos antioxidantes principales, el ácido clorogénico y L-10 triptófano. El ácido clorogénico y sus derivados son antioxidantes típicos en las plantas terrestres, como la papa, la manzana y el tomate. El L-triptófano es un aminoácido esencial para los animales y los seres humanos, también conocido como precursor de la melatonina y la serotonina (Albarracín, 2015. p10).

4.1 Los fructooligosacáridos.

Carvalho *et al.* 2004. refieren que las raíces de yacón acumulan una gran diversidad de azúcares, entre los que se encuentran: fructosa, glucosa, sacarosa, trazas de almidón y oligosacáridos, que representan un 67% de la materia seca total de la raíz y que se encuentran también pequeñas cantidades de vitaminas, minerales y otras fibras.

En los países pertenecientes a la región andina el yacón es consumido en su forma cruda después de secarlos al sol y como si fuese una fruta, dado su sabor dulce y su textura crujiente, comparable con la pera. No obstante se estima que la cantidad de fructanos se ve significativamente disminuida por el tratamiento solar y por ende se da la conversión a fructosa, por lo cual es más recomendable el uso de prácticas alternativas de secado o de consumo. En los primeros días de desarrollo de raíces tuberosas de yacón, la concentración de estos azúcares simples es alta y los (FOS) son bajos.

Dos enzimas son responsables de la síntesis de (FOS) a partir de sacarosa. La enzima sacarosa fructosiltransferasa (SST), que cataliza la unión de dos moléculas de sacarosa para producir una sola molécula y la segunda enzima es un fructano: fructano fructosiltransferasa (FFT) y su función es catalizar la unión de dos oligofructanos para producir un mayor grado de polimerización. Así, la energía necesaria para satisfacer la demanda de estos procesos viene de la despolimerización de las cadenas de fructooligosacáridos almacenados (Carvalho *et al.*, 2004).

Diferentes estudios han demostrado que poco después de la cosecha se inicia un rápido proceso de cambio en la composición química de sus azúcares: los azúcares polimerizados tienden a la despolimerización, es decir, los (FOS) son hidrolizados por la simple acción de la fructano hidrolasa (FH) y después de una semana de almacenamiento a temperatura ambiente aproximadamente, del 30 al 40% de los (FOS) se han convertido en azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa (Graefe *et al.* 2004).

Sin embargo, la velocidad de esta conversión es más lenta si el yacón se almacena a temperaturas de refrigeración. Las temperaturas de refrigeración también son útiles para reducir la tasa de deterioro y la degeneración de las raíces durante el almacenamiento.

Esto sugiere que, para obtener el máximo beneficio de los (FOS), la mejor manera de consumir yacón es fresco.

Según (Graefe *et al.* 2004), los cambios en el contenido de fructosa, glucosa, sacarosa y fructanos durante el desarrollo y el almacenamiento de raíces tuberosas de yacón mostró, que el contenido de (FOS) en las raíces almacenadas a 5°C es significativamente más alta que en las raíces almacenadas a 25°C, lo

que apunta que la velocidad de la conversión se hace más lenta cuando las raíces se almacenan en temperatura de refrigeración. Durante las dos semanas de almacenamiento de las raíces de yacón en pozos excavados en el suelo a 5°C y 25°C, el contenido de fructooligosacáridos disminuyó respectivamente, a 21,33 y 41% del total determinado en la cosecha y el contenido de fructosa, glucosa y sacarosa iba incrementando.

Según las investigaciones de los autores indican que los (FOS) son un tipo de fibra soluble abundante en vegetales como el espárrago, la cebolla o el puerro, entre otros. Normalmente el organismo no es capaz de digerir estas sustancias, aunque sí se usan como fuente energética por las bacterias del intestino grueso, en particular por las del género *Bifidobacterium*. Ésta es la principal función de la que derivan los efectos positivos de los fructooligosacáridos sobre la salud del sistema digestivo, la función inmunológica y su papel relevante en la prevención de cáncer de colon (Zudaire Maite, 2012. p.5).

La fermentación de los prebióticos puede promover algunas funciones fisiológicas específicas a través de la liberación de metabolitos de las bacterias en especial los ácidos grasos de cadena corta (AGCC: acetato, propionato, butirato, lactato, etc.) al lumen intestinal. Participan en procesos como la proliferación de mucosa, previenen la inflamación, disminuyen la carcinogénesis colorrectal, ayudan a la absorción de minerales y la eliminación de compuestos nitrogenados. Al ser aceptados los FOS como alimentos funcionales por la legislación de varios países (E.E.U.U., Japón, Unión Europea), el mercado de prebióticos se encuentra en rápida expansión (Betalleluz. 2007. p.2).

Varias investigaciones in vivo e *in vitro*, han evaluado el potencial tóxico, genotóxico y carcinogénico de los fructanos, demostrando que estos no presentan ningún efecto adverso sobre la salud humana. Sin embargo, el único efecto notado después del consumo de grandes cantidades diarias (44 g en hombres, 49 g en mujeres o 5% de la dieta total diaria en ratas) es la producción de deposiciones blandas y diarrea, efecto característico de los oligosacáridos de baja digestión (Roberfroid and Delzenne 1998; Sangeetha *et al.* 2005. p.23).

Las investigaciones realizadas desde 1958 han permitido determinar diferentes dosis, siendo el NOEL (Not Observed Effect Level) de 2.170 mg Kg/día, de acuerdo con los estudios de toxicidad crónica y subcrónica en ratas, y el EDI (Estimated Daily Intake) de 806 mg/día. Debido a la evidencia histórica sobre su uso y a estudios realizados por la FDA, los FOS han sido clasificados como GRAS (Generally Recognized as Safe), garantizando que son seguros en las condiciones de uso propuestas (Muñoz. 2011. p.3).

Debido a la configuración β del segundo carbón numérico de la fructosa, los (FOS) son resistentes a la hidrólisis realizada por enzimas digestivas como α -glucosidasa, maltasa, isomaltasa y sacarosa, que son específicas para enlaces α -glicosídicos. La baja digestión de los fructanos en el tracto digestivo humano, hace

que estos sean eliminados por la orina en un 97%, razón por la cual son considerados como ingredientes alimenticios de bajo aporte calórico (1,5 Kcal/g) (Muñoz 2005, p.3).

4.2 Producción de fructooligosacáridos

La producción de fructooligosacáridos, se encuentra enmarcada por los desarrollos en la enzimología. Es así como su obtención, se realiza principalmente en lotes empleando la enzima soluble o el microorganismo, o en sistemas continuos empleando la enzima o el microorganismo inmovilizado bien sea en perlas de polímeros o sobre membranas. Los pioneros a nivel mundial en la producción industrial de FOS, se encuentran en Tokio (Japón) con la compañía Meiji Seika Kaisha Ltda., que ha patentado el proceso de inmovilización de la fructosiltransferasa (FTasa) proveniente del *Aspergillus niger* ATCC 20611; y la compañía Nihon Shokuhin Kako Ltd., que ha patentado el proceso de fabricación empleando tanto el micelio como la espora, proveniente del hongo *Aspergillus sydowi* (Guio *et al.* 2009).

4.3 La inulina

La inulina es un polisacárido no digerible por el cuerpo humano que está presente en diferentes vegetales, frutas y cereales a nivel industrial la inulina se extrae de la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*) y se utiliza ampliamente como ingrediente en alimentos funcionales. La inulina y sus derivados (oligofructosa, fructooligosacáridos) son generalmente llamados fructanos, que están constituidos básicamente por cadenas lineales de fructosa (Madrigal *et al.* 2007 p.4).

Se puede extraer de plantas de distintas familias como son *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* y *Compositae*, siendo la principal fuente la achicoria (*Cichorium intybus*).

La característica de la inulina más estudiada es su comportamiento como prebiótico, definido por su capacidad selectiva de estimular el crecimiento de un grupo de bacterias en el colon (bifidobacterias y lactobacilos) y con la consecuente disminución de otras especies perjudiciales como la *Escherichia coli* y bacterias del género *Clostridium spp.* (Ranjitha *et al.* 2007. p.34).

Además, la inulina se considera un alimento funcional dado que sus componentes (que pueden ser o no nutritivos), tienen un efecto sobre una o varias funciones del

organismo originando un efecto positivo sobre la salud y reducción en el riesgo de enfermedades. Como suplemento se añade para incrementar el contenido de fibra dietética de los alimentos, dichas adiciones son usualmente de 3 a 6 g. por porción, llegando a añadir hasta 10 g. en casos excepcionales. Al ser agregados a los alimentos estos últimos pueden declarar actividad bifidogénica. Al ser digerible únicamente por las bacterias de la microflora intestinal, se ha empleado como cubierta de fármacos para tratar enfermedades del colon para que, de ese modo, la liberación de su principio activo se dé exclusivamente en esa zona (Lara. 2011. p.4).

La inulina es una fibra dietética soluble extraída de vegetales, constituida por polímeros de fructosa unida por enlaces β (2 \rightarrow 1); la povidexrosa, en cambio, es un compuesto sintético producido mediante la polimerización de glucosa, sorbitol, y ácido cítrico (1, 2). Tanto la inulina como la povidexrosa pueden ser utilizadas en alimentos como sustitutos de la grasa; ambos tienen un bajo valor calórico y son reconocidos como GRAS (Gotteland *et al.* 2006, p.3).

4.4 Técnicas de cuantificación de la inulina.

La cuantificación de la inulina puede desarrollarse mediante metodologías utilizadas para la cuantificación de fructanos o fructooligosacáridos (FOS), como la espectrofotometría, la cromatografía de gas capilar y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Montañez *et al.* 2011. p.12).

4.5 HPLC.

La HPLC (High Performance Liquid Chromatography) o Cromatografía líquida de alta eficiencia, se utiliza para determinar las cantidades relativas de los diferentes compuestos que se encuentren presentes en una muestra, (glucosa, fructosa, sacarosa), no es preciso para compuestos de grado de polimerización mayores a 5 (GP > 5) (Herrera, A. 2011. p.54).

La HPLC es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada debido a sus cualidades de sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su gran adaptabilidad a sustancias que son de gran interés para la industria, la ciencia y la sociedad, incluyendo sustancias tan diversas como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenos, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una gran variedad de sustancias inorgánicas (Herrera, A. 2011. p.54).

La Cromatografía de gas capilar, útil para la determinación cuantitativa de fructanos con GP < 10, y también para distinguir las moléculas que tienen una unidad de fructosa terminal (GF_n) de aquellas que no la poseen (Fn). Por permetilación y posterior cromatografía capilar de gases y espectrometría de

masas, con este procedimiento se puede estudiar las características particulares de la estructura química del fructano, el tipo de enlace y la frecuencia de ramificación (Madrigal *et al.* 2007. p.20).

A pesar de que el método cromatógrafo estándar AOAC 997.08 resulta confiable en sus resultados, su aplicación requiere tiempo y es indispensable el uso de un aparato específico de cromatografía. Es así como existen otros métodos estándares para la determinación, entre ellos se encuentra el método AOAC 999.03, el cual también está basado en tratamientos enzimáticos de hidrólisis y posterior determinación de azúcares, por espectrofotometría. Posee la limitación de que los compuestos provenientes de la hidrólisis de la inulina son subestimados (Madrigal *et al.* 2007. p.20).

5 Cultivo de tejidos.

Según Calva 2005, El cultivo de células y tejidos vegetales se refiere al conjunto de técnicas usadas para crecer células, tejidos u órganos vegetales *in vitro*, bajo condiciones asépticas, controladas y libres de microorganismos (Street 1977, Calva y Ríos 1999). Se basa en el principio de totipotencia, que indica que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta a la que pertenece sin importar su función o posición en ella, y por lo tanto tiene el potencial para regenerar una nueva planta completa. La imprecisión de esta definición puede generar muchas polémicas, es actualmente aceptada. Generalmente es común dividir las técnicas del cultivo de tejidos en dos grandes grupos: a) Cultivos en medios semisólidos y b) Cultivos en medios líquidos, los que a su vez pueden ser agitados (mediante el empleo de agitadores de uso continuo) o estacionarios. También es frecuente dividir al cultivo de tejidos atendiendo a los niveles de complejidad en cultivo de órganos, cultivos celulares y cultivo de protoplastos. Para el establecimiento de los cultivos utilizando cualquiera de los sistemas es necesario tener en cuenta algunos aspectos generales comunes relacionados con el explante, la asepsia, el medio de cultivo y las condiciones de incubación (Mroginski *et al.* 2004, p.32).

Según (Montoya *et al.* 2008, p.2) la tuberización es un proceso fisiológico complejo, regulado por factores, que incluyen los ambientales, hormonales, suplemento de nitrógeno, densidad de inóculo, fuente de explante, cultivar y concentración de sacarosa. Sin embargo, es posible suministrar fuentes de carbono externas para producir suficientes carbohidratos con el fin de promover el crecimiento celular y la subsecuente regeneración. Se han desarrollado varias técnicas para la producción de microrrizomas *in vitro*. Entre ellas está la técnica de los BIT. Esta tecnología ha sido empleada satisfactoriamente en la inducción de tubérculos *in vitro* de papa.

Fernández, (2010). afirma, que para la micropropagación rápida de yacón. Los factores más importantes son la composición del medio de cultivo, el tiempo de cultivo y el origen del clon.

6. METODOLOGÍA

6.1 Establecimiento aséptico.

La selección y colecta de las plantas se realizó en el municipio de San Vicente (Antioquia) y la caracterización botánica en el herbario de la Universidad Católica de Oriente (HUCO), donde se catalogó con los registros N° 0004822, 0004823 y 0004824. Para el establecimiento bajo condiciones *in vitro* se utilizó el protocolo desarrollado por Suárez (2013) el cual se describe a continuación. Se realizó un preacondicionamiento de las plantas madres en condiciones de vivero que consistió en la aspersion de oxiclورو de cobre 1 g/L y un bactericida a base de sulfato de gentamicina 1 g/L por 8 días. En la ilustración 2. se muestra la imagen de la planta madre que se utilizó para la extracción de los explantes. Luego se colectaron porciones de tallo con tres o más entrenudos con la ayuda de unas tijeras previamente desinfectadas con yodo y se llevaron al laboratorio. Allí se les hizo un lavado con jabón común y un cepillo, luego se sumergieron en una solución con benomyl (1 g/L) durante 15 minutos; se cortaron en pequeños segmentos y se introdujeron al cuarto de siembra donde se sumergieron en nitrato de plata 0.5 gr/L durante un minuto, Como fuente de explantes se seleccionaron meristemas apicales y laterales, en la desinfección se utilizó hipoclorito de sodio (1%) durante 15 minutos en constante agitación, posteriormente se hizo un triple lavado con agua estéril. Durante la siembra se efectuó la limpieza del tejido muerto producto de los desinfectantes previniendo así la oxidación de los meristemas y dejándolos en un diámetro de 3 mm para un mejor desarrollo de los explantes.



Ilustración 2. Planta madre de yacón *Smallanthus sonchifolius*, en preacondicionamiento.

6.2 Fase de multiplicación de meristemas.

Para el ensayo se evaluó el efecto de la citoquinina BAP (0, 0.5, 1, 2, 3 y 5 mg/L) sobre la proliferación de los brotes, se tomaron brotes de 3mm de altura se sembraron en el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) con los cinco tratamientos de BAP; el pH en todos los medios de cultivo se ajustó a 5.7 ± 0.1 . Se utilizó un diseño completamente al azar con 30 repeticiones cada uno. Las condiciones de fotoperíodo fueron de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Las variables que se evaluaron a los 30 días, posterior siembra correspondieron a: tasa de proliferación, longitud, altura de los brotes y número de hojas. Se realiza cambio de medio a los 21 días para evitar agotamiento.

6.3 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indolbutírico).

Se evaluó el efecto de la auxina AIB (0, 0.5, 1 y 3 mg/L) sobre la formación de raíces. Se tomaron brotes de 1.0 cm de altura con cuatro semanas de edad; se sembraron en el medio MS enriquecidos con sacarosa al 3%, en sus respectivos tratamientos de AIB durante 45 días. Se utilizó un diseño completamente al azar compuesto por cinco unidades experimentales, cada una con tres brotes. Las condiciones de incubación fueron: fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Se evaluó el porcentaje de enraizamiento, número de raíces y longitud radical. Se realiza cambio de medio a los 30 días para evitar agotamiento.

6.4 Efecto de la sacarosa y BAP sobre la inducción de microrrizomas.

Para el ensayo del efecto del BAP y la sacarosa en la inducción de microrrizomas con diferentes concentraciones y combinaciones de BAP (1, 2, 3 y 5 mg/L) y sacarosa (3.0%, 6.0% y 9.0% p/v), en brotes plenamente desarrollados. Se utilizó un diseño factorial 4 x 3, donde cada tratamiento tuvo seis repeticiones.

6.5 Evaluación de la concentración de inulina en planta madre y plántulas *in vitro*.

Para el ensayo se utilizaron plantas madres provenientes del invernadero de la UCO; las cuales se almacenaron con una temperatura de 5°C y se analizaron en el Centro de Investigación Farmacéutica (CECIF), donde se procedió a determinar la cantidad de inulina en los diferentes órganos de la planta.

Se utilizó un equipo de cromatografía líquida Shimadzu Prominence, que incluye, una bomba cuaternaria LC-20AD con degasificador DGU-20 A5R, automuestreador SIL-20A HT, compartimiento de columnas CTO 20A (columna Phenomenex Polysep – GFC-P2000), detector ELSD-LTII G1314A, Labsolutions software y en la fase móvil se utilizó agua: MeOH (alcohol metílico) 1:1. Calibración de la curva. Se tomaron 100 mg de inulina comercial (Inulin from dahlia tubers sc-221760) en un matraz volumétrico de 100 mL, se disolvieron en aproximadamente 20 mL de agua desionizada, se llevaron a ultrasonido por unos minutos y se aforó con agua desionizada (Solución A). Luego se tomaron 20 mL de la solución A y se llevó a aforo con agua desionizada en un matraz volumétrico de 100 mL (Solución B). Se tomaron de 3 mL de la solución anterior y se llevó a 10 mL en un matraz volumétrico. Se repitió el paso anterior con volúmenes de 4 a 9 mL para obtener las soluciones de la curva. El último punto de la curva fue la misma solución B. En total se utilizaron 8 concentraciones para la curva de calibración.

6.6 Preparación de la solución muestra.

Se pesaron aproximadamente 2gr de material vegetal y se maceraron en 10 mL de agua desionizada. Se pasó cuantitativamente el material a un vaso de precipitado, se lavó dos veces con 10 mL de agua desionizada, recogiendo los lavados en el vaso de precipitado también. Se calentó por 2 horas a 60°. Se decantó cuidadosamente el agua desionizada a un matraz volumétrico de 100 mL. Se agregó 20 mL de agua desionizada al vaso de precipitado con el material vegetal, se calentó por dos horas y se decantó al volumétrico de 100 mL. Se repitió el último lavado dos veces más y se dejó la muestra en reposo hasta que

bajó la temperatura y se aforó a 100 mL con agua desionizada. Se filtró la solución muestra al vacío a través de papel Whatman (Papel de filtro de celulosa comercial) de 0.45 μm en dos ocasiones y se inyectó en el cromatógrafo para su análisis.

6.7 Medición de la concentración de inulina en planta madre y plántulas *in vitro*.

Se evaluó la concentración de inulina en planta madre y plántulas *in vitro*. Las variables que se tomaron en cuenta son: concentración de inulina en planta madre (hojas, raíz, tubérculo) y plántulas *in vitro* (hojas, tallos, raíz+microrrizoma), se realizó la cuantificación de microrrizoma junto con raíces, al no obtenerse un peso mínimo requerido de microrrizomas.

6.8 Aclimatización de las plantas.

Las plántulas se llevaron a condiciones de invernadero con 30 días de edad y una longitud de raíz 9 cm promedio, se le hizo un lavado posterior con abundante agua y se procedió a asperjar con benomyl a razón de 1 mg/L se sembraron en bandejas semilleros y como sustrato se utilizó turba mezclado con bolas de icopor. Se mantuvieron en cámara húmeda (90% de humedad relativa) por ocho días y luego se trasladaron a condiciones normales de vivero para su desarrollo.

6.9 Análisis estadístico.

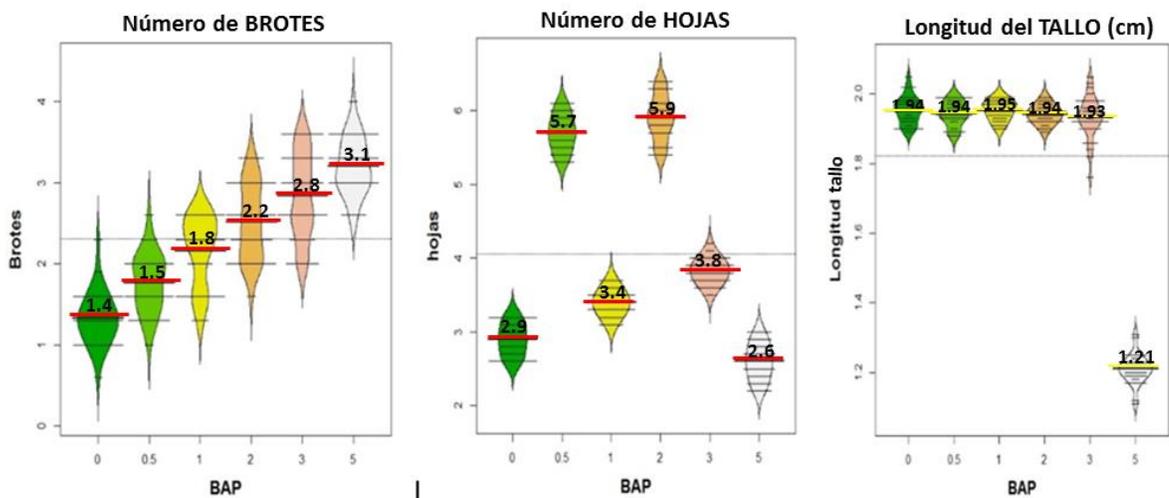
Para realizar las pruebas paramétricas, en todos los casos se verificó el cumplimiento de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de las varianzas en cada grupo. Cuando estas condiciones no se obtuvieron, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para los análisis estadísticos se utilizó el programa estadístico R Wizard 2.1 (versión febrero 2016).

7 RESULTADOS

7.1 Fase de multiplicación de meristemas.

Para el análisis de la información se verificó la normalidad y homogeneidad de la varianza, lo cual se obtuvo mediante la transformación de los datos a \sqrt{x} . En la gráfica 1, se muestran los resultados sobre la proliferación del yacón, los cuales se midieron a los 30 días.

Número de brotes por explante. En general se observa que en la medida que se incrementa la concentración de BAP se aumenta la formación de brotes. Los tratamientos donde no se utilizó BAP y con la concentración más baja se obtuvo entre 1.4 y 1.8 brotes. Cuando se utilizó la concentración de 5 mg/L, se presentó la mayor proliferación con 3.1 brotes por explante, seguido por el tratamiento con 3 mg/L con 2.8 brotes por explante. Ver gráfica 1.



Gráfica 1. Efecto de diferentes concentraciones de la citoquinina 6 – bencilaminopurina (BAP) sobre la inducción de brotes, número de hojas y longitud de los brotes en la fase de proliferación *in vitro* de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

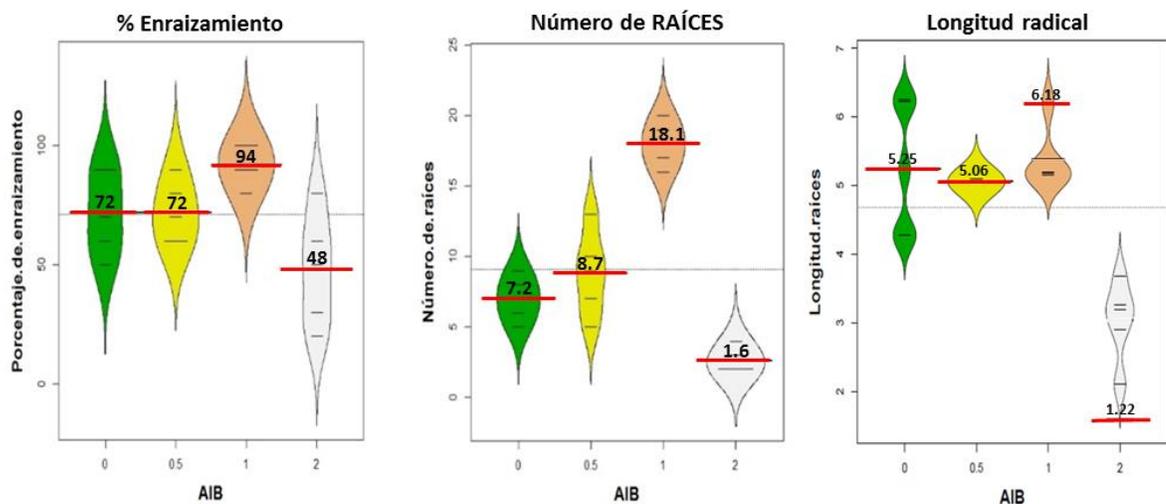
Con relación al número de hojas se encontraron diferencias significativas en todos los tratamientos. La mayor concentración de BAP mostró el menor número de hojas (3 hojas por explante), mientras que la concentración de 2 mg/L presentó el mayor número de hojas (5.9 por explante). Ver gráfica 1.

La longitud del tallo (cm), no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con BAP: 0, 0.5, 1 y 3 mg/L. Cuando se utilizó la concentración de 5 mg/L se obtuvieron los tallos más cortos. Ver gráfica 1

7.2 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indolbutírico).

Para realizar el análisis de varianza en todos los casos se verificó que se cumplieran los supuestos de independencia de las muestras, distribución normal e igualdad de la varianza. En la gráfica 2, se presentan los resultados del efecto de diferentes concentraciones del AIB sobre el enraizamiento de los brotes de yacón, medidos a los 45 días.

Se observa que el mayor porcentaje se logró cuando se utilizó 1 mg/L de AIB con el 92% de enraizamiento. Los tratamientos con 0.5 mg/L y sin AIB alcanzaron el 72%, mientras que con la concentración más alta de 2 mg/L de AIB se obtuvo el menor porcentaje de enraizamiento. Un resultado similar mostró el número de raíces con 1 mg/L de AIB donde se obtuvo en promedio 18.1 raíces, mientras que al emplear 2 mg/L de AIB se obtuvo el menor número de raíces. Cuando se analizó la longitud de las raíces no se observaron diferencias en las concentraciones de 0, 0,5 y 1 mg/L, en la concentración de 2 mg/L se obtuvo la menor longitud con 1.22 cm.



Gráfica 2. Beanplots que muestran el efecto de diferentes concentraciones de AIB (mg/L) sobre el porcentaje de enraizamiento, número de raíces y longitud de las raíces en brotes producidos *in vitro* de yacón.

7.3 Aclimatización de las plantas.

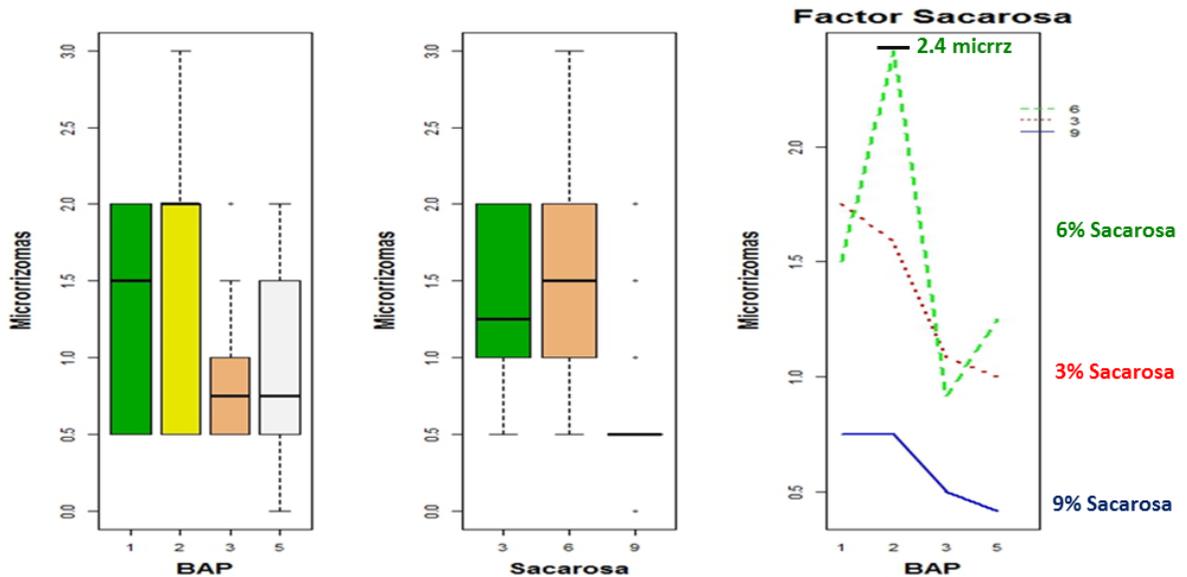
Las plántulas se mantuvieron durante una semana en condiciones de alta humedad relativa (mayor al 90%) y temperatura promedio de $32^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$, donde la supervivencia fue del 100%. Luego se pasaron a condiciones ambientales de vivero $28^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa del 75% donde permanecieron durante 45 días, listas para ser sembradas en condiciones de campo.



Ilustración 3. Plántulas endurecidas de yacón de 45 días listas para ser establecidas en campo.

7.4 Evaluación de producción de microrrizomas con BAP.

Con el propósito de cumplir los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se realizó transformación de los datos a \sqrt{x} . Luego se procedió a realizar el ANOVA y se encontró que se presentaron diferencias significativas en los factores correspondientes a sacarosa, BAP y se evidenció interacción entre los valores. De acuerdo con los resultados que se presentan en la gráfica 2, al realizar la comparación de medias mediante el contraste de Tukey, se encontró que respecto al BAP los mejores tratamientos correspondieron a 1 y 2 mg/L donde se presentó la mayor formación de microrrizomas y fueron significativamente diferentes a los otros dos; para la sacarosa los tratamientos con 3% y 6 % presentaron diferencias significativas frente al tratamiento con 9% de sacarosa. De igual manera, se observa la interacción entre los factores, donde en general se observa que cuando las concentraciones de BAP se disminuyen después de 2 mg/L hay menor formación de microrrizomas. Así mismo se encontró que la sacarosa al 6% mostró mayor formación de microrrizomas, mientras que con el 9% se mostró una tendencia a disminuir. Se puede concluir que al combinar BAP (2 mg/L) con sacarosa (6%) se presentó un óptimo de número de microrrizomas que correspondió en promedio de 2.4 por explante.



Gráfica 3. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de BAP (mg/L) y sacarosa (%) sobre la inducción de microrrizomas en brotes de yacón *in vitro*.

7.5 Evaluación del contenido de inulina en material vegetal.

La obtención de inulina del material vegetal se hizo por medio de extracción en medio acuoso a alta temperatura, ya que la inulina se considera como una fibra soluble en agua, el aumento de temperatura aumenta la solubilidad, de esta forma se logra obtener el analito en el medio apropiado para analizar.

Para el análisis de inulina se usó una columna de exclusión de tamaños y un sistema de dispersión de luz. La respuesta del analito fue lineal directamente proporcional al aumento de su concentración, se evidenció que a mayor concentración de inulina, mayor área de lectura. (ver tabla 1). El coeficiente de regresión lineal R^2 es de 0.9987. La ecuación de la linealidad calculada en esta regresión fue usada para la determinación de la concentración de inulina de las muestras de origen vegetal (ver gráfica 8).

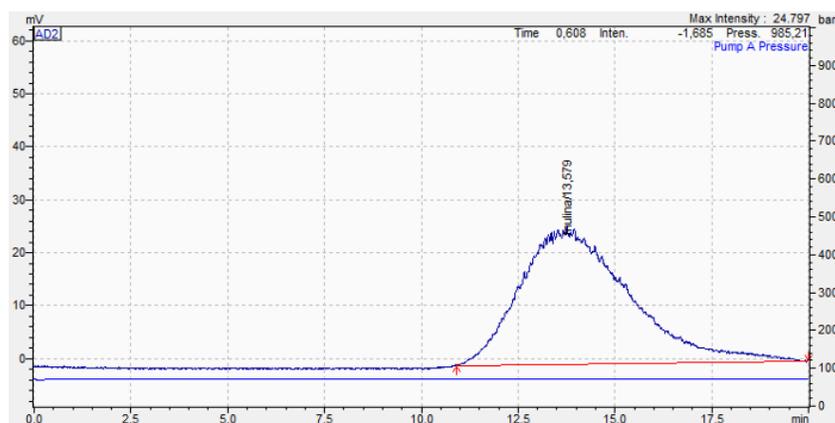
Tabla 1. Estándares de inulina y medida de áreas, según la concentración.

% Inulina comercial	Concentración (mg/mL) Inulina	Área de lectura	Promedio de área
200	0.2	4988709	4966360.5
200	0.2	4944012	

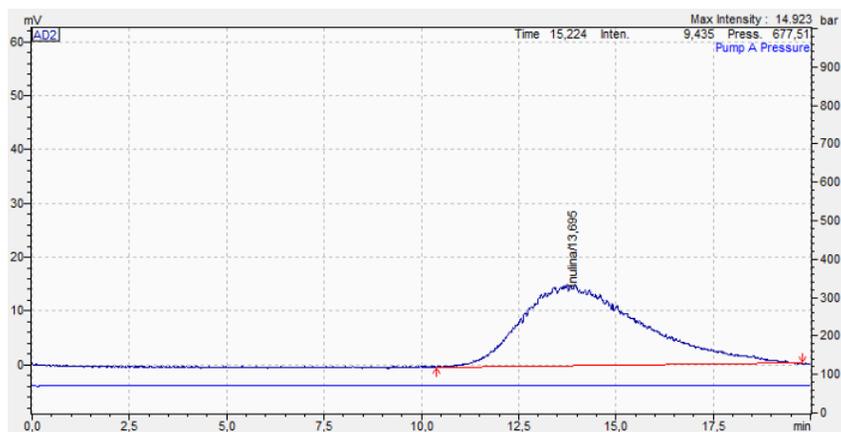
180	0.18	4275553	
180	0.18	4230136	4252844.5
160	0.16	3666735	
160	0.16	3670068	3668401.5
140	0.14	3145556	
140	0.14	3182735	3164145.5
120	0.12	2455224	
120	0.12	2428141	2441682.5
100	0.1	1868231	
100	0.1	1820454	1844342.5
80	0.08	1277938	
80	0.08	1238379	1258158.5
60	0.06	709486	
60	0.06	705466	707476

7.6 Cromatogramas de estándares de inulina.

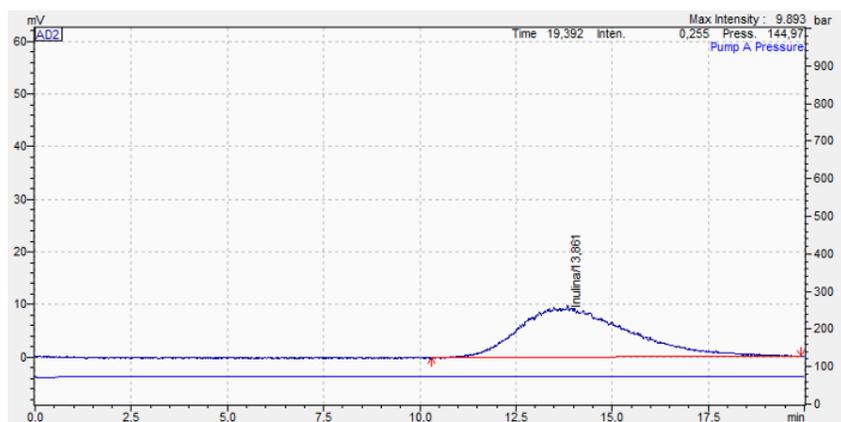
Cromatogramas utilizados para el cálculo de la concentración de inulina en los diferentes órganos de planta. En cada uno de ellos se puede observar el tiempo de retención en la integración de la curva, que da lugar a la medida del área, valor necesario para obtener la concentración de inulina presente en la muestra.



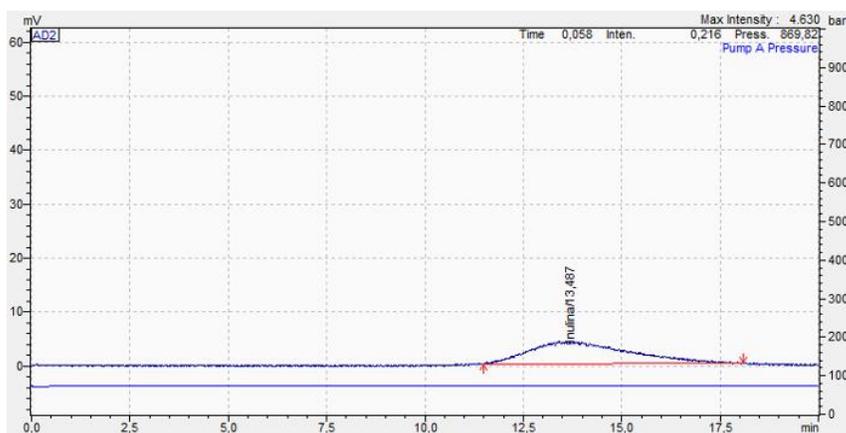
Gráfica 4. Cromatograma 1. Estándar 0.2 mg/mL



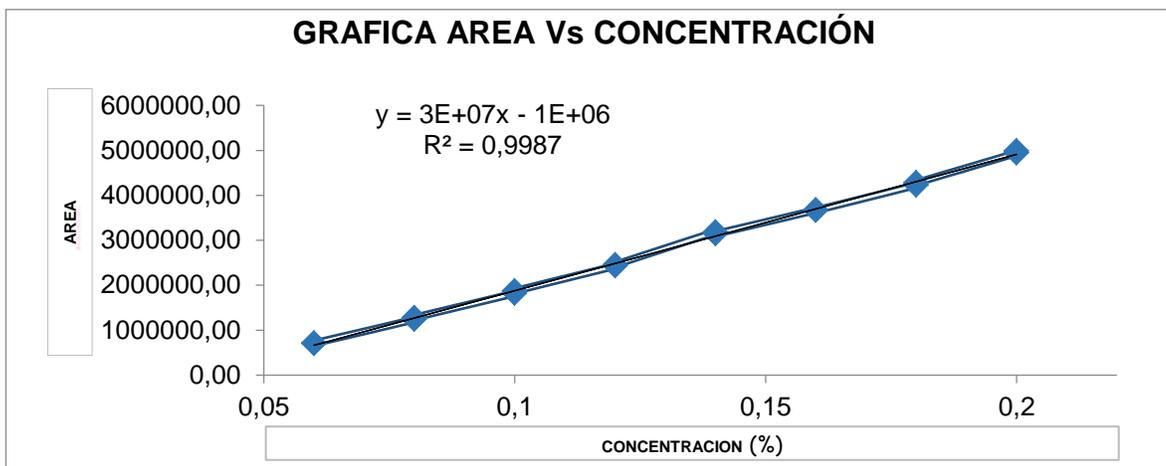
Gráfica 5. Cromatograma 2. Estándar 0.14 mg/mL



Gráfica 6. Cromatograma 3. Estándar 0.1 mg/mL



Gráfica 7. Cromatograma 4. Estándar 0.06 mg/mL

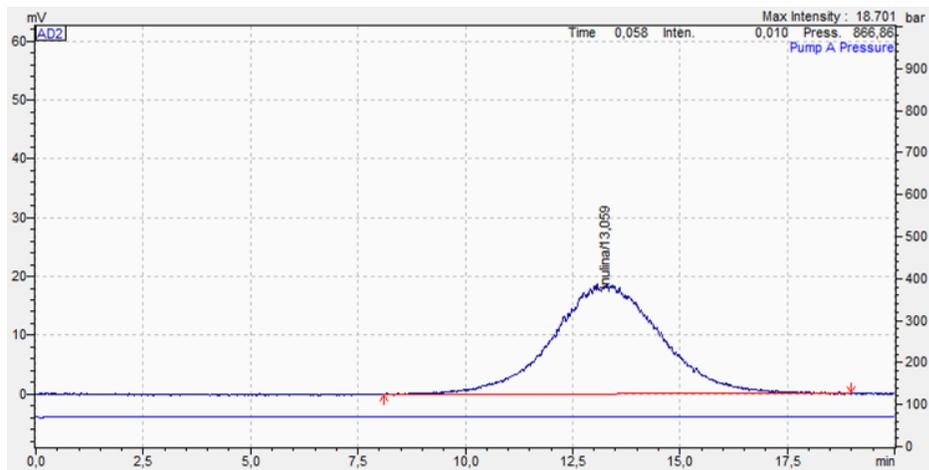


Gráfica 8. Concentración de Inulina vs área de su señal cromatográfica.

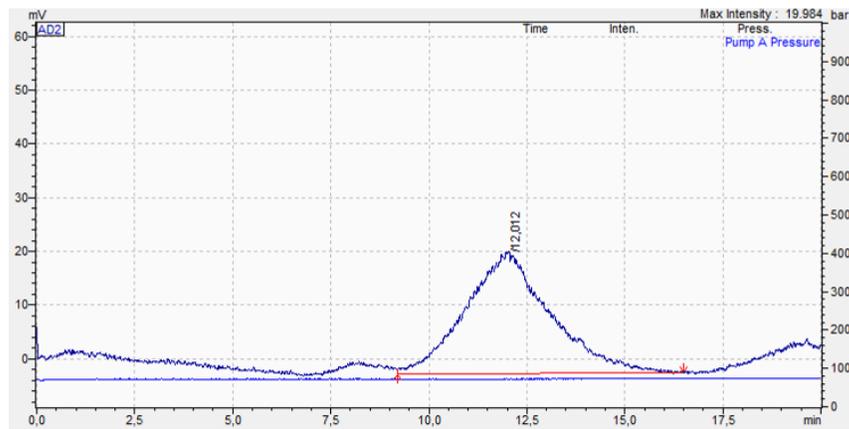
7.7 Evaluación del contenido de inulina en plántulas *in vitro*.

Una vez obtenida la curva de calibración o curva estándar se procedió a realizar los análisis de los órganos de las plántulas de la misma manera como se procedió en el montaje de la curva, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), usando el principio de exclusión de tamaños para separar y como detector la dispersión de luz.

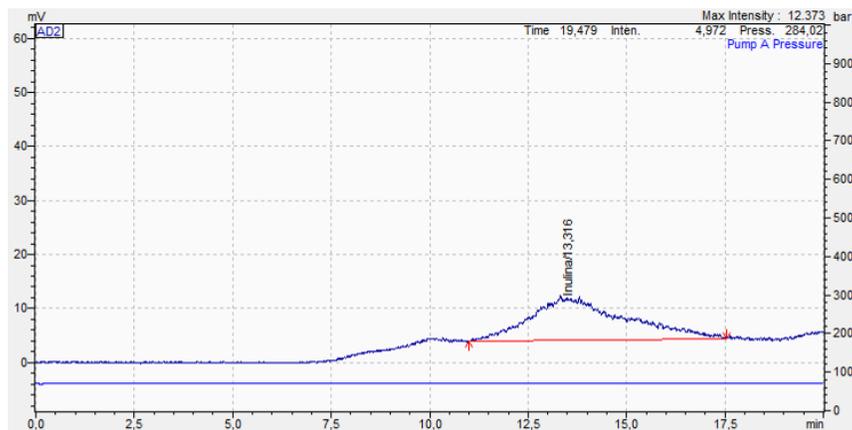
En el análisis de las muestras encontramos inulina en las hojas y en las raíces junto con microrrizomas de las plántulas de yacón (raíces+microrrizomas). La mayor cantidad se encontró en el macerado de hojas. (ver cromatogramas 5, 6 y 7).



Gráfica 9. Cromatograma 5. Extracto acuoso de plántulas: Hojas



Gráfica 10. Cromatograma 6. Extracto acuoso de plántulas: Tallos



Gráfica 11. Cromatograma 7. Extracto acuoso de plántulas: Raíces+microrrizomas

La ecuación:

$mg \text{ de inulina} / g \text{ de muestra} = ((\text{Área} + 1156974.75) / 30345393.75) * 100 / \text{Peso de la muestra}$, fue la fórmula aplicada para la determinación de la cantidad de Inulina por gramo de muestra.

El resumen de los resultados obtenidos se encuentra en la tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones y áreas de las muestras analizadas (plántulas)

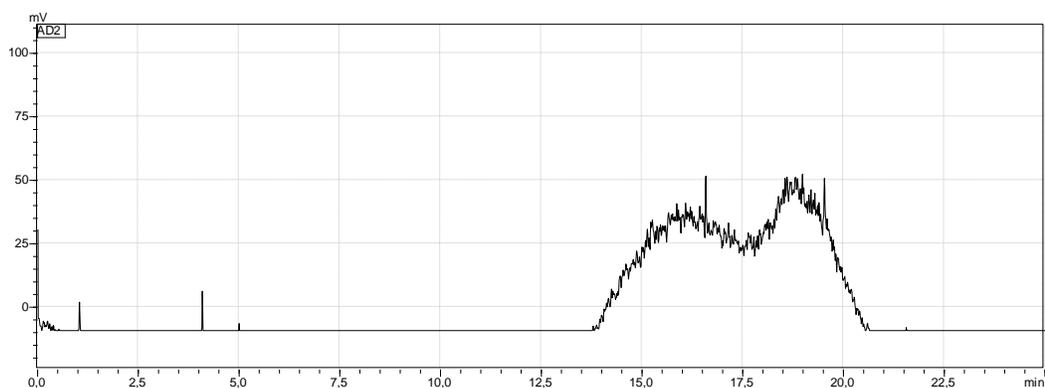
Muestra	Peso gr	Área	Concentración (mg/g) inulina
Hojas	3.6434	3254496	3.9901
Tallos	2.0625	No detectada	No encontrada
Raíces y microrrizomas	9.6792	1322851	0.8443

7.8 Evaluación contenido de inulina en plantas madre.

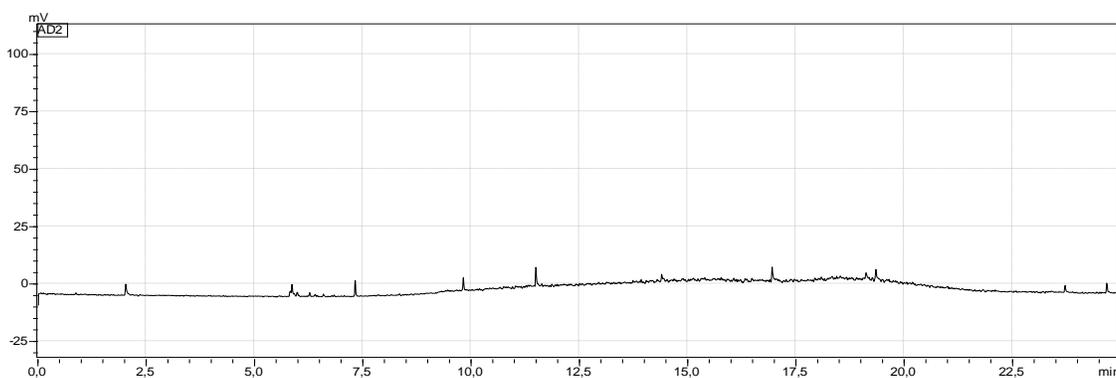
La determinación de inulina en material vegetal de yacón (planta madre), fue realizada con la misma metodología que se utilizó en las plántulas, cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), usando el principio de exclusión de tamaños para separar y como detector la dispersión de luz.

Las muestras procesadas fueron hojas, raíces y tubérculos, de una planta adulta (aproximadamente 5 meses de vida) en las condiciones óptimas de análisis.

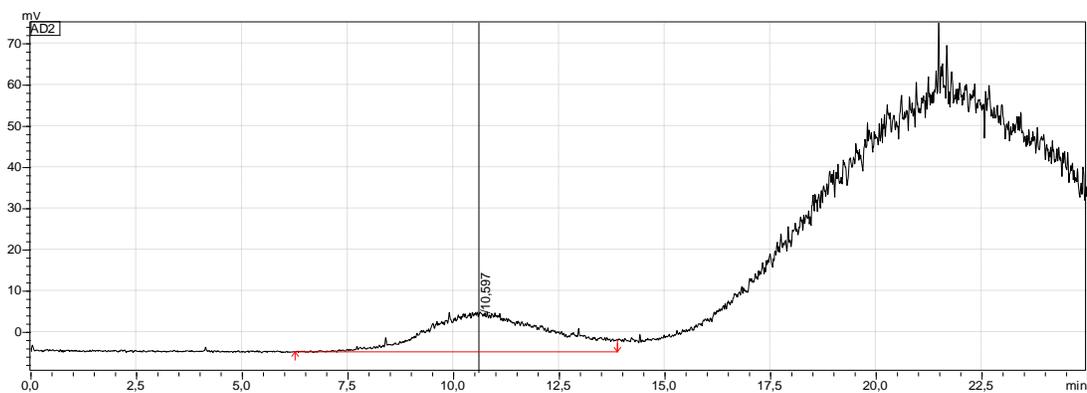
En los resultados obtenidos, se detectó inulina en la muestra de tubérculos. La concentración obtenida fue de 4,7097 mg de inulina por gramo de tubérculo. En los análisis de las muestras de hojas y las muestras de raíces, no fueron detectadas señales correspondientes a la señal de inulina. (ver Cromatogramas 8, 9 y 10). En los Cromatogramas 8 y 9 no se observa tiempo de retención que indique lectura de área, fundamental para calcular la concentración del analito; y en el Cromatograma 10 se observa tiempo retención, dando lugar a lectura de área, indicando la presencia de inulina en la muestra.



Grafica 12. Cromatograma 8. Extracto acuoso de raíces, planta madre



Grafica 13. Cromatograma 9. Extracto acuoso de hojas, planta madre



Grafica 14. Cromatograma 10. Extracto acuoso de tubérculos, planta madre

Las concentraciones de inulina en cada una de las muestras fueron calculadas mediante la ecuación 1, utilizada para calcular el analito en las plántulas de yacón, así:

$mg \text{ de inulina} / g \text{ de muestra} = ((\text{Área} + 1156974.75) / 30345393.75) * 100 / \text{Peso de la muestra.}$ (ver tabla 3)

Tabla 3. Concentraciones y áreas de las muestras analizadas (planta madre)

Muestra	Peso seco (g)	Área	Concentración (mg/g)
Hojas	2.5478	No detectada	No encontrada
Raíces	1.6543	No detectada	No encontrada
Tubérculos	2.1462	1910362	4,7097

8 ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 Fase de multiplicación de meristemos.

Los mejores resultados se mostraron en los tratamientos con 5 mg/L de BAP con 3.1 brotes por explante, datos que se consideran cercanos a los de multiplicación masiva del morfotipo yacón morado obtenido por Saire Apaza (2012), donde su mayor porcentaje de proliferación se logró con 0.5 de BAP y 0.1 de AIA (ácido indol acético), dando como porcentaje de proliferación de 5.2 brotes por planta y un porcentaje del 89 y 90% de proliferación. En la ilustración 4, se muestra la multiplicación de los brotes de yacón con 5 mg/L de BAP, donde se observa que los brotes nuevos son de poca altura.



Ilustración 4. Brote de yacón in vitro en medio MS más 0.5 mg/L de BAP.

En la Universidad de Santa Rosa de Cabal en Risaralda se determinó que el mejor medio para la micropropagación del yacón es el compuesto por las sales de MS, inositol 100 mg/L, tiamina 1 mg/L, sacarosa 25 g/L, agar 7,5 g/L. ANA (ácido naftalenacético) 0,02 mg/L, BAP 0,04, AG3 (ácido giberélico) 0,05 mg/L, con un porcentaje de diferenciación de 73,3% y regeneración del 90%, el cual se consideró complejo y depende de la acción de tres reguladores de crecimiento. Para su enraizamiento y propagación acelerada el medio con mejores resultados fue el que contenía AIA 2mg/L, AG3 0,1 mg/L, y kinetina 2 mg/L, Polanco, (2012), p.32.

Si bien los porcentajes de proliferación que se lograron en la investigación son aceptables, se debe seguir investigando para así lograr incrementar la tasa de brotes por planta.

8.2 Evaluación de número de hojas con BAP.

En la diferenciación de yemas axilares en los brotes de yacón, el número de hojas por explante presentó rangos entre 3.4 y 5.9 hojas, esta respuesta de crecimiento se produjo debido a la utilización del BAP, según Sánchez *et al.* (2009), El regulador de crecimiento 6-Bencilaminopurina (BAP) promueve la inducción y crecimiento de brotes. Al respecto, Sánchez, sostuvo que la 6-Bencilaminopurina es una citocinina sintética que se utiliza en concentraciones de 0,1 a 1 mg/l para promover la división celular y la inducción de yemas utilizándose en las mismas concentraciones de 0,1 a 1 mg/L para promover la división celular y la inducción de nuevas hojas.

8.3 Evaluación longitud de tallo.

En el presente trabajo se pudo determinar que las concentraciones entre 0 y 3 mg/L de BAP mostraron las mayores longitudes de los brotes, mientras que la concentración mayor disminuyó la longitud. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros cultivos, donde se ha demostrado que cuando se emplean concentraciones altas de citoquininas se disminuye la longitud de los brotes (Rabbani *et al.*, 2001).

8.4 Evaluación de enraizamiento con AIB (Ácido indol-3 butírico).

Con relación al porcentaje de enraizamiento cuando se utilizó 1 mg/L de AIB se obtuvo el mayor porcentaje, cuyo valor correspondió al 92%.

Para el ensayo con ácido indolbutírico (AIB) se encontró, que para el número de raíces por tratamiento los mejores resultados obtenidos están en el tratamiento con 1 mg/L de AIB, con 18.1 raíces por planta, para los demás tratamientos no se encontraron diferencias significativas, observándose también que en general tanto el testigo como las demás concentraciones tienen un buen número de raíces con 5.8 en promedio.

Otros resultados obtenidos de investigaciones como el de Seminario *et al* (2003), donde su mejor resultado en la propagación de yacón sugieren la utilización de 0.49 mg/L de ácido indol- 3 butírico; comparado con nuestra investigación se encuentran datos similares. Otros autores como Vicente (2008), no resaltan la necesidad de utilizar auxinas para promover el enraizamiento en yacón.

8.5 Evaluación longitud de raíz.

Para la evaluación de longitud de raíz, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Así mismo, Polanco, (2011), encontró que para el enraizamiento y la propagación acelerada, el medio con mejores resultados fue el que contenía AIA 2mg/L.

No obstante 6.01 cm de longitud es un buen promedio si se desea empezar con la proliferación *in vitro* de yacón a nivel comercial, debido a que este muestra buena adaptabilidad en la fase de siembra en vivero con esta longitud de raíz.

8.6 Evaluación de producción de microrrizomas con BAP y sacarosa.

El tratamiento que mostró la mayor producción de microrrizomas correspondió a la combinación de 2 mg/L de BAP y 6% (60g/L) de sacarosa con una producción de 2.4 por explante en 60 días. En la ilustración 5, se muestra el desarrollo del microrrizoma a partir de la zona media de la raíz y en sus extremos formando engrosamientos.



Ilustración 5. Inducción de microrrizomas en brotes de yacón.

Comparando este resultado con otros trabajos de formación de microrrizomas y microtubérculos, podemos inferir, que los mejores tratamientos son los que utilizan concentraciones mínimas de BAP. Autores como Archana *et al.* (2013), aseguran que la mejor formación de microrrizomas de jengibre se logra al utilizar concentraciones de BAP de 2 mg/L y sucrosa al 9%, obteniéndose un total de 4.35 microrrizomas en promedio; por otro lado, Montoya *et al.* (2008), destacan que los mejores resultados en la formación de microtubérculos de papa se obtuvieron con una concentración de BAP de 1 mg/L. Por consiguiente es importante tener en cuenta que la formación de microtubérculos y microrrizomas, es un proceso complejo dentro de la fisiología de la planta, por ende, se debe seguir investigando y así poder proponer nuevas alternativas, para una adecuada y efectiva formación de este órgano, como lo serían, la utilización de nuevas fuentes de carbono, nuevas variedades de yacón, tratamientos hormonales y nuevas tecnologías, como es el caso de la utilización de biorreactores de inmersión temporal (BIT).

8.7 Evaluación contenido de inulina en plántulas y planta madre de yacón.

Inicialmente se estableció la curva de calibración, con inulina concentrada y material vegetal (planta madre), para poder calcular las concentraciones de las diferentes muestras a analizar.

Se tomaron como muestras, hojas, tallos y raíces en conjunto con microrrizomas en las plántulas y hojas, raíces y tubérculos en la planta madre. Se encontró presencia de inulina en las hojas y en raíces+microrrizomas de las plántulas *in vitro* y solo en el tubérculo (macrorrizoma) en la planta madre.

Como es sabido, el crecimiento vegetativo comienza con la salida a la superficie de los brotes, en este estado, la planta desarrolla tallos y hojas, encontrándose en ese momento y en esos órganos vegetales la mayoría de nutrientes, proteínas y minerales; en la propagación *in vitro*, según Castillo 2004, las partes que primero se desarrollan son los brotes (aproximadamente 2 y de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas, los análisis fueron realizados en este estado, pudiéndose demostrar la teoría expuesta por dicho autor, pues la mayor cantidad de inulina encontrada fue en las hojas (3.9901 mg/g).

En la planta madre no se encontró inulina en hojas y raíces, se obtuvo una cantidad considerable de inulina en el tubérculo o macrorrizoma (4,7097 mg/g).

Las investigaciones en cuanto a la cantidad de inulina en yacón, solo se han generado en el producto final (macrorrizoma), Álvarez, (2008), encontró en su investigación valores de 7.8% de inulina hidrolizada y 7.01 % de inulina sin hidrolizar. Si bien estos datos no pueden ser comparables con nuestra investigación, confirman que es en el tubérculo (macrorrizoma) y no en otro órgano de la planta donde se obtiene la mayor cantidad inulina.

En la fase de la obtención de inulina aparecen resultados que no se esperaban, pero no dejan de ser atractivos, en este caso los mejores rendimientos en la obtención de inulina se dieron en las hojas de las vitro plantas, dejando abierta una puerta, en cuanto a la extracción del metabolito directamente de las plántulas en el laboratorio, sin tener que esperar siete meses del desarrollo completo de la planta en campo para ser extraída del tubérculo; en contra parte, no se encontró inulina en las hojas de la planta madre, lo que podría darle otros significados a trabajos de investigación como el de Aybar *et al.* (2001), donde el té de hojas de yacón tiene un efecto hipoglicemiante, es decir reduce la concentración de glucosa en la sangre; si se tienen en cuenta los resultados obtenidos, se puede inferir que no se debieron por el analito en cuestión, ya que en las hojas de plantas madre adultas, no se encontró inulina, deberá esclarecerse entonces, en cuál período del crecimiento de la planta en campo, se encuentra la mayor concentración de inulina en hojas y poder realizar dicha extracción y cuantificación en el momento adecuado.

En la ilustración 6, se visualizan las diferentes etapas del estudio.

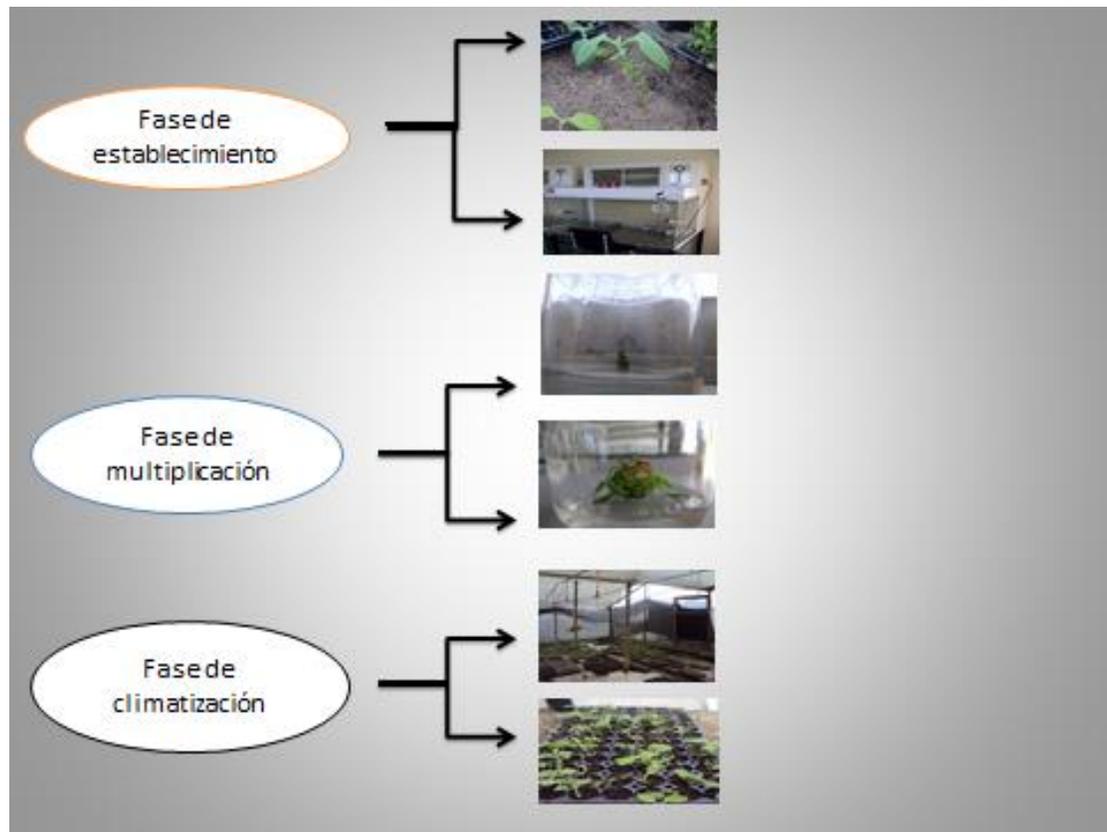


Ilustración 6. Fases del trabajo *in vitro* con yacón.

9 CONCLUSIONES

Se desarrolló un protocolo para la propagación *in vitro* del yacón que consistió en la desinfección de yemas y aislamiento de meristemas en el medio de cultivo MS.

La fase de proliferación presentó los mejores resultados cuando se utilizó BAP (5 mg/L) donde se obtuvo 3.1 brotes por explante durante un tiempo de 30 días. El mayor porcentaje de enraizamiento se logró con el medio MS más AIB (2 mg/L) el cual presentó el 92% de enraizamiento y mejor calidad de raíces.

La interacción más eficiente para la inducción de microrrizomas de yacón, se presentó al utilizar la combinación de BAP (2 mg/L) y sacarosa (6%), obteniéndose 2.4 microrrizomas por explante en un lapso de 60 días en condiciones de total oscuridad.

Con relación a la cuantificación de inulina en plántulas, encontramos que ésta fue detectada en hojas y raíces+microrrizomas a concentraciones de 3.99901 mg/g y 0.8443 mg/g respectivamente; no se obtuvo inulina en los tallos.

En planta madre se detectó inulina sólo en el tubérculo (macrorrizoma) con una concentración de 4.7097mg/g. No se encontró el analito en los demás órganos de la planta, hojas y raíces.

Teniendo en cuenta la cantidad de inulina encontrada en las hojas de las plántulas *in vitro* (3.9901 mg/g) respecto a las del tubérculo en la planta madre (4,7097 mg/g), podemos argumentar que el porcentaje de diferencia obtenido no es mayor al 20%, lo cual genera expectativas en cuanto a la producción de inulina en el laboratorio, pues el tiempo de crecimiento de los brotes, con un número de hojas óptimo, es de 45 días aproximadamente, y la plántula utilizada en campo es de 7 meses, encontrándose un excelente margen en tiempo.

10 RECOMENDACIONES

Son de alto conocimiento y valor agregado las investigaciones que lleven a cabo el mejoramiento de la calidad de vida de las personas a través de la entrega de nuevos desarrollos científicos. En ese mismo orden de ideas y dando cumplimiento a los objetivos planteados en la propagación clonal de yacón, se puede orientar para que las futuras investigaciones se realicen en esta

sorprendente planta, que promete corregir, prevenir y equilibrar factores negativos en la salud humana tales como la diabetes, los trastornos digestivos y el cáncer.

Para este fin, el conocimiento aplicado a todo el trabajo *in vitro*, nos muestra la tendencia hacia donde se dirige la investigación, en este caso puntual, el yacón, planta de increíbles propiedades nutraceuticas, se requiere de una investigación más profunda que ahonde desde la búsqueda, mejoramiento y creación de genotipos, pasando por su establecimiento en campo e *in vitro*; esta última con énfasis en la formación de microrrizomas, multiplicación y conservación de germoplasma, hasta llegar a su producto final, la transformación y obtención de metabolitos como lo son los FOS y la inulina.

Está en manos de docentes e investigadores dar a conocer las posibilidades que el yacón ofrece a nivel clínico y económico, resaltando su gran valor al emprendedor y al consumidor final; es momento de unir fuerzas y recordar la importancia de la apropiación de nuestros recursos endógenos, con miras al mejoramiento de los mismos, generando grandes beneficios a nivel regional. Si gran parte del material bibliográfico obtenido para la investigación es tomado de países donde no es endógeno el yacón, que sí lograron ver sus grandes cualidades y beneficios, como no aunar fuerzas a trabajar con la planta, si la cultivamos y cosechamos en la mayoría del territorio andino colombiano y suramericano. Hacia allá es donde debemos dirigir nuestro gran potencial investigativo.

11 BIBLIOGRAFÍA

Ames Teresa. (1997). *Enfermedades Fungosa Y Bacterianas De Raíces Y Tuberculos Andinos*. Centro Internacional De La Papa (CIP). Lima Peru. p.153

Albarracín, G. (2015). *Yacon "Smallanthus sonchifolius" production, food uses and products. Seminar Paper for Course: Aspects of Product Quality in Plant Production*. Institute for Organic Farming Department of Sustainable Agricultural System University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna/ Universität für Bodenkultur Wien.

Alvarez, P., Jurado, B., Calixto, M., Incio, N., Silva, J. (2008). *Prebiótico Inulina/Oligofructosa en la raíz del Yacón (Smallanthus sonchifolius), fitoquímica y estandarización como base de estudios preclínicos y clínicos*. *Revista de Gastroenterología del Perú*. Perú v.28 n.1 Lima.

Arango, B., Cuarán, G., Fajardo, J. (2008). *Extracción, Cristalización y Caracterización de Inulina a partir de yacón (Smallanthus Sonchifolius (Poepp. & Endl.) para su utilización en la industria alimentaria y farmacéutica*. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p.3.

Archana, C., Geetha, S., Balachandran, I. (2013). *Microrhizome and minirhizome production in three high yielding cultivars of ginger (Zingiber officinale Rosc.)*. International Journal of Current Microbiology and applied sciences. Volume 2, Number 10, p. 477-484.

Arbizu, C. *Ex situ conservation of underutilized Andean roots and tubers*. (2002). The International Potato Center, International Society for Tropical Root Crops (ISTRIC).p.8.

Aybar, M., Sánchez, A., Grau, A., Sánchez, S. (2001). *Hypoglycemic effect of the water extract of Smallanthus sonchifolius (yacon) leaves in normal and diabetic rats*. *Journal of Ethnopharmacology* 74. p.125–132

Betalalleluz, I. (2007). *Caracterización Química, Prebiótica Y Actividad Antimutagénica De Los Fructooligosacaridos Del Yacón (Smallanthus sonchifolius POEPP.& ENDL)*. Consejo nacional de ciencia, tecnología e innovación tecnológica. Ministerio de educación. Perú. p.2.

Calva, G. (2005). *Cultivo de células y tejidos vegetales: Fuente de alimentos para el futuro. Revista Digital Universitaria*. Volumen 6 Número 11. p.1.

Carvalho, S., Toledo, I., Araujo, F., Pereira, G. (2004). *Fructanos en raíces tuberosas de yacon (Smallanthus sonchifolius POEP.& ENDL.) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. Agro-Ciencia*; p.17-23.

Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: Una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas.

Chasquibol, S. (2002.). *Estudio químico y nutricional de las variedades de la raíz de yacón de La Polimnia Sonchiflora yacón*. Departamento de Química Analítica. Universidad Mayor De San Marcos. *Revista peruana de química e ingeniería química*. Volumen 5, # 1, Perú. p. 37 – 42.

Chávez, J. (2002). *Ficha técnica el cultivo del yacón, soluciones prácticas*. Miraflores, Lima, Perú. p.2-3.

Coelho, A., Morais, K., Haywood, D., Giacomini, S., Tedesco, S. (2012). *Viabilidad del grano de polen en accesiones de Crotalaria juncea L. (Fabaceae). Agrociencia* 46: 481-487.

Dostert, N., Roque, J., Cano, A., Weigend, W., La Torre, M. (2009). *Desarrollo de monografías botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos, Hojas Botánicas: yacón – Smallanthus sonchifolius (Poepp.) H. Robpe*. Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. p.3-20.

Douglas, J., Follet, J., Waller, J. (2005). *Effect of propagule weight on production of yacon (Smallanthus sonchifolius)*. *New Zealand Journal of crop and Horticultural Science*. (33): p.143 – 148.

Fátima, O., Nair M., Eny I., Segal F., Machado, C. (2009). *Frutanos em calos de Smallanthus sonchifolius (Poepp.) H. Rob.4, Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil, 89-97, p.5*

Fernández, E., Iva, V., Milella, L., Robles, D. (2010). *Micropropagación del yacón [Smallanthus sonchifolius (Poepp. Et Endl.) H.Robinson] a partir de segmentos nodales*. Instituto del Trópico y Subtrópico Universidad Checa de Agricultura Praga. Kamýcká 129, Praga 6 – Suchdol, 165 21, República Checa.

Flores, D. (2010). *Uso Histórico: Yacón Smallanthus sonchifolius (poepp.) h.rob, proyecto perubiodiverso, Base de Datos Proyecto Perubiodiverso*.

Información bibliográfica sobre Historia y usos tradicionales de 3 Plantas seleccionadas, .p.2.

Forville, E., De Souza, L., Ellendersen, L., Masson, M. (2014). *Perfil fenólico y la actividad antioxidante de los extractos de hojas y flores de yacón (Smallanthus sonchifolius)*. Department of Chemical Engineering, Federal University of Paraná. p.2.

García R. A. (2003). *Estudio Fitoquímico y Nutricional de Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Robinson. Distribución geográfica y adaptación del vegetal en tres pisos térmicos Colombianos*, Programa De Biología, Facultad De Ciencias Universidad Del Tolima, Universidad Del Tolima Facultad De Ciencias - Programa De Biología. Ibagué. p.3

Genta, S., Cabrera, W., Habib, N., Pons, J., Carillo, I., Grau, A., Sánchez, S. (2009) *Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutrition*. Volume 28, Issue 2, Pages 182–187.

Gibson, G., VanLoo, J., Roberfroid, M. (1998). *The Bifidogenic Nature of Chicory Inulin and Its Hydrolysis Products. The Journal of nutrition*. 128(1) p.11-19.

Gibson, G. (1995). *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. The Journal of nutrition*. 125(6): p.1401 – 1412

Gotteland, R., Brunser, T. (2006). *Efecto de un yogur con inulina sobre la función intestinal de sujetos sanos o constipados*, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, *Revista Chilena de nutrición* Vol. 33, N°3,. p.21.

Graefea, S., Hermannb, M., Manriqueb, I., Golombeka, S., Buerkert, A. (2004). *Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. Field Crops Research*. 86: p.157–165.

Hermann, M., Freire, I., Pazos, C. (1997). *Compositional diversity of the yacon storage root. CIP Program Report 1997-1998*, Lima Peru. p.425-432.

Hermann, M., Bernet, T., Manrique I., (2004). *Yacón - Ficha Técnica.*, Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima, Perú, p.2.

Herrera, A. (2011). *Estudio comparativo de métodos para la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel virgen de caña utilizados en el ingenio pichichí S.A.* Universidad tecnológica de Pereira, Facultad de tecnologías.

Lara, L. (2011.) *INULINA: Polisacárido con interesantes beneficios a la salud humana y con aplicación en la industria farmacéutica*. Sección: Artículos de Revisión Bibliográfica. Año 7, Número 27.

Lizarraga, Ch. (2004). *Virus en raíces andinas*. En: J. Seminario (ed.). *Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003) No. 6*. Universidad Nacional de Cajamarca, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú. p.123 - 125.

Machuca, V., Florentino, N. (2007). *Análisis y recomendaciones en la cadena de valor del yacón en la región Cajamarca*. Perúbiodiverso, Lima, Perú. © Perúbiodiverso. p.5-21.

Madrigal, L., Sangronis, E. (2007). *La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales*. Universidad Simón Bolívar, Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Caracas, Venezuela. *Órgano oficial de la sociedad Latinoamericana de nutrición*. Vol. 57 N° 4, p.4.

Manrique, I., Párraga, A., Hermann, M. (2005.) *Jarabe de yacón: Principios y Procesamiento*. en: *Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo* Universidad Nacional David Alcides Carrión. (1993-2003). No. 8A. Lima, Perú., p.1-31.

Manrique, I., Hermann, M. (2003). *El potencial del yacón en la salud y la nutrición, XI congreso internacional de cultivos andinos*. Cochabamba, Bolivia. 15 – 19 de octubre. p.8.

Mansilla, R., López, C., Flores, M., Espejo, R., (2010). *Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson*, *Ecología Aplicada*, 9(2), 2010, © Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú, p.2-3.

Maldonado, S., Eleonora, J., Santapaola, J., Torrez, M., Garay, A. (2008). *Cinética de la transferencia de masa durante la deshidratación osmótica de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)*. Laboratorio de investigación de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial Regional – IDEAR, Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos – CITA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, Av. Italia y Martiarena, p.12.

Matos, A., Chambilla, E. (2010). *Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria*

Alimentaria. Vol. 1, N° 1, Revista Investigación. *Ciencia y tecnología de alimentos*. p.8

Mavumengwana, V.B. (2004). *Isolation, purification and characterization of inulin and fructooligosaccharides from chicorium intybus and inulinase from Aspergillus niger*. Rhodes University.

Melgarejo, C., Romero, L. (2010). *Fithormonas. Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal*. Departamento de biología. Universidad Nacional de Colombia.

Mogor, G., Mogor, G. (1999). *Source, Asepsis and Benzylaminopurine (BAP) Effect on Yacon (Polymnia sonchifolia) Micropropagation*. Plant Production Department, Agronomic Science College, Biochemistry Department, Bioscience Institute. São Paulo State University (UNESP) São Paulo Estate University (UNESP) Botucatu, São Paulo, Brazil. p.5

Montañez, J., Venegas, J., Vivar, M., Ramos, E. (2011). *Extracción, caracterización y cuantificación de los frútanos contenidos en la cabeza y en las hojas del Agave tequilana Weber Azul*. *Bioagro* 23(3). p.199-206.

Montoya, N., Castro, D., Díaz, J., Ríos, D. (2008). *Tuberización in vitro de papa (Solanum tuberosum L), variedad Diacol Capiro, en biorreactores de inmersión temporal y evaluación de su comportamiento en campo*. Unidad de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Oriente, Rionegro, Antioquia, Colombia. *Ciencia* 16(3) 288-295. p.2

Moraes, R., Melo, I., Sumyanto, J., Chandra, S., Joshi, V. (2012). *Bacterial community associated with autotrophic and heterotrophic cultures of medicinal plant Smallanthus sonchifolius (Yacón)*. *American Journal of plant sciences*. (3): p.1382 – 1389.

Morihiko, H., Takashi, H., Yasushiro, K. (1960). *Mass – propagation of yacon (Polymnia sonchifolia)*. Faculty of agriculture, Shimane University, nishikawatsu – cho, matsue, shimane, 690. Japan. p.4.

Mroginski, L., Sansberro, P., Flaschland, E. (2004). *Establecimiento de cultivos de tejidos, Biotecnología y mejoramiento vegetal*, Capítulo 2. pág. 35-42. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/parte2_cap2.pdf.

Muños, I., Reyes I. (2006). *Efecto de reguladores de crecimiento, L-cisteína y ácido ascórbico en el cultivo in vitro de mora de Castilla. (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.

Muñoz, A. (2009). *Monografía del yacón Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.)*. Perúbiodiverso. Lima, Perú. © Perúbiodiverso, 2009. p.3-4

Muñoz, M. (2011). *Estudio del efecto de los fructooligosacáridos en la producción de bacteriocinas por aislados nativos de Lactobacillus spp.* Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Departamento de Química Bogotá, Colombia. p.13.

Ojansivu, I., Ferreira, C., Salminen, S. (2011). *Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. Functional Foods Forum*, University of Turku. *Trends in Food Science & Technology*. 40-46 p.2.

Organización para las naciones unidas y la alimentacion. Programa Conjunto Fao/Oms Sobre Normas Alimentarias Comité Coordinador Fao/Oms Para América Latina y El Caribe. San José, Costa Rica, 19-23 2012. p.5.

Panta, A., Tay, D., Gomez, R., Zea, B., Rojas, E., Reinhard, S. (2009). *Status and impact of in vitro conservation of root and tubers at the International Potato Center (CIP)*. *International Potato Center (CIP)*, Peru. p.3.

Paßlack, N., Vahjen, W., Zentek, J. (2015). *Dietary inulin affects the intestinal microbiota in sows and their suckling piglets. BMC Veterinary Research*. Department of Veterinary Medicine, Institute of Animal Nutrition, Freie Universität Berlin. p.1.1

Pedreschi, R., Campos, D., Giuliana, N., Rosana, C., Zevallos L. (2003). *Andean Yacón Root (Smallanthus sonchifolius Poepp. Endl) Fructooligosaccharides as a Potential Novel Source of Prebiotics*. Department of Horticultural Sciences, Texas A&M University, College Station, Texas 77843, and Instituto de Biotecnología (IBT), Universidad Nacional Agraria-La Molina, Lima 12, Peru, *J. Agric. Food Chem.*, p.51.

Polanco, M. F. (2011). *Caracterización Morfológica y Molecular de Materiales de Yacón (Smallanthus sonchifolius Poepp. & Endl) H. Robinsón Colectado En La Eco Región Eje Cafetero De Colombia*, Puerta, Universidad Nacional De Colombia Facultad De Ciencias Agropecuarias Coordinación General De Posgrados Palmira. p.62.

Rabbani, A., Askari, B., Akhtar, N., Mussarat, Bhatti, M., Quraishi, A. 2001. *Effect of Growth Regulators on in vitro Multiplication of Potato. International Journal Of Agriculture and Biology*. 3(2): p.181-182.

Ranjitha, B.D., Velayutham, P., Anitha, S. (2007). *A comparative study on inulin and esculin content of in vitro and in vivo plants of Chocory (Cichorium intybus L. Cv. Lucknow local)*.

Renso A. (2003). *Estudio Fitoquímico Y Nutricional De Smallanthus Sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Robinson. Distribución Geográfica y Adaptación Del Vegetal En Tres Pisos Térmicos Colombianos*. Programa De Biología, Facultad De Ciencias Universidad Del Tolima, Universidad Del Tolima Facultad De Ciencias - Programa De Biología Ibagué. p.3.

Santana, I., Cardoso, M.H. (2008). *Yacón raíz tuberosa (Smallanthus sonchifolius): potencialidades de cultivo, aspectos tecnológicos y nutricionales*, *Ciencia Rural de Santa María* vol.38 n° 3 p.10-11.

Saire, S. (2012.). *Efecto del ácido indol acético y bencil amino purina en el desarrollo de yemas de yacón (Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl) en condiciones in vitro*. La Paz (Bolivia).UMSA.103 p.34

Sánchez, M., Sánchez, C., Villanueva, C., Gil, I., Jiménez, M., Sánchez, I., (2009). *Multiplificación in vitro vía organogénesis en calabaza*. *Agronomía mesoamericana* 20(1). p.5

Seminario, J., Valderrama, M., Manrique, I. (2003). *El yacón fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio, centro internacional de la papa CIP*, universidad nacional de Cajamarca, agencia Suiza para el desarrollo y la cooperación (cosude), Lima, Perú, p.20-60.

Sequeiros, N., Castro, A. (2003). *Elaboración de una bebida nutritiva a partir del yacón*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. p.5. <http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01040700203.pdf>.

Suárez, J. (2013). *Propagación in vitro de yacón (Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl)*. Universidad Católica de Oriente. Rionegro. Colombia p.12- 34.

Viehmanna, I., Bortlova, Z., Vitamvas, J., Hlasna, C., Eliasova, K., Svobodova, E., Travnickova, M. (2013). *Assessment of somaclonal variation in somatic embryo-derived plants of yacon [Smallanthus sonchifolius (Poepp. and Endl.) H. Robinson] using inter simple sequence repeat analysis and flow cytometry*. *Electronic Journal of Biotechnology*. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (2014) p.1.

Utami, N., Sone, T., Tanaka, M., Nakatsu, C., Saito, A. (2013). *Comparison of Yacon (Smallanthus sonchifolius) Tuber with Commercialized Fructo-oligosaccharides (FOS) in Terms of Physiology, Fermentation Products and Intestinal Microbial Communities in Rats*. 1 Laboratory of Applied Microbiology, Division of Applied Bioscience, Graduate School of Agriculture, Hokkaido

University, Kita 9 Nishi 9, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan. *Bioscience of Microbiota, Food and Health* Vol. 32. p.2.

Valderrama M. (2005). *Manual de cultivo de yacón*. Cajamarca, Perú. p.30.

Vicente, M., Conesa, E., J., Ochoa, J., Fernández, J., Franco, J., Martínez, J. (2008). *Estudio de la propagación vegetativa por esquejes de Tamarix boveana (Tamaricaceae)*. I Simposio Iberoamericano- IV Jornadas Ibéricas de Horticultura Ornamental. Pontevedra (España).

Zudaire, M. (2012). *Fructooligosacáridos, presentes en hortalizas, incrementan sensación de saciedad al estimular la producción intestinal de péptidos saciantes*. p.1.