

EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN IN VITRO DE SEMILLAS Y EXPLANTES DE *Solanum mammosum* L., *S. hirtum* Vahl., *S. umbellatum* Mill. y *S. marginatum* L.F.¹

EVALUATION OF FOUR MEANS OF IN VITRO CULTURE FOR THE PROPAGATION OF SEEDS AND EXPLANTS OF *Solanum mammosum* L., *S. hirtum* Vahl., *S. umbellatum* Mill. y *S. marginatum* L.F.

Danita Andrade D.², Mónica Eliana Córdoba F.², Tulio Cesar Lagos Burbano.³

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Nariño, con el objetivo de obtener un medio de cultivo para la propagación in vitro de semillas y explantes de *S. mammosum*, *S. marginatum*, *S. hirtum* y *S. umbellatum* mediante la evaluación de los medios para solanáceas propuestos por Hussey-Stacey (A) (1981), Hendrix *et al.*, (H) (1987), Atkinson *et al.*, (AT) (1993) y mitad de Murashyge y Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) (Roca, 1984, modificado). En la fase de propagación sexual se evaluó el porcentaje de germinación, número de raíces, longitud de planta, días a formación de hojas, días a formación raíces, días a morfogénesis completa y materia seca. Posteriormente, se determinó el tipo de morfogénesis a través de callos, tallo con hojas (vástago) y plantas completamente formadas. Igualmente, se estudiaron el número de brotes, longitud de brotes, número de raíces, número de hojas, materia seca y días a morfogénesis completa. Se utilizó un diseño irrestrictamente al azar, para semillas y un diseño factorial de 4 x 3 para explantes. Los resultados mostraron que para *S. mammosum* el mejor medio de germinación fue $\frac{1}{2}$ MS, para el desarrollo de plantas es A y para propagación vegetativa, A-NUDOS. En el mismo orden, para *S. marginatum* corresponde a los medios A, H y $\frac{1}{2}$ MS y/o H con nudos, mientras que en *S. hirtum* son H, A y H-Nudos. Para *S. umbellatum* no existieron diferencias entre H, $\frac{1}{2}$ MS y A en la germinación, mientras que para la formación de plantas, $\frac{1}{2}$ MS y para propagación vegetativa fue H-Nudo.

Palabras clave: Solanáceas silvestres, cultivo de tejidos, nudos, callos, organogénesis.

¹ Trabajo de grado para optar al Título de Ingeniero Agrónomo. 2010

² Estudiantes Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. E-mail: danitaand@hotmail.com./monica-cordoba@hotmail.com

³ I. A. PhD. Profesor Asociado Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. tclagosb@udenar.edu.co

ABSTRACT

This research was carried out in the Tissue Culture Laboratory at the University of Nariño, in order to obtain a culture medium for the propagation in vitro seeds and explants of the *S. mammosum*, *S. marginatum*, *S. hirtum* and *S. umbellatum* by the evaluation of media Hussey-Stacey (A) (1984), Hendrix *et al.*, (H) (1987), Atkinson *et al.*, (AT) (1993) and half of Murashyge y Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) (Roca, 1984, amended). In sexual propagation phase was evaluated the percentage of germination, root number, length of plant, days to leaves formation, days to roots formation, days to complete morphogenesis and dry matter. Subsequently, determine the type of morphogenesis through callus, leaf and stalk (stem) and complete plants formed. Similarly, was studied the number of outbreaks, shoot length, root number, leaf number, dry matter and days to complete morphogenesis. Was used design random for the seeds and factorial design 4 x 3 for explants. Results showed that for *S. mammosum* the best way germination was $\frac{1}{2}$ MS, for the development of plants was A and for vegetative propagation A-KNOT. In the same order, for the *S. marginatum* was the A, H and $\frac{1}{2}$ MS or H with Knots were the best options, while in *S. hirtum* were H, A and H-Knots. For *S. umbellatum* there were no differences between H, $\frac{1}{2}$ MS and A on the germination, while for the formation of plants the best media was $\frac{1}{2}$ MS and H-Knots for vegetative propagation.

Key words: Wild solanaceae, tissue culture, knots, callus, organogenesis.

INTRODUCCIÓN

Las especies silvestres han sido útiles para el mejoramiento de los cultivos de importancia económica por ser fuente de variabilidad genética y alternativa para la solución de problemas inherentes a la sanidad, debido a que poseen características deseables como la resistencia a plagas y enfermedades, por ejemplo el híbrido “La Selva”, es un cultivar mejorado obtenido del retrocruzamiento interespecífico entre *S. hirtum* x *S. quitoense* el cual muestra resistencia al ataque de *Meloidogyne spp.* (Bernal *et al.*, 1998).

El lulo es una especie en proceso de domesticación, con bajo nivel de selección, de ahí que es susceptible a muchas limitantes de tipo fitosanitario, especialmente a los relacionados con el sistema radicular. La variedad Castilla es la más sembrada en la región alto andina del sur del país. Su producción se destina al consumo en fresco y su potencial productivo es de 27 t/ha (National Academy of Sciences, 2005). Sin embargo, dentro de esta variedad no se han reportado fuentes de resistencia a problemas radiculares, siendo necesario

involucrar en programas de mejoramiento a especies silvestres relacionadas que poseen dichas características.

Bernal *et al.* (2002) y Angulo (2006) mencionan que existen solanáceas silvestres compatibles en injertación con el lulo cultivado como *S. hirtum*, el cual presenta resistencia a *Fusarium* sp. Algunas especies relacionadas con el lulo como *S. sessiliflorum* y *S. marginatum* son resistentes a *F. oxysporum* (Betancourt *et al.*, 2006). *S. umbellatum* posee resistencia al nematodo del género *Meloidogyne* sp., es altamente compatible en injertación con el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y resistente a factores como la sequia y humedad excesiva del suelo (Nee, 1991).

Estas especies pueden ser utilizadas como patrones para la producción de injertos. De ahí que es necesario la obtención de plantas sanas y vigorosas bajo condiciones de cultivo in vitro (Cabrera, 1999). En Colombia no se ha evaluado el comportamiento agronómico de injertos de lulo de Castilla con patrones silvestres relacionados con la familia Solanaceae. Así mismo, no se conocen trabajos relacionados con la propagación in vitro de especies silvestres como *S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. umbellatum* y *S. marginatum*, que pueden servir como patrones en la producción de injertos de lulo de Castilla (*S. quitoense*) resistentes a las enfermedades radiculares citadas anteriormente.

Este trabajo busca establecer un medio de cultivo para la propagación in vitro de semillas y explantes de *S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. umbellatum* y *S. marginatum*, evaluando diferentes concentraciones de hormonas propuestas en medios reportados.

METODOLOGÍA

Localización. El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Nariño, localizado en la Ciudad Universitaria Torobajo del municipio de Pasto a una altitud de 2540 msnm, 01° 12'13" LN y 77° 15'23" LO, bajo una temperatura promedio de 20°C, una humedad relativa de 75% y un fotoperiodo de 16 horas luz.

Material vegetal. Las semillas de *S. hirtum* fueron suministradas por el Programa de Producción de Frutales Andinos, adscrito a la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño y las de *S. mammosum*, *S. umbellatum* y *S. marginatum*, suministradas por el Banco Nacional de Germoplasma de Recursos Fitogenéticos a cargo de CORPOICA.

Ensayos de propagación in vitro. En cada especie se realizó un ensayo con semillas y uno con explantes, para un total de 8 ensayos. Para el primer ensayo, se evaluaron cuatro tratamientos, que corresponden a los medios de cultivo propuestos por Segovia *et al.* (2002) los cuales son Hendrix (H), Atkinson (AT), mitad de Murashige y Skoog ($\frac{1}{2}$ MS), Hussey y Stacey (A). Por cada tratamiento se tomaron cinco repeticiones. En cada una se sembraron 100 semillas, con ocho días de haber sido extraídas, distribuidas en cuatro frascos (25 semillas cada uno). Se utilizó el diseño irrestrictamente al azar. La unidad experimental y de muestreo correspondió a cuatro frascos con 25 semillas cada uno.

Las variables evaluadas fueron porcentaje de germinación (PG), número de raíces (NR), longitud de planta (LP), días a formación de hojas (DFH), días a formación raíces (DFR), días a morfogénesis completa (DMC) y materia seca (MS). Los datos de la variable porcentaje de germinación (PG) fueron transformados mediante la fórmula $\arcsen \sqrt{\%}$. Estas variables se sometieron a un Análisis de Varianza (ANDEVA). En aquellas variables donde el ANDEVA mostró diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparación de medias denominada Diferencia Mínima Significativa (DMS).

En el ensayo de explantes se estudiaron los factores medios de cultivo y tipos de explantes. Se evaluaron los mismos medios de cultivo utilizados para el ensayo de semilla, los explantes correspondieron a segmento de 5 mm de largo de hipocotilos, epicotilos y nudos de las especies *S. mammosum*, *S. hirtum*, y *S. marginatum* y en *S. umbellatum*, en vez de epicotilos se usaron hojas cotiledonales de 12 días de formación. En cada caso, se utilizó un diseño factorial de 4x3 con 5 repeticiones. Cada repetición estuvo formada por cuatro

frascos y en cada frasco se sembraron dos explantes para un total de 8 explantes por repetición.

Para este ensayo se evaluó el tipo de morfogénesis dada por las modalidades de sin morfogénesis (SM), callos (C), tallo con hojas que se denominó vástago (V) y plantas completamente formadas (P), estas variables se expresaron en porcentaje. Igualmente, se estudiaron las variables número de brotes (NB), longitud de brotes (LB), número de raíces (NR), número de hojas (NH), materia seca (MS) y días a morfogénesis completa (DMC). Las variables expresadas en porcentajes se transformaron mediante la fórmula $\arcseno\sqrt{\%}$. Los datos obtenidos se sometieron al Análisis de Varianza (ANDEVA). En aquellos casos, donde la interacción medio por explante no fue significativa, se analizaron los efectos simples para medios y explantes; de lo contrario, se analizó solamente la interacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propagación por semilla. En todas las especies estudiadas, el ANDEVA mostró diferencias significativas entre los medios de cultivo en todas las variables evaluadas. La diferencias entre los medios se deben a que ligeros cambios en la composición de estos, especialmente en lo que se refiere a los reguladores de crecimiento, puede ser de utilidad para obviar efectos del genotipo (Roca *et al.*, 1991).

En general, los porcentajes de germinación (PG) fueron bajos (Tabla 1), excepto en Hendrix (H) para *S. hirtum* (94,4%) y mitad de Murashige y Skoog (½MS) para *S. mammosum* (90,6%). Como puede observarse, los PG fueron muy variables, no garantizando un medio óptimo para la germinación de todas las especies, ni una respuesta consistente de ellas para un medio en especial. Debido a su condición silvestre, los medios no pueden garantizar la presencia de algunos elementos exógenos que pueden influir en el rompimiento de la latencia de las semillas.

En la germinación de semillas de especies silvestres, deben completarse los procesos metabólicos y morfogénéticos que dependen de la recuperación de la actividad biológica y de una serie de condiciones ambientales favorables. Sin embargo, este entorno también está afectado por las características y composición de los medios de cultivo, favoreciendo o limitando la germinación, dependiendo del genotipo. Estos medios pueden promover la pérdida de sustancias inhibitoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras, pero en general, reajustan el equilibrio hormonal de la semilla o la sensibilidad de sus tejidos para las distintas sustancias activas (Azcon-Bieto y Talon, 1993).

Morfogénesis de plántulas obtenidas a partir de semillas. En *S. mammosum* el medio A presentó el más alto NR (6 raíces), LP (5,45 cm), NH (4 hojas), DFR (5 d), DMC (9 d) y MS (0,043 g). Este medio no presentó diferencias significativas con el medio AT en DFH, cuyas medias fueron de 9 d (Tabla 1).

En *S. hirtum* no se presentaron diferencias significativas entre los medios A, H y ½MS en las variables LP, DFH, DFR y DMC. Sin embargo, el medio AT obtuvo los mejores promedios en NR (4 raíces) y MS (0,034 g), y en la variable NH no presentó diferencias significativas con el medio A con promedios de 7 hojas (Tabla 1).

Lentini *et al.* (2004) reportan que en plantas de *S. quitoense* sembradas con aireación en medio A muestran un desarrollo radicular más temprano y profuso respecto a los medios ½MS, H y AT. Estos medios, produjeron una mayor expansión de las hojas y altura de las plantas. En los cuatro medios, las plantas presentaron más de cuatro raíces, aunque a los 60 días, las plantas del medio ½MS presentaron raíces más desarrolladas, aunque esta aparente ventaja, no muestra mayor importancia ya que las diferencias con el medio A, no fueron significativas.

Tabla 1. DMS entre A, AT, H y ½MS para el porcentaje de germinación (PG), número de raíces (NR), longitud de plantas (LP), número de hojas (NH), días a formación de hojas (DFH), días a formación de raíces (DFR), días a morfogénesis completa (DMC) y materia seca (MS) evaluadas bajo condiciones in vitro en *S. mammosum*, *S. marginatum*, *S. hirtum* y *S. umbellatum*.

<i>S. mammosum</i>									
Medio	N	PG	NR	LP (cm)	NH	DFH	DFR	DMC	MS
A	5	72,0 b	6 a	5,45 a	4 a	9 a	5 a	9 a	0,043 a
AT	5	32,2 c	4 b	3,64 b	2 b	9 a	19 d	19 d	0,019 b
H	5	62,6 b	4 b	2,76 c	2 b	13 b	6 b	13 b	0,019 b
½MS	5	90,6 a	4 b	2,75 c	2 b	15 c	8 c	15 c	0,017 b
Promedio		64,35	4 raíces	3,65	2 hojas	12 d	9 d	14 d	0,024 g
DMS		12,84	1 raíces	0,72	1 hojas	1 d	1 d	1 d	0,0073g
<i>S. hirtum</i>									
Medio	N	PG	NR	LP (cm)	NH	DFH	DFR	DMC	MS
A	5	45,20 b	2 b	7,85 a	7 a	10 a	3 a	10 a	0,007 b
AT	5	59,40 b	4 a	5,58 b	7 a	18 b	6 b	18 b	0,034 a
H	5	94,40 a	2 b	7,41 a	5 b	10 a	3 a	10 a	0,011 b
½MS	5	32,80 b	2 b	7,20 a	5 b	12 a	4 a	12 a	0,007 b
Promedio		57,95	2 raíces	7,01	6 hojas	12 d	4 d	12 d	0,015 g
DMS		26,60	1 raíces	0,71	1 hojas	2 d	1 d	2 d	0,022 g
<i>S. marginatum</i>									
Medio	N	PG	NR	LP (cm)	NH	DFH	DFR	DMC	MS
A	5	55,4 a	4 c	5,15 b	6 a	15 bc	34 c	15 b	0,0180 b
AT	5	12,8 c	6 c	2,75 c	3 b	19 c	19 b	20 c	0,3817 a
H	5	17,2 c	18 a	6,58 a	5 a	14 ab	6 a	14 ab	0,0525 b
½MS	5	41,8 b	9 b	3,67 c	3 b	10 a	7 a	10 a	0,0375 b
Promedio		31,80	9 raíces	4,54	4 hojas	10 d	16 d	15 d	0,122 g
DMS		8,39	3 raíces	1,22	1 hojas	5 d	3 d	5 d	0,222 g
<i>S. umbellatum</i>									
Medio	N	PG	NR	LP (cm)	NH	DFH	DFR	DMC	MS
A	5	35,2 ba	3 b	1,27 b	5 ab	8 ab	5 b	8 a	0,0035 c
AT	5	30,6 b	4 b	1,28 b	3 c	10 b	5 b	10 b	0,0526 a
H	5	45,8 ba	8 a	1,21 b	4 b	7 a	3 a	10 b	0,0154 cb
½MS	5	53,2 a	11 a	2,05 a	5 a	10 b	7 c	10 b	0,0308 ab
Promedio		41,20	7 raíces	1,45	4 hojas	9 d	4 d	10 d	0,0256 g
DMS		13,14	3 raíces	0,32	1 hojas	2 d	1 d	1 d	0,0253 g

Letras distintas indican diferencias significativas ($Pr \leq 0,05$). A=Hussey y Stacey, AT= Atkinson, H= Hendrix y ½MS= mitad de Murashige y Skoog.

En *S. marginatum* el medio H obtuvo los mejores resultados en las variables NR (18 raíces) y LP (6,58 cm), mientras que en DFR (6 d), DFH (14 d) y DMC (14 d) no tiene diferencia con el medio ½MS (DFR = 7 d, DFH=10 d y DMC = 10 d, respectivamente) y en NH (5 hojas) no mostró diferencias con el medio A (6 hojas). En la variable MS el mejor medio es AT (0,38 g; Tabla 1).

En *S. umbellatum* el medio ½MS obtuvo un alto promedio en LP (2,05 cm), así mismo, A en DMC (8 d). ½MS (NR= 11; NH=5; MS= 0,03) no tiene diferencias con H en NR (8 raíces), con A en NH (5 hojas) y con AT en MS (0,05 g). En DFR el mejor promedio lo tiene H, con 3 d. Este medio, con DFH (7 d) no presentó diferencias con A (8 d; Tabla 1).

En las últimas dos especies, mencionadas anteriormente Segovia *et al.* (2002) y Hendrix *et al.* (1987) observó un comportamiento similar en *S. quitoense* para NR en ensayos sin aireación con el medio ½MS y H. En este caso, se presentaron raíces más numerosas, mientras que al comparar el ancho de hoja de las plantas con los mismos medios, se presentaron hojas con el doble de ancho en ½MS que las observadas en H y AT. En cuanto a la altura se obtuvieron plantas más pequeñas en el medio ½MS que en AT y H.

De acuerdo con Gamborg *et al.* (1975) el éxito en cultivo de tejidos, depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física. En los medios evaluados se utilizó las sales del medio basal MS excepto en ½MS que contiene un 50% de la concentración de elementos inorgánicos manteniendo el nivel de hormonas propuesto por Segovia *et al.* (2002). Teniendo en cuenta que las hormonas en diferentes combinaciones determinan el crecimiento de todos los órganos en la planta (López, 1993) y que a la vez interactúan de manera favorable o no con otros factores como el genotipo, la temperatura y la luz, es difícil encontrar un medio que sea eficiente en la producción de plantas a partir de semilla en especies silvestres (Roca, 1991).

Propagación in vitro de explantes. De acuerdo con el ANDEVA, en *S. mammosum* la interacción medio por explante no es significativa para todas variables evaluadas, a

excepción de SM. Esto indica que los niveles del medio no afectan de manera diferencial al explante o viceversa, por lo tanto los tipos de explantes no necesitan un medio específico para desarrollarse. En este caso, es necesario analizar los efectos simples significativos del ANDEVA combinado.

Respecto a los medios, en *S. mammosum* existieron diferencias significativas en C, P, NB, LB, NH y DMC. La prueba de comparación de medias DMS (Tabla 2) indica que no existen diferencias entre AT, H y ½MS para C, cuyos promedios oscilan entre 76,7% y 79,2%. Estos presentaron diferencias con A que produjo un 20% de callos. Con A se obtuvieron los mejores promedios en P (59,3 %), en NB (2 brotes) y NH (3 hojas). Para LB no hay diferencias estadísticas entre los medios A (0,63 cm), H (0,37 cm) y ½MS (0,41 cm) y en cuanto a DMC tampoco existen diferencias entre AT (1 d) y H (1 d) (Tabla 2). Lo anterior se corrobora, con los resultados obtenidos por Segovia *et al.* (2002) quien menciona que las mejores plantas de *S. quitoense* variedad *septentrionale* y *quitoense* son obtenidas con el medio A, lo cual lleva a confirmar a este medio como el que proporciona la mejor opción para micropropagación de plántulas de lulo y especies relacionadas.

Las bondades del medio A respecto a otros medios se debe a la presencia de vitaminas esenciales como el pantotenato de calcio y la alta concentración de ácido nicotínico, favoreciendo así una mayor formación de plantas. El requerimiento de vitaminas varía de acuerdo con la naturaleza de la planta y el tipo de cultivo (Morel, 1946). Algunos experimentos han mostrado que la supresión de algunas vitaminas favorece el desarrollo de las plantas (Linsmaier y Skoog, 1965). El pantotenato de calcio no es utilizado con frecuencia, pero se ha encontrado que juega un papel importante en el cultivo de algunos tejidos (George, 1993), por lo que no es extraño que produzca estímulos favorables en las solanáceas estudiadas.

En la Tabla 3 se presenta la DMS entre los explantes cultivados in vitro de *S. mammosum*. El cultivo de nudos mostró diferencias altamente significativas para todas las variables evaluadas. Para la producción de plantas el cultivo de nudos resulta ser el más adecuado ya

que con un 73,3% de plantas formadas supera ampliamente a los cultivos de hipocotilos y epicotilos, los cuales son adecuados para la producción de callos (73,7 y 79,4% respectivamente).

Tabla 2. DMS entre los medios para callo (C), planta (P) y vástago (V) y de las variables: número de brotes (NB), longitud de brotes (LB), número de raíces (NR), número de hojas (NH) y días a morfogénesis completa (DMC) en *S. mammosum*, *S. hirtum* y *S. umbellatum*.

<i>S. mammosum</i>								
MEDIO	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	DMC
A	20 b	59,3 a	-	2 a	0,63 a	-	3 a	3 b
AT	79,2 a	34,6 b	-	1 b	0,17 b	-	1 b	1 a
H	78,3 a	37,8 b	-	1 b	0,37 ab	-	1 b	1 a
½MS	76,7 a	45,4 b	-	1 b	0,41 ab	-	1 b	3 b
DMS	13,56	12,2	-	1 brotes	0,33	-	1 hojas	1 d
<i>S. umbellatum</i>								
MEDIO	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	DMC
A	-	35,9 a	38,5 a	2 a	-	1 b	3 a	5 b
AT	-	28,0 b	33,8 ab	1 b	-	1 b	1 b	2 ab
H	-	36,1 a	32,0 b	1 b	-	3 a	3 a	5 b
½MS	-	30,5 b	32,5 b	1 b	-	1 b	1 b	1 a
DMS	-	4,4	4,8	1 brotes	-	1 raíces	1 hojas	3 d
<i>S. hirtum</i>								
MEDIO	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	DMC
A	-	35,6 b	40,0 a	2 a	-	-	2 a	3 ab
AT	-	36,7 b	29,0 b	1 b	-	-	1 b	2 a
H	-	40,7 a	28,6 b	1 b	-	-	2 a	5 b
½MS	-	34,5 b	24,6 b	1 b	-	-	1 b	3 ab
DMS	-	3,6	3,8	1 brotes	-	-	1 hojas	3 d

Letras distintas indican diferencias significativas ($Pr \leq 0,05$). A=Hussey y Stacey, AT= Atkinson, H= Hendrix y ½MS= mitad de Murashige y Skoog.

Tabla 3. DMS entre tipos de explantes para callo (C), planta (P), vástago (V) y de las variables: número de brotes (NB), longitud de brotes (LB), número de raíces (NR), número de hojas (NH), materia seca (MS) y días a morfogénesis completa (DMC) en *S. mammosum*, *S. hirtum* y *S. umbellatum*.

<i>S. mammosum</i>									
EXPL	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	MS	DMC
Nudo	37,5 b	73,3 a	81,1 a	-	1,09 a	3 a	3 a	0,03 a	3 b
Hipo	73,7 a	28,4 b	37,2 b	-	0,07 b	1 b	1 b	0,0006 b	1 a
Epi	79,4 a	30,2 b	36,4 b	-	0,03 b	1 b	1 b	0,0003 b	1 a
DMS	14,6	10,3	10,9	-	0,29	1 raíces	1 hojas	0,0082 g	1 d
<i>S. umbellatum</i>									
EXPL	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	MS	DMC
Nudo	-	39,5 a	41,6 a	2 a	0,69 a	3 a	4 a	-	7 b
Hipo	-	29,5 b	32,1 b	1 b	0,08 b	1 b	1 b	-	2 a
Coti	-	28,7 b	28,9 b	1 b	0,05 b	1 b	1 b	-	2 a
DMS	-	3,8	4,2	1 brotes	0,21	1 raíces	1 hojas	-	2 d
<i>S. hirtum</i>									
EXPL	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	MS	DMC
Nudo	-	48,4 a	35,0 a	2 a	-	-	4 a	-	7 b
Hipo	-	32,2 b	30,0 b	1 b	-	-	1 b	-	2 a
Epi	-	30,0 b	30,5 b	1 b	-	-	1 b	-	2 a
DMS	-	3,1	3,3	1 brotes	-	-	1 hojas	-	2 d

Letras distintas indican diferencias significativas ($Pr \leq 0,05$), Coti= cotiledones, Hipo= hipocotilo, Epi= epicotilo y Nudo= nudos.

En *S. marginatum* la interacción medio por explante fue significativa en todas las variables evaluadas. En P no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos A-HIPO, A-NUDO, H-NUDO y ½MS-NUDO, obteniéndose con ellos el mayor número de plantas, específicamente entre 41 y 42,2% (Tabla 4).

Los mejores resultados de NB se obtuvieron con los tratamientos A-NUDO (1 brote) y ½MS-NUDO (1 brotes). El tratamiento H-NUDO obtuvo valores medios superiores en LB (1,94 cm), NR (3 raíces) y NH (3 hojas) aunque en NH no tiene diferencia con A-NUDO (3 hojas) y con ½MS-NUDO (3 hojas). En MS los mejores tratamientos fueron AT-NUDO (0,03 g) y ½MS-NUDO (0,04 g) y finalmente, en DMC fue H-EPI (1 d; Tabla 4).

Tabla 4. Interacción medio por explante en explantes sin morfogénesis (SM), callo (C), planta (P) y vástago (V) y de las variables: número de brotes (NB), longitud de brotes (LB), número de raíces (NR), número de hojas (NH), materia seca (MS) y días a morfogénesis completa (DMC), que en el ANDEVA mostraron un efecto altamente significativo, evaluadas en un sistema de propagación vegetativa mediante tres tipos de explante en lulo silvestre.

Trat Var	A- EPI	A- HIPO	A- NUDO	AT- EPI	AT- HIPO	AT- NUDO	H- EPI	H- HIPO	H- NUDO	½MS- EPI	½MS- HIPO	½MS- NUDO	DMS
<i>S. mammosum</i>													
SM (%)	71,0 b	71,2 b	34,2 a	37,2 a	49,3 a	27,1 a	27,1 a	42,1 a	41,1 a	27,1 a	37,0 a	34,2 a	29,9
<i>S. marginatum</i>													
SM (%)	52,7 a	39,7 b	29,7 dc	26,9 b	26,9 b	33,9 bc	32,2 dc	26,9 d	26,9 d	26,9 b	26,9 b	26,9 d	5,9
C (%)	26,9 f	34,0 e	31,4 f	57,0 a	57,0 a	49,8 bc	54,8 a	54,1 ab	46,9 dc	57,0 a	57,0 a	43,0 d	4,5
P (%)	31,4 bc	39,6 a	41,6 a	26,9 c	26,9 c	26,9 c	28,6 c	36,8 ab	42,2 a	26,9 c	26,9 c	41,0 a	5,8
V (%)	36,8 b c	45,1 a	48,8 a	26,9 c	26,9 c	39,6 b	26,9 c	26,9 c	37,0 b	26,9 c	26,9 c	44,7 a	4,4
NB	0 b	0 b	1 a	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	1 a	1 brotes
LB (cm)	0,22 ed	0,31 cd	0,58 c	0 b	0 b	0,43 cd	0,04 ed	0,36 cd	1,94 a	0 b	0 b	1,09 b	0,28
NR	1 b	1 b	1 b	0 c	0 c	0 c	1 b	2 ab	3 a	0 c	0 c	1 b	1 raíces
NH	1 b	1 b	3 a	0 c	0 c	1 b	0 c	1 b	3 a	0 c	0 c	3 a	1 hojas
MS	0,001d	0,001 d	0,005cd	0 b	0 b	0,03 ab	0,002 d	0,01 c	0,02 b	0 b	0 b	0,04 a	0,009 g
DMC	2 ab	6 d	7 d	0 e	0 e	0 e	1 a	4 bcd	5 cd	0 e	0 e	3 cb	1 d
<i>S. hirtum</i>													
SM (%)	51,8 b	52,1 a	34,6 b	26,9 c	26,9 c	28,6 c	29,9 c	26,9 c	26,9 c	26,9 c	26,9 c	28,6 c	4,8
C (%)	26,9 c	26,9 c	28,6 c	57,0 a	56,6 a	39,2 b	54,9 a	53,7 a	40,3 b	56,2 a	56,2 a	40,2 b	5,9
LB (cm)	0,19 c	0,10 c	0,98 bc	0 c	0,04 c	3,09 b	0,70 c	0,45 c	5,39 a	0,07 c	0,11 c	2,91 b	2,35
NR	0 c	1 c	1 c	0 c	1 c	4 b	1 c	1 c	6 a	1 c	1 c	3 b	1 raíces
MS	0,0005 c	0,0007 c	0,009 b	0 c	0,002 c	0,04 a	0,009 b	0,005 c	0,028 ab	0,001 c	0,001 c	0,026 ab	0,019 g
Trat Var	A- COTI	A- HIPO	A- NUDO	AT- COTI	AT- HIPO	AT- NUDO	H- COTI	H- HIPO	H- NUDO	½MS- COTI	½MS- HIPO	½MS- NUDO	DMS
<i>S. umbellatum</i>													
SM (%)	55,4 a	51,9 a	30,4 bc	26,9 c	28,6 cb	28,6 cb	31,4 cb	26,9 c	32,2 b	31,4 bc	31,4 bc	34,2 b	6,1
C (%)	26,9 d	26,9 d	26,9 d	56,2 a	55,8 a	45,4 bc	54,0 a	54,5 a	40,7 c	55,8 a	54,5 a	45,8 b	4,9

Letras distintas indican diferencias significativas ($Pr \leq 0,05$), Hipo= hipocotilo, Epi= epicotilo, Coti= cotiledones, Nudo= nudos, Trat= tratamientos, Var= variables, A=Hussey y Stacey, AT= Atkinson, H= Hendrix y ½MS= mitad de Murashige y Skoog.

En *S. umbellatum* la interacción medio por explante fue significativa para SM y C, obteniendo el mayor porcentaje de callos con AT-COTI, AT-HIPO, H-COTI, H-HIPO, $\frac{1}{2}$ MS-COTI y $\frac{1}{2}$ MS-HIPO con porcentajes entre 54,0% y 56,2%. Mientras que para las demás variables se analiza el efecto simple de los medios y explantes por separado. El efecto entre los medios presentó diferencias significativas en V, P, NB, NR, NH y DMC y el de explantes en P, V, NB, LB, NR, NH y DMC. La interacción medio por explante no fue significativa para MS, así mismo, no existieron diferencias entre medios, ni entre explantes.

La Tabla 2 indica que en P, los medios A (35,9%) y H (36,1%) no exhiben diferencias, lo mismo que en NH (3 hojas). En V se obtuvieron porcentajes superiores con A (38,5%) y AT (33,8%). El mayor NR se obtuvo con H (3 raíces). Los mejores resultados de NB se presentaron con A (2 brotes) y finalmente para DMC no hubo diferencia con AT (2 d) y $\frac{1}{2}$ MS (1 d). Con el cultivo de nudos se presentaron los mejores resultados en todas las variables mencionadas, a excepción de DMC, logrando menores promedios con hipocotilos y epicotilos (2 d; Tabla 3).

Como se observa en los resultados, existe una respuesta diferencial entre las especies, dada por la naturaleza del genotipo. Algunas respuestas genotipo-dependientes son causadas por la interacción entre la planta y el medio de cultivo o la hormona utilizada (George, 1993). Esto se vio reflejado directamente en las respuestas de los explantes en los cuatro medios.

Para la especie *S. hirtum* los resultados muestran que la interacción medio por explante fue significativa en SM, C, LB, NR y MS. Por otra parte, se observaron diferencias entre medios en P, V, NB, NH y DMC, y de explantes en P, V, NB, NH y DMC.

El mayor número de C se obtuvo con AT-EPI, AT-HIPO, H-EPI, H-HIPO, $\frac{1}{2}$ MS-EPI Y $\frac{1}{2}$ MS-HIPO con porcentajes que oscilan entre 53,7% y 57,0%. En LB y NR el mejor promedio se obtuvo con H-NUDO (5,39 cm y 6 raíces). Finalmente, en MS no se

presentaron diferencias entre AT-NUDO (0,04 g), H-NUDO (0,028g) y ½MS-NUDO (0,026 g) (Tabla 4).

La DMS para medios (Tabla 2) indica el mayor porcentaje de P se obtuvo con H (40,7%). En V y NB los mejores resultados se obtuvieron con A (40,0% y 2 brotes, en su orden). En NH no hay diferencia entre A y H con un promedio de 2 hojas. En DMC, los medios A (3 d), AT (2 d) y ½MS (3 d) se comportaron de la misma forma. Con explantes, el cultivo de nudos presentó los mejores promedios en P (48,4%), V (35,0%), NB (2 brotes) y NH (4 hojas). Mientras que para DMC no se encontraron diferencias entre hipocotilos y epicotilos (2 d; Tabla 3). Es muy frecuente que, en idénticas condiciones de medio y ambiente, las respuestas in vitro del cultivo de un determinado explante y de una especie difieran con el cultivar empleado (Litz *et al.*, 1984).

Como puede observarse, la organogénesis se dio en la gran mayoría de los casos con el cultivo de nudos, el cual presenta grandes ventajas por estar compuesto por células meristemáticas, constituyendo un punto activo de crecimiento, que al estar en condiciones de un medio de cultivo compuesto por una auxina o citoquinina se estimula el desarrollo de brotes y yemas, siendo capaces de desarrollar individuos completos directamente (Cheng, 1975 y Evans *et al.*, 1983).

La respuesta de los explantes cultivados in vitro pueden variar con el estado de desarrollo, el factor genético y edad ontogénica de los mismos (Murashige, 1974). El cultivo de nudos, implica el aislamiento de una yema, favoreciendo la obtención de un nuevo individuo, razón por lo cual ha sido un tipo de explante bastante utilizado en la propagación de especies como la papa, yuca, tomate, pepino, pera y rosa (López, 1993). Además, los estímulos de yemas son más frecuentes en la rizogénesis; sin embargo, el origen del explante puede tener una influencia determinante, lo que sugiere que los factores importantes son siempre desconocidos y que los efectos de los tratamientos, pueden ser diferentes en cada especie (Mateo y Urbano, 1988).

CONCLUSIONES

En *S. mammosum* se obtiene un mayor porcentaje de germinación con mitad de Murashyge y Skoog ($\frac{1}{2}$ MS), mientras que para *S. marginatum* fue con Hussey-Stacey (A), para *S. hirtum* fue Hendrix (H) y para *S. umbellatum* no hay diferencia entre H, $\frac{1}{2}$ MS y A.

El mejor medio para producir plantas con un buen número de raíces y de hojas en *S. mammosum* fue Hussey-Stacey (A). Mientras que para *S. marginatum*, *S. umbellatum* y *S. hirtum* fue el medio Hendrix (H). Para las cuatro especies el tipo de explante con el que se obtuvo los mejores resultados en propagación vegetativa fue el cultivo de nudos.

BIBLIOGRAFÍA

ANGULO, R. 2006. Lulo: El cultivo. Bogotá, Colciencias, Universidad Jorge Tadeo Lozano. 100p.

ATKINSON R. and GARDNER R. 1993. Regeneration of transgenic tamarillo plants. *Plant Cell Reports*. 12: 347-351

AZCO-BIETO, J.; TALON, M. 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana McGraw-Hill, New York. 581 p.

BETANCOURT, C.; NARVAEZ, A.; ZAMBRANO, R. 2006. Reacción de diferentes genotipos de lulo (*Solanum quitoense*) al ataque de *Fusarium oxysporum*. Trabajo de grado (Ing. Agrónomo). Universidad de Nariño-Pasto. Facultad de ciencias agrícolas. 89p.

BERNAL, J.; LOBO, M.; LONDOÑO, M. 1998. Documento de presentación del Material “Lulo La Selva”. CORPOICA, Rionegro Antioquia. 77 p.

BERNAL, E.; BOTERO, O.; CARDONA, A.; CASTAÑO, P.; CASTAÑO, Z.; FRANCO, G.; GALLEGO, D.; GIRALDO, C.; GUEVARA, M.; LONDOÑO, B.; MORALES, M.; RAMÍREZ, G.; RÍOS, G.; RODRÍGUEZ, M.; RODRÍGUEZ, O.; TAMAYO, B.; TAMAYO, M. y ZULUETA, O. 2002. El cultivo de lulo, 1ra. Edición. Manizales, ASOHOFrucol, CORPOICA. 103 p.

CABRERA, W. principios de propagación de plantas, 1999.

www.lamolina.edu.pe/facultad/agronomia/horticultural/propagacion/reprodasexual.htm:

Mayo, 2010.

CHENG, T. 1975. Adventitious bud formation in culture of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco). *Plant Sci. Lett.* 5:97-102.

EVANS, D.; FLICK, C. y SHARP, W. 1983. Organogénesis. Handbook of plant cell cultura. MacMillan Publishing, Nueva York. 81 p.

GAMBORG, O. L. y WETTER, L. R. 1975. Plant tissue cultura methods. National Research Council of Canada (NRC), Ottawa, Canada. 22 p.

GEORGE E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture. Part 1. The technology. 2nd Edition. Exegetics Limited. Gran Bretain. 555 p.

HENDRIX R.; LITZ, R. y KIRCHOFF B. 1987. In vitro organogenesis and plant regeneration from leaves of *Solanum candidum*, *S. quitoense* (naranjilla) and *S. sessiliflorum*. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 102 p.

HUSSEY. G y STACEY N. J., 1981. In vitro propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). Ann.Bot. 48: 787-796.

LENTINI, Z.; RUIZ, J.; SEGOVIA, V.; TABARES, E.; HINCAPIE, F.; COCK, J. y PARRA, F. 2004. Propagación in vitro y regeneración de plantas de lulo (*Solanum quitoense*) y su uso como clones élites por agricultores. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali.
www.ciat.org: Mayo, 2010.

LINSMAEIR E. M. y SKOOG F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plnat. 18:100-127.

LITZ, R. 1984. In vitro somatic embryogénesis from necellar callus of monoembryonic mango. HortScience 19:715-717.

LOPÉZ, G. 1993. Cultivo in vitro de plantas superiores. Universidad de Nariño – Facultad de Ciencias Agrícolas, Pasto. 107 p.

MATEO BOX, J.M. y URBANO TERRÓN, P. 1988. Fitotecnia general. 2ª ed. Madrid, Mundiprensa. 814 p.

MOREL, G. 1946. Action of pantothenic acid on the growth of tissue cultured in vitro Hawthorn. Compt. Rend. Acad. Sci., Paris. 223: 166-168.

MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:135-165.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Lost Crops of the Incas, 2005. www.nap.edu/books/030904264X/html/268.html: Mayo, 2010.

NEE, M. 1991. Solanaceae. I. Flora de Veracruz. 49: 138-170.

ROCA, M. 1984. Cassava. In: Handbook of plant Cell Culture, ed W.R. Sharp; D.A. Evans; P.V. Amirato and Y. Yamada, 269-301

ROCA, M. Y MROGINSKI, L. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali. 970 p.

SEGOVIA, V.; SANCHEZ, I.; MEJIA, A.; ROCA, W. Y LENTINI, Z. 2002. Micropropagación y regeneración de lulo (*Solanum quitoense*) por organogénesis. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali. www.ciat.org