

# Evaluación de medios de cultivo para propagación *in vitro* de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*

## Evaluation of cultivation media for *in vitro* propagation of seeds and explants from wild *Solanum* species

Danita Andrade Díaz<sup>1</sup>, Mónica Eliana Córdoba Figueroa<sup>2</sup>, Hernando Criollo Escobar<sup>3</sup> y Tulio César Lagos Burbano<sup>4</sup>

<sup>1</sup>I.A., Grupo de Investigación en Frutales Andinos; <sup>2</sup>I.A., Secretaria de Agricultura del municipio de Ipiales; <sup>3</sup>Ph.D, Departamento de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia; <sup>4</sup>Ph.D, Departamento de Recursos Naturales y Sistemas Agroforestales, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Autor para correspondencia: tclagosb@udenar.edu.co

Rec.: 21.10.11 Acep.: 08.09.13

### Resumen

Se evaluaron los medios de cultivo Hussey-Stacey (A), Hendrix *et al.* (H), Atkinson *et al.* (AT) y mitad de Murashyge y Skoog ( $\frac{1}{2}$ MS) para la propagación *in vitro* de semillas y explantes de *Solanum mammosum*, *S. marginatum*, *S. hirtum* y *S. umbellatum*. En la fase de propagación sexual se evaluó el porcentaje de germinación, número de raíces, longitud de planta, días a formación de hojas y raíces, días a morfogénesis completa y materia seca. Se determinó el tipo de morfogénesis a través de callos, vástago y plantas totalmente formadas. Se estudiaron el número y longitud de brotes, número de raíces y hojas, producción de materia seca y días a morfogénesis completa. Para *S. mammosum* el mejor medio de germinación fue  $\frac{1}{2}$ MS, para el desarrollo de plantas fue A y para propagación vegetativa, A-Nudos (Medio A con explantes tipo nudos). En el mismo orden, para *S. marginatum* fueron los medios A, H y  $\frac{1}{2}$ MS y/o H con nudos, mientras que en *S. hirtum* fueron H,A y H-nudos. Para *S. umbellatum* no se encontraron diferencias en germinación entre H,  $\frac{1}{2}$ MS y A. Para la formación de plantas el mejor medio fue  $\frac{1}{2}$  MS y para propagación vegetativa fue H-Nudo.

**Palabras clave:** Cultivo de tejidos, morfogénesis, nudos, propagación *in vitro*, solanáceas silvestres.

### Abstract

Hussey, Stacey (A), Hendrix *et al.* (H), Atkinson *et al.* (AT) and half Murashyge and Skoog ( $\frac{1}{2}$  MS) cultivation media were evaluated for *in vitro* propagation of seeds and explants of *Solanum mammosum*, *S. marginatum*, *S. hirtum* and *S. umbellatum*. During the sexual propagation phase the germination percentage, root number, length of plant, days to formation of leaves and roots, complete morphogenesis days and dry matter was evaluated. The morphogenesis type was determined through callus, stem and fully formed plants. Number and length of shoots, number of roots and leaves, dry matter and morphogenesis days were studied. For *S. mammosum* the best germination medium was  $\frac{1}{2}$  MS, for the development of plants was A and for vegetative propagation, A-KNOTS. In the same order as for *S. marginatum* are media A, H and  $\frac{1}{2}$  MS and/or H knots, while in *S. hirtum* are H,A, and H-knots. For *S. umbellatum* there were not significant differences between H,  $\frac{1}{2}$  MS and A in germination. For the formation of plants was  $\frac{1}{2}$  MS and vegetative propagation H-Knot.

**Key words:** Knots, morphogenesis, tissue culture, wild solanaceae.

## Introducción

Las especies silvestres son de utilidad para el mejoramiento de los cultivos comerciales de importancia económica ya que son fuente de variabilidad genética y constituyen una alternativa para la solución de problemas relacionadas con sanidad vegetal debido a sus características deseables como resistencia a plagas y enfermedades. Un ejemplo es el híbrido La Selva, un cultivar mejorado de lulo obtenido del retrocruzamiento interespecífico entre *S. hirtum* x *S. quitoense*, el cual muestra resistencia al ataque de *Meloidogyne* spp. (Bernal *et al.*, 1998).

*Solanum quitoense* es una especie en proceso de domesticación con bajo nivel de selección, por tanto es susceptible a muchas limitantes de tipo fitosanitario, especialmente relacionadas con el sistema radicular. La variedad de lulo Castilla, la más cultivada en la región alto-andina del sur de Colombia, alcanza un promedio de producción de frutos de 27 t/ha destinada al consumo en fresco. Debido a que dentro de esta variedad no se conocen fuentes de resistencia a problemas radiculares, es necesario involucrar en programas de mejoramiento especies silvestres relacionadas que posean dichas características.

Según Bernal *et al.* (2002) y Angulo (2006) existen solanáceas silvestres compatibles para injerto con lulo cultivado, entre estos *S. hirtum* resistente a *Fusarium* sp. Algunas especies relacionadas con lulo, como *S. sessiliflorum* y *S. marginatum*, son resistentes a *F. oxysporum* (Betancourt *et al.*, 2006). *Solanum umbellatum* posee resistencia a nematodos del género *Meloidogyne* sp., es altamente compatible en injerto con tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y tiene resistencia a factores como estrés por sequía y humedad excesiva en el suelo (Nee, 1991). En Colombia aún no se ha evaluado el comportamiento agronómico de injertos de lulo de Castilla con patrones silvestres de la familia Solanaceae, tampoco 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 enfermedades radiculares

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los medios de cultivo Hussey-Stacey (A), Hendrix *et al.* (H), Atkinson *et al.* (AT) y mitad de Murashyge y Skoog ( $\frac{1}{2}$ MS). para la propagación *in vitro* de semillas y explantes de *S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. umbellatum* y *S. marginatum*.

## Materiales y métodos

**Localización.** El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Nariño, Ciudad Universitaria Torobajo, del municipio de Pasto (Colombia), a 2540 msnm., 01° 12'13" N y 77° 15'23" O, a 20 °C, una humedad relativa de 75% y un fotoperiodo de 16 h 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* fueron suministradas por el Banco Nacional de Germoplasma de Recursos Fitogenéticos, a cargo de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

**Propagación *in vitro*.** En cada especie se realizaron sendos ensayos, con semillas y con explantes. En el primero se evaluaron cuatro tratamientos que correspondieron a los medios de cultivo propuestos por Segovia *et al.* (2002): Hendrix (H), Atkinson (AT), mitad de Murashyge y Skoog ( $\frac{1}{2}$  MS), Hussey y Stacey (A) (Tabla 1). Cada tratamiento consistía en cinco repeticiones de 100 semillas cada una, obtenidas con 8 días de anticipación y distribuidas en cantidades iguales en cuatro recipientes. Las observaciones se hicieron diariamente durante 60 días y se utilizó el diseño irrestrictamente al azar, siendo la unidad experimental y de muestreo cada uno de los recipientes.

**Variables evaluadas.** Las variables consistieron en porcentaje de germinación (PG), número de raíces por planta (NR), longitud de planta (LP), días a formación de hojas (DFH), días a formación de raíces (DFR), días a morfogénesis completa (DMC) y producción de materia seca (MS). Los datos del porcentaje de germinación (PG) fueron transformados mediante  $\text{arc}\sqrt{\%}$ . Estas variables se sometie-

**Tabla 1.** Medios de cultivo evaluados en la propagación *in vitro* de especies silvestres de *Solanum*.

Compuesto	Medio de cultivo			
	Hendrix (H)	Atkinson (AT)	(½MS) <sup>a</sup>	Hussey y Atacey (A)
Sales	MS	MS	½MS	MS
Vitaminas	MS	B5	—	—
Tiamina (mg/l)	—	—	1	0.5
Inositol (mg/l)	—	—	100	—
Pantotenato de calcio (mg/l)	—	—	—	2,5
Pyridoxina (mg/l)	—	—	—	1
Acido nicotínico (mg/l)	—	—	—	5
Azúcar (g/Ll)	30	30	20	30
Agar (g/l)	7	8	4.5	—
Gel Rite	—	—	—	3.5
pH	5.7	6.2	5.7	5.9
ANA (mg/l)	0.02	0.1	0.02	—
BAP (mg/l)	0.02	1	0.04	—
GA <sub>3</sub> (mg/l)	—	—	0.05	—

a. Mitad del medio Murashige y Skoog.

ron a análisis de varianza (Andeva). Cuando se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparación de medias por Diferencia Mínima Significativa (DMS).

Como explantes se utilizaron segmentos de 5 mm de largo de hipocotilos, epicotilos y nudos de las especies *S. mammosum*, *S. hirtum*, y *S. marginatum*, y en *S. umbellatum* hojas cotiledonales de 12 días de formación en lugar de epicotilos, con los mismos medios que en el caso del ensayo con semillas. En ambos ensayos se utilizó un diseño factorial 4 x 3 con cinco repeticiones, donde cada repetición estaba formada por cuatro recipientes y en cada uno se sembraron dos explantes para un total de ocho explantes por repetición.

En este trabajo se evaluaron los tipos de morfogénesis: sin morfogénesis (SM), callos (C), tallo con hojas o vástago (V) y plantas completamente formadas (P), como porcentajes. Se estudiaron, además, las variables número de brotes (NB), longitud de brotes (LB), número de raíces (NR), número de hojas (NH), producción de materia seca (MS) y días a morfogénesis completa (DMC). Las variables expresadas en porcentajes se transformaron mediante  $arc\sqrt{\%}$ . Los datos obtenidos se sometieron a 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 semillas

En algunas variables de las especies estudiadas se encontraron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre los medios de cultivo, las cuales se deben, posiblemente, a los cambios en las composiciones especialmente en los reguladores de crecimiento, lo que puede ser de utilidad para obviar efectos de genotipo (Roca *et al.*, 1991).

En general, los porcentajes de germinación (PG) fueron bajos (Tabla 2), excepto en el medio Hendrix (H) para *S. hirtum* (94.4%) y ½MS para *S. mammosum* (90.6%). Los PG fueron muy variables, lo que no garantiza un medio óptimo para la germinación de las especies en estudio ni su respuesta consistente en un medio. Debido a la condición silvestre de las especies y al hecho de que los medios no garantizan la presencia de algunos elementos exógenos que influyen en el rompimiento de la latencia de las semillas, los procesos metabólicos y morfogenéticos que influyen en la germinación son afectados por las características y la composición de los

**Tabla 2.** Características de especies de *Solanum* propagadas *in vitro* en medios de cultivo diferentes<sup>a</sup>.

Medio <sup>b</sup>	Características								
	N	PG	NR	LP (cm)	NH	DFH	DFR	DMC	MS
<b><i>S. mammosum</i></b>									
A	5	72.0 b*	6 a	5.45 a	4 a	9 a	5a	9a	0.043 a
AT	5	32.2 c	4 b	3.64 b	2 b	9 a	19d	19d	0.019 b
H	5	62.6 b	4 b	2.76 c	2 b	13 b	6b	13b	0.019 b
1/2MS	5	90.6 a	4 b	2.75 c	2 b	15 c	8c	15c	0.017 b
Promedio	–	64.35	4	3.65	2	12	9	14	0.024
DMS	–	12.84	1	0.72	1	1	1	1	0.0073
<b><i>S. hirtum</i></b>									
A	5	45.20 b	2 b	7.85 a	7 a	10 a	3a	10a	0.007b
AT	5	59.40 b	4 a	5.58 b	7 a	18 b	6b	18b	0.034a
H	5	94.40 a	2 b	7.41 a	5 b	10 a	3a	10a	0.011b
1/2MS	5	32.80 b	2 b	7.20 a	5 b	12 a	4a	12a	0.007b
Promedio		58.00	2	7.01	6	12 d	4d	12d	0.015g
DMS		26.60	1	0.71	1	2 d	1d	2d	0.022g
<b><i>S. marginatum</i></b>									
A	5	55.4 a	4c	5.15 b	6 a	15 bc	34 c	15 b	0.0180 b
AT	5	12.8 c	6c	2.75 c	3 b	19 c	19 b	20 c	0.3817 a
H	5	17.2 c	18a	6.58 a	5 a	14 ab	6 a	14 ab	0.0525 b
1/2MS	5	41.8 b	9b	3.67 c	3 b	10 a	7 a	10 a	0.0375 b
Promedio		31.80	9 raíces	4.54	4	10	16	15	0.122
DMS		8.39	3 raíces	1.22	1	5	3	5	0.222
<b><i>S. umbellatum</i></b>									
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
1/2MS	5	55.2 a	11 a	2.05 a	5 a	10 b	7 c	10 b	0.0308 ab
Promedio		41.2	7	1.45	4	9	4	10	0.0256
DMS		13.14	3	0.32	1	2	1	1	0.0253

a. Porcentaje de germinación (PG), número de raíces (NR), longitud de plantas (LP), número de hojas (NH), días a formación de hoja (DFH), días a formación de raíz (DFR), días a morfogénesis completa (DMC) y producción de materia seca (MS).

b. Medios de cultivo: Hussey-Stacey (A), Hendrix *et al.* (H), Atkinson *et al.* (AT) y mitad de Murashyge y Skoog (1/2MS).

\*. Valores en una misma columna y medio de cultivo seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ( $P > 0.05$ ), según la prueba de rangos múltiples.

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 frente a las distintas sustancias activas (Azcon-Bieto y Talon, 1993).

### Morfogénesis de plántulas obtenidas a partir de semillas.

Las plántulas de *S. mammosum* en el medio A presentaron los valores (entre paréntesis) siguientes: NR (6 raíces), LP (5.45 cm), NH (4 hojas), DFR (5 días), DMC (9 días) y producción de MS (0.043 g). Para DFH después de 9 días no se observaron diferencias entre los medios A y AT (Tabla 2).

En *S. hirtum*, las variables LP, DFH, DFR y DMC no variaron entre medios A, H y  $\frac{1}{2}$ MS. No obstante, en el medio AT se observaron los mejores promedios en NR (4 raíces) y producción de MS (0.034 g). El NH fue similar en los medios A y AT y mayor ( $P < 0.05$ ) que en H y  $\frac{1}{2}$ MS. Lentini *et al.* (2004) encontraron en plantas de *S. quitoense* sembradas con aireación en medio A un desarrollo radicular más temprano y abundante que en los medios  $\frac{1}{2}$ MS, H y AT; no obstante en estos últimos las plántulas presentaron mayor expansión de hojas y altura de planta. En los medios evaluados, las plántulas presentaron más de 4 raíces; aunque a los 60 días las plantas en el medio  $\frac{1}{2}$ MS presentaron raíces más desarrolladas, los valores no fueron diferentes a los obtenidos en el medio A ( $P > 0.05$ ).

*Solanum marginatum* en medio de cultivo H presentó los mejores resultados en las variables NR (18 raíces) y LP (6.58 cm); mientras que para DFR, DFH y DMC los resultados fueron similares a los obtenidos con el medio  $\frac{1}{2}$ MS. Para el NH (5 hojas) no se observaron diferencias entre los medios H y A y los mejores valores de producción de MS se encontraron en el medio AT (Tabla 2).

En *S. umbellatum* los valores de las características morfológicas estudiadas fueron muy variables entre medios, así, la LP (2.05 cm) fue mayor en el medio  $\frac{1}{2}$ MS y los valores de NR = 11; NH=5 y MS = 0.03 lo fueron en medio  $\frac{1}{2}$ MS.

Tanto en *S. marginatum* como en *S. umbellatum*, Segovia *et al.* (2002) y Hendrix *et al.* (1987) observaron comportamientos similares a los de *S. quitoense* para el NR en ensayos sin aireación con medios  $\frac{1}{2}$ MS y H; no obstante en el presente estudio se presentaron raíces más abundantes. El ancho de hoja de las plantas fue mayor en medio  $\frac{1}{2}$ MS que en los medios H y AT, pero la LP fue mayor en estos últimos.

De acuerdo con Gamborg *et al.* (1975) el éxito en cultivo de tejidos depende de la selección del medio, incluyendo su composición química y su forma física. En los medios evaluados se utilizaron sales del medio basal MS, excepto en  $\frac{1}{2}$ MS que contenía 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 los órganos en la planta (López, 1993) e interactúan con otros factores como el genotipo, la temperatura y la luz, es difícil hallar un medio que sea eficiente en la producción de plantas a partir de semillas en especies silvestres (Roca, 1991).

### Propagación *in vitro* de explantes

En *S. mammosum* la interacción medio por explante no fue significativa ( $P > 0.05$ ) para todas las variables evaluadas, excepto para SM, lo que indica que los niveles del medio no afectaron de manera diferencial al explante y que estos no necesitaron un medio específico para su desarrollo. Esta especie no mostró variación en características como C, P, NB, LB, NH y DMC ni entre los medios AT, H y  $\frac{1}{2}$ MS, excepto para C (Tabla 3). Con el medio A se presentaron los mejores valores ( $P < 0.05$ ) para P (59.3%), en NB (2 brotes) y NH (3 hojas). En este caso no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) en longitud de planta entre los medios A (0.63 cm), H (0.37 cm) y  $\frac{1}{2}$ MS (0.41 cm). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Segovia *et al.* (2002) en variedades de *S. quitoense*.

Los mayores beneficios del medio A fueron debidos a la presencia de vitaminas esenciales como pantotenato de calcio y a la alta concentración de ácido nicotínico. El requerimiento de vitaminas varía de acuerdo con los tipos de planta y de cultivo (Morel, 1946); Linsmaier y Skoog (1965) encontraron que la supresión de algunas vitaminas favorece el desarrollo de las plantas. El pantotenato de calcio es poco utilizado, pero se ha demostrado su papel importante en el cultivo de algunos tejidos (George, 1993).

En los explantes de *S. mammosum* cultivados *in vitro* se observó que la siembra de nudos presenta los mejores valores en las variables evaluadas, excepto para la formación de callo. Este cultivo de nudos resultó ser el más apropiado para la producción de plantas alcanza 73.3% de plantas formadas, superando ampliamente a los cultivos de hipocotilos y epicotilos, que son adecuados para la producción de callos (Tabla 4).

En *S. marginatum* la interacción medio de cultivo por explante fue significativa ( $P < 0.05$ ) en todas las variables evaluadas

**Tabla 3.** Diferencias 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 tres especies de *Solanum* cultivadas en medios diferentes.

Medio	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	DMC
<b><i>S. mammosum</i></b>								
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
1/2MS	76.7 a	45.4 b	—	1 b	0.41 ab	—	1 b	3 b
DMS	13.56	12.2	—	1	0.33	—	1	1
<b><i>S. umbellatum</i></b>								
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
1/2MS	-	30.5 b	32.5 b	1 b	—	1 b	1 b	1 a
DMS	-	4.4	4.8	1	—	1	1	3
<b><i>S. hirtum</i></b>								
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
1/2MS	-	34.5 b	24.6 b	1 b	—	—	1 b	3 ab
DMS	-	3.6	3.8	1	—	—	1	3 d

Medios de cultivo: Hussey-Stacey (A), Hendrix *et al.* (H), Atkinson *et al.* (AT) y mitad de Murashyge y Skoog (½MS).

\*. Valores en una misma columna y medio de cultivo seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa (P > 0.05), según la prueba de rangos múltiples.

**Tabla 4.** Características de partes de explantes en tres especies de *Solanum* cultivadas en medios diferentes.

Parte explante	C (%)	P (%)	V (%)	NB	LB (cm)	NR	NH	MS	DMC
<b><i>S. mammosum</i></b>									
Nudo	37.5 b	73.3 a	81.1 a	—	1.09 a	3 a	3 a	0.03 a	3 b
Hipocotilo	73.7 a	28.4 b	37.2 b	—	0.07 b	1 b	1 b	0.0006 b	1 a
Epicotilo	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	1	0.0082 g	1 d
<b><i>S. umbellatum</i></b>									
Nudo	—	39.5 a	41.6 a	2 a	0.69 a	3 a	4 a	—	7 b
Hipocotilo	—	29.5 b	32.1 b	1 b	0.08 b	1b	1 b	—	2 a
Epicotilo	—	28.7 b	28.9 b	1 b	0.05 b	1b	1 b	—	2 a
DMS	—	3.8	4.2	1	0.21	1	1	—	2 d
<b><i>S. hirtum</i></b>									
Nudo	—	48.4 a	30.5 a	2 a	—	—	4 a	—	7 b
Hipocotilo	—	32.2 b	30.0 b	1 b	—	—	1 b	—	2 a
Epicotilo	—	30.0 b	30.5 b	1 b	—	—	1 b	—	2 a
DMS	—	3.1	3.3	1	—	—	1	—	2 d

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).

\*Valores en una misma columna y medio de cultivo seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa (P > 0.05), según la prueba de rangos múltiples.

(Tabla 5). En P (plantas formadas) no se presentaron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos A-Hipo, A-Nudo, H-Nudo y ½MS-Nudo, obteniéndose con ellos el mayor número de plantas (41 – 42.2%). Para el NB los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos A-Nudo y ½MS-Nudo. El tratamiento H-Nudo presentó los mejores resultados en LB (1.94 cm), NR (3 raíces) y NH (3 hojas). Para la producción de MS los mejores tratamientos fueron AT-Nudo (30 mg) y ½MS-Nudo (40 mg) y para DMC fue H-EPI.

En *S. umbellatum* la interacción medio de cultivo por explante fue significativa para SM y C, con mayor porcentaje de callos en AT-Coti, AT-Hipo, H-Coti, H-Hipo, ½MS-Coti y ½MS-Hipo entre 54% y 56.2%. El efecto entre medios de cultivo fue diferente ( $P < 0.05$ ) en P, V, NB, NR, NH y DMC y el explante en P, V, NB, LB, NR, NH y DMC. La interacción medio de cultivo por explante, así como entre medios y entre explantes no fueron significativas para MS. El cultivo de nudos presentó los mejores resultados en

**Tabla 5.** Interacción medio de cultivo por tipo de explante en un sistema de propagación vegetativa de tres especies de *Solanum* cultivadas en medio diferente

Medio:	A			AT			H			1/2MS			DMS
Expl:	Epi	Hipo	Nudo	Epi	Hipo	Nudo	Epi	Hipo	Nudo	Epi	Hipo	Nudo	
<b><i>S. mammosum</i></b>													
SM (%)	71.0b*	71.2b	34.2a	37.2a	49.3a	27.1a	27.1a	42.1a	41.1a	27.1a	37.0a	34.2a	29.9
<b><i>S. marginatum</i></b>													
SM (%)	52.7a	39.7b	29.7dc	26.9b	26.9b	33.9bc	32.2dc	26.9d	26.9d	26.9b	26.9b	26.9d	5.9
C (%)	26.9f	34.0e	31.4f	57.0a	57.0a	49.8bc	54.8a	54.1ab	46.9dc	57.0a	57.0a	43.0d	4.5
P (%)	31.4bc	39.6a	41.6a	26.9c	26.9c	26.9c	28.6c	36.8ab	42.2a	26.9c	26.9c	41.0a	5.8
V (%)	36.8bc	45.1a	48.8a	26.9c	26.9c	39.6b	26.9c	26.9c	37.0b	26.9c	26.9c	44.7a	4.4
NB	0b	0b	1a	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b	1a	1 brote
LB (cm)	0.22ed	0.31cd	0.58c	0b	0b	0.43cd	0.04ed	0.36cd	1.94a	0b	0b	1.09b	0.28
NR	1b	1b	1b	0c	0c	0c	1b	2ab	3a	0c	0c	1b	1 raiz
NH	1b	1b	3a	0c	0c	1b	0c	1b	3a	0c	0c	3a	1 hoja
MS	0.001d	0.001d	0.005cd	0b	0b	0.03ab	0.002d	0.01c	0.02b	0b	0b	0.04a	0.009g
DMC	2ab	6d	7d	0e	0e	0e	1a	4bcd	5cd	0e	0e	3cb	1d
<b><i>S. hirtum</i></b>													
SM (%)	51.8b	52.1a	34.6b	26.9c	26.9c	28.6c	29.9c	26.9c	26.9c	26.9c	26.9c	28.6c	4.8
C (%)	26.9c	26.9c	28.6c	57.0a	56.6a	39.2b	54.9a	53.7a	40.3b	56.2a	56.2a	40.2b	5.9
LB (cm)	0.19c	0.10c	0.98bc	0c	0.04c	3.09b	0.70c	0.45c	5.39a	0.07c	0.11c	2.91b	2.35
NR	0c	1c	1c	0c	1c	4b	1c	1c	6a	1c	1c	3b	1 raiz
MS	0.0005c	0.0007c	0.009b	0c	0.002c	0.04a	0.009b	0.005c	0.028ab	0.001c	0.001c	0.026ab	0.019g
<b><i>S. umbellatum</i></b>													
SM (%)	55.4a	51.9a	30.4bc	26.9c	28.6cb	28.6cb	31.4cb	26.9c	32.2b	31.4bc	31.4bc	34.2b	6.1
C (%)	26.9d	26.9d	26.9d	56.2a	55.8a	45.4bc	54.0a	54.5a	40.7c	55.8a	54.5a	45.8b	4.9

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). 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.

\*Valores en una misma columna y medio de cultivo seguidos de letras iguales no difieren en forma significativa ( $P > 0.05$ ), según la prueba de rangos múltiples.

las variables analizadas, excepto para DMC; cuando se compara con el uso de hipocotilos y epicotilos (ver Tabla 4). Los resultados muestran una respuesta diferencial entre las especies, dependiente 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).

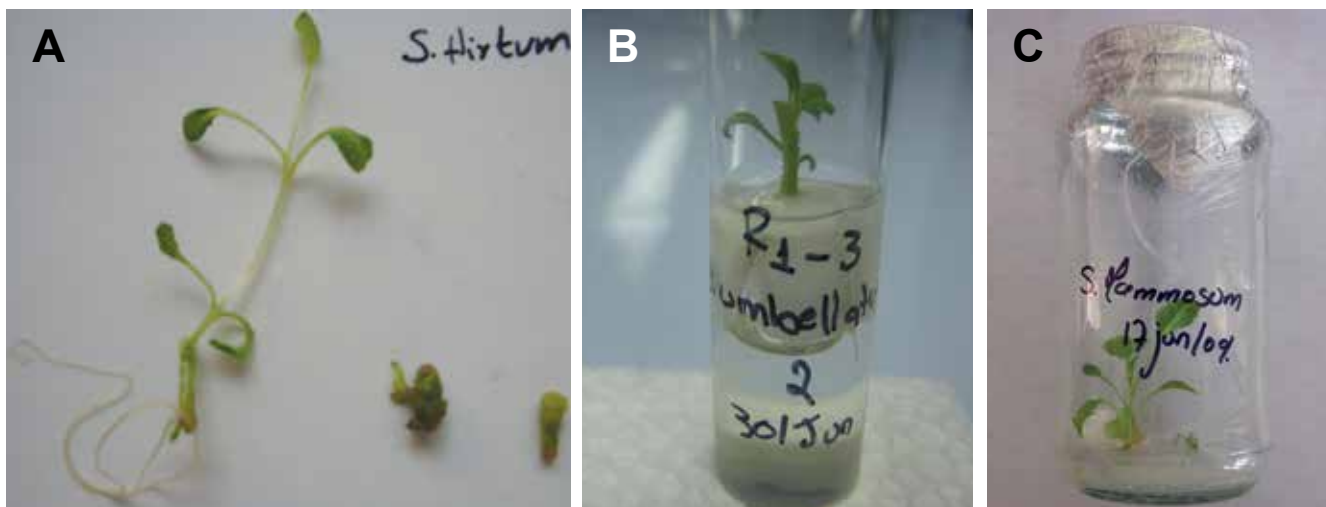
Para *S. hirtum* los resultados muestran que la interacción medio de cultivo por explante fue significativa ( $P < 0.05$ ) en SM, C, LB, NR y MS. Por otra parte, se observaron diferencias entre medios para P, V, NB, NH y DMC, y de explantes en P, V, NB, NH y DMC. El mayor número de C se obtuvo con AT-EPI, AT-Hipo, H-Epi, H-Hipo,  $\frac{1}{2}$ MS-Epi Y  $\frac{1}{2}$ MS-Hipo con porcentajes que varían entre 53.7% y 57%. En LB y NR el mejor promedio se obtuvo con H-Nudo (5.39 cm y 6 raíces). Para MS no hubo diferencias entre AT-Nudo (40 mg), H-Nudo (28mg) y  $\frac{1}{2}$ MS-Nudo (26 mg) (ver Tabla 4). Para medios de cultivo (ver Tabla 3) el mayor porcentaje de P se obtuvo con el medio H (40.7%). Para V y NB los mejores resultados se obtuvieron con el medio A; en NH no se encontraron diferencias entre los medios A y H y para DMC los medios A, AT y  $\frac{1}{2}$ MS (3 días) fueron similares.

Con explantes, el cultivo de nudos presentó los mejores resultados para P (48.4%), V (35%), NB (2 brotes) y NH (4 hojas); mientras que para DMC no se encontraron dife-

rencias entre hipocotilos y epicotilos (2 días, Tabla 4). Es frecuente que en iguales condiciones de medio y ambiente, la respuesta *in vitro* del cultivo de un explante sea diferente a la del cultivar empleado (Litz *et al.*, 1984); no obstante estudios previos indican que es posible regenerar *in vitro* especies de *Solanum* a partir de diferentes explantes, incluyendo hojas, tallo, ápice e hipocótilo (Medina *et al.*, 2008).

En la Foto 1 se observa que la organogénesis ocurrió principalmente con el cultivo de nudos el cual presenta grandes ventajas ya que está compuesto por células meristemáticas, un sitio de crecimiento activo que en un medio de cultivo compuesto por una auxina o citoquinina estimula el desarrollo de brotes y yemas hasta procesar individuos completos (Cheng, 1975; Evans *et al.*, 1983).

La respuesta de los explantes cultivados *in vitro* puede variar con el estado de desarrollo, el factor genético y la edad ontogénica (Murashige, 1974). El cultivo de nudos involucra el aislamiento de una yema, lo que favorece la obtención de un nuevo individuo; por tanto, ha sido un tipo de explante bastante utilizado en la propagación de 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 efectos de los tratamientos pueden ser diferentes en cada especie (Mateo y Urbano, 1988).



**Foto 1.** Morfogénesis completa a partir de explantes tipo nudo en A: *S. hirtum*, B: *S. umbellatum* y C: *S. mammosum*.



En los estudios de Evans y Sharp (Evans *et al.*, 1983) se demostró que la regeneración de especies como *S. laciniatum* y *S. khasianum* depende de las relaciones entre concentraciones altas de citocininas y bajas de auxina. En el caso del presente estudio es posible afirmar que *S. mammosum* no requiere reguladores de crecimiento para formar plantas completas a partir de explantes tipo nudo; mientras que para *S. marginatum*, *S. umbellatum* y *S. hirtum* es necesaria una relación auxina:citocinina igual a 1. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Yaguache y Armijos (2010) en la propagación de *S. cajanumensis* y Botero *et al.* (2011) en la regeneración de *S. lycopersicum*, quienes utilizaron relaciones de auxina/citocinina cercanas a 1.

### Conclusiones

- Los porcentajes de germinación de las semillas de las especies de *Solanum* utilizadas en este estudio fueron diferentes entre especies, siendo esta variable afectada principalmente por el medio de cultivo.
- En *S. mammosum* el mayor porcentaje de germinación se obtuvo en el medio ½MS, mientras que para *S. marginatum* ocurrió con el medio Hussey-Stacey (A), para *S. hirtum* con el medio Hendrix (H) y para *S. umbellatum* en los medios H, ½MS y A.
- La producción de plantas *in vitro* de *S. mammosum* fue mayor en el medio Hussey-Stacey (A), mientras que el medio Hendrix (H) fue mejor para *S. marginatum*, *S. umbellatum* y *S. hirtum*. Para explantes los mejores resultados en propagación vegetativa se obtuvieron con el cultivo de nudos.

### Referencias

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

Atkinson, R. y Gardner, R. 1993. Regeneration of transgenic tamarillo plants. *Plant Cell Rep.* 12:347 - 351

Azcon-Bieto, J. y Talon, M. 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana Mc-Graw-Hill, Nueva York. 581 p.

Betancourt, C.; Narvaez, A.; y 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. 89 p.

Bernal, J.; Lobo, M.; y Londoño, M. 1998. Documento de presentación del material Lulo La Selva. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Rionegro, Antioquia. 77 p.

Bernal, E.; Botero, O.; Cardona, A.; Castaño, P.; Castaño, Z. *et al.* 2002. El cultivo de lulo. Primera edición. Manizales, Asohofrucol - Corpoica. 103 p.

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. Organogenesis. 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. Reino Unido. 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 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. *et al.* 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](http://www.ciat.org) : Mayo, 2010.

Linsmaeir, E. M. y Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 18:100 - 127.

Litz, R. 1984. *In vitro* somatic embryogenesis from nucellar callus of monoembryonic mango. *HortScience* 19:715 - 717.

López, 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.

Medina, M.; Sepúlveda, N. y Murillo, M. 2008. Regeneración *in vitro* de plantas a partir de explantes foliares del lulo chocoano, *Solanum sessiliflorum* Dunal vía organogénesis. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó* 27(1): 92-95.

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.
- Nee, M. 1991. Solanaceae. I. Flora de Veracruz. 49:138 - 170.
- 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.; Sánchez, I.; Mejía, 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](http://www.ciat.org)
- Yaguache, A. y Armijos, R. 2010. Germinación, brotación y conservación *in vitro* de *Solanum cajanum* Kunth (Tomate de árbol silvestre). *Revista Institucional Universidad Técnica Particular de Loja*. Loja, Ecuador 38 (1): 55-68