

REGENERACIÓN *IN VITRO* DE PLANTAS A PARTIR DE EXPLANTES FOLIARES DEL LULO CHOCOANO, *Solanum sessiliflorum* DUNAL VÍA ORGANOGÉNESIS

IN VITRO REGENERATION OF PLANTS FROM LEAF EXPLANTS OF LULO CHOCOANO, *Solanum sessiliflorum* DUNAL, ORGANOGENESIS WAY

MIGUEL Á. MEDINA RIVAS*, NIZA INÉS SEPÚLVEDA ASPRILLA*, MARÍA VICTORIA MURILLO*

RESUMEN

Brotos adventicios enraizados fueron regenerados de segmentos de hoja de *S. sessiliflorum* Dunal. Se utilizó como medio de cultivo MS suplementado con kinetina (0.25 a 2 mg/l y 0.01 a 1 mg/l ácido indolacético (IAA). Los brotes obtenidos fueron inducidos para formar raíz por transferencia a un medio con benziladenina (BA) y ácido naftalenoacético (NAA) 0.5 y 1 mg/l respectivamente. Los brotes adventicios se formaron directamente del explante foliar con (0.5-1.5 mg/l) de kinetina en combinación con (0.2-0.5) mg/l de IAA. Las plantas enraizadas fueron exitosamente transferidas al campo.

Palabras clave: Lulo; Organogénesis; *Solanum sessiliflorum*; Cultivo de tejidos.

ABSTRACT

Adventitious shoots and roots were regenerate from leaf segments of *S. sessiliflorum* Dunal. Leaf explants differentiated shoots on a medium MS supplemented with (0.25 a 2 mg/l) kinetina and (0.01 a 1 mg/l) of indolacetic acid (IAA). Excised shoots were induced to form roots by transfer to a media with benzyladenine (BA) and naphthaleneacetic acid (NAA) at (0.5 y 1 mg/l) respectively. Adventitious shoots were produced directly from leaf explants with (0.5-1.5 mg/l) kinetin and (0.2-0.5 mg/l) IAA in combination. Rooted plants were successfully established in the field.

Keyword: Lulo; Organogenesis; *Solanum sessiliflorum*; Tissue culture.

INTRODUCCIÓN

El lulo chocoano (*Solanum sessiliflorum* Dunal), es una especie relacionada con *S. quitoense* que se cultiva en el norte de Suramérica y en menor extensión en Centro América. La pulpa de fruta se usa para hacer jugos, néctares, mermeladas, dulces, compotas y, eventualmente, para consumo fresco como hortaliza o preparada en encurtidos (Bhatt *et al.* 1979). Es más tolerante a altas intensidades lumínica que otras especies; el *S. sessiliflorum* no hibridiza con sus especies relacionada, *S. quitoense* o naranjillo, *S. candidum*, por tanto, no han sido exitosa las estrategias convencionales para la mejora del cultivo en lo relacionado con la transferencia de resistencia a enfermedades para obtener cultivos extensivos en el trópico.

El presente estudio se ha realizado para describir una técnica *in vitro* que podría ser usada para la generación de variaciones somaclonal y quizás para la regeneración de plantas a partir de diferentes explantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *S. sessiliflorum* se obtuvieron de frutos en un mercado público en Quibdó, Chocó, Colombia. Las semillas germinaron en medios de cultivos estériles hasta obtener plántulas axénicas viables.

El crecimiento *in vitro* se inició con explantes nodales cultivados en medio de cultivo de Murashige y Skoog 1962 el cual se le adicionó 30 g/l de sacarosa, 7 g/

* Grupo de Investigación Biotecnología y Recursos Fitogenéticos, Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, Quibdó, Colombia. e-mail: mmedinarivas@gmail.com

Fecha de recibido: Noviembre 8, 2007

Fecha de aprobación: Abril 2, 2008

Tabla 1
Respuesta *in vitro* a la formación de ápices y brotes axilares de *S. sessiliflorum*

BA (mg/l)	NAA(mg/l)	Respuesta
0.0	0.0	Plantas enraizadas
0.5	0.2	Plantas enraizadas
0.8	0.5	Plantas enraizadas
1.5	0.8	Desarrollo anormal (formación de callo)
2.0	1.0	Desarrollo anormal (formación de callo)

l de Agar y varias combinaciones de BA (0-2mg/l y NAA 0-1 mg/l. El medio se ajustó a un pH de 5.7 antes de ser autoclavado por 20 minutos 1.1 kg/cm² y 120°C. Los brotes axilares se subcultivaron cada 4-6 semanas.

Para los experimentos de organogénesis se utilizaron como explantes las hojas de las plantas obtenidas *in vitro*. Segmento de hojas de 1cm², incluyendo las nervadura central y parte del peciolo, se plantaron en el medio de cultivo solidificado con lado adaxial hacia abajo en frascos de compotas (3 explantes por frascos en medio solidificado. El medio de cultivo utilizado fue el mismo descrito inicialmente al cual se les sustituyó el BA y NAA por varias concentraciones de kinetina (0.25 a 2 mg/l) y IAA (0.01 a 1 mg/l). También se le agregó ácido giberelico (GA3) previamente esterilizado por microfiltración después de autoclavado a una concentración de 0.5 mg/l. Se hicieron 10 réplicas por tratamiento. Las ápices adventicios se subcultivaron en medios para enraizamiento.

Todos los cultivos se incubaron en una cámara de crecimiento a 21± 1°C a 15 horas de fotoperíodo durante 20 días, la intensidad luminosa fue 1500 a 2000 lux fría/suministrada por tubos fluorescentes de 36W, Silvana, equivalente a 34-90 m E/s/m².

Se seleccionaron plantas enraizadas y transferidas a

materas corrientes que se protegieron con una cúpula hecha con la parte superior de una botella plástica por 20 días.

RESULTADOS

De brotes axilares de *S. sessiliflorum* se desarrollaron a plantas enraizadas en un medio básico o medio que contenía bajas concentraciones de BA y NAA (Tabla 1). Las plantas crecieron hasta la capacidad del bote de cultivo durante 4-6 semanas; se observaron muchas proliferaciones de brotes axilares.

Los cultivos de explantes de hojas de *S. sessiliflorum* formaron pequeñas cantidades de callos compactos en regiones de los cortes, particularmente cerca de la nervadura central y en la parte laminar del explante. De los callos se desarrollaron nódulos verdes, los cuales se diferenciaron completamente a meristemos adventicios (Figuras 1 y 2) durante 4 a 6 semanas después de establecido los cultivos.

Se formaron meristemos adventicios del explante foliar (Figuras 1 y 3) en el medio que contenía 0.25 a 2 mg/l de kinetina solamente o en combinación con (0.01 a 1 mg/l) de IAA (Tabla 2). La presencia de GA3 no fue necesaria para la elongación y desarrollo de las plantas porque ocurrieron en medios en donde el GA3 no estaba presente.

Los ápices separados de los explantes foliares, enraizaron entre 2-3 semanas en medios de cultivos para enraizamiento (Figuras 1-5). Las plantas enraizadas se aclimataron rápidamente en el campo (Figuras 1-6).

DISCUSIÓN

Estudios previos han indicado que muchas especies de *Solanum* se pueden regenerar *in vitro* a partir de diferentes explantes incluyendo explantes foliares, tallo, ápices e hipocótilo (Flick *et al.* 1983). Las especies de *Solanum* que se ha regenerado a partir

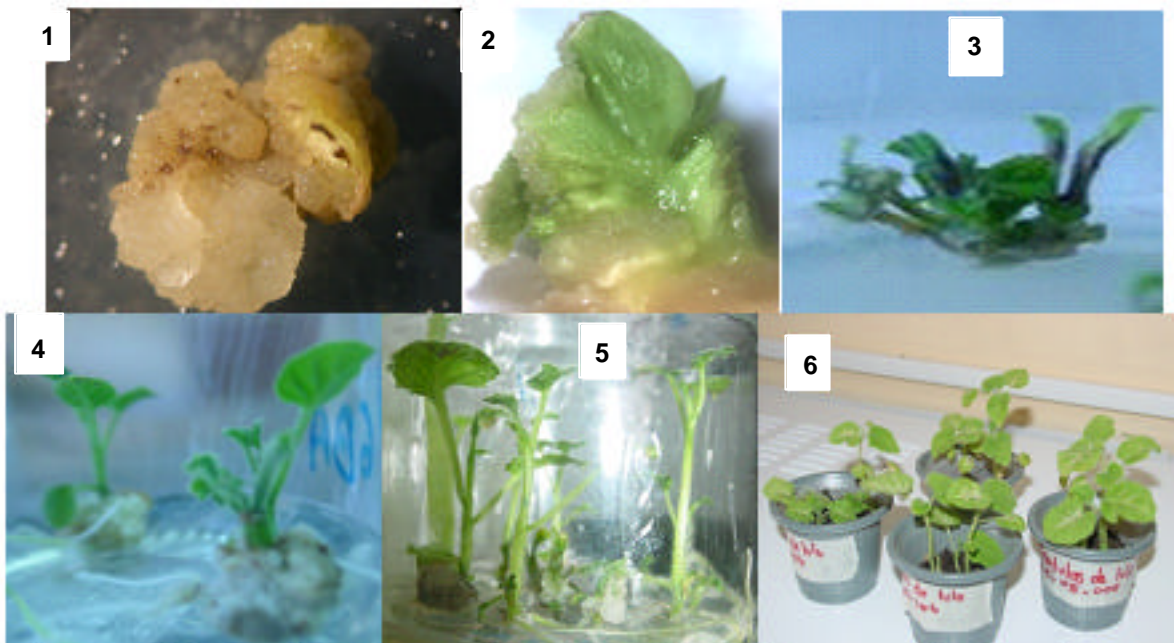


Figura 1. Organogénesis somática *in vitro* a partir de explantes foliares de *Solanum sessiliflorum* Dunal
 1. Callo nodular de explante foliar 2. Callo con ápices adventicios 3. Callo con varios ápices
 4. Plántula creciendo en el callo 5. Plántulas en crecimiento 6. Plantas en macetas listas para el campo

Tabla 2
Respuestas del explante foliar de *S. sessiliflorum* al cultivo *in vitro* en medio que contenía IAA y kinetina

Kinetina mg/l	IAA mg/l	Respuesta
0	0	Raíces adventicias
0.25	0.05	Raíces adventicias
0.8	0.1	Ápices anormales no regeneraron plantas
1.0	0.3	Ápices anormales no regeneraron plantas
1.5	0.5	50% de explantes produjeron ápices
1.8	0.8	50-75% de explantes produjeron ápices
2.0	1.0	76-100% de explantes produjeron ápices

de explante foliares incluyen *S. dulcamara* (Zenkteler 1972) *S. khasianum* (Bhatt *et al.* 1979), *S. laciniatum* (Whalen *et al.* 1981), *S. nigrum* (Bhatt *et al.* 1979, Zenkteler 1972) y *S. tuberosum* (Roest & Bokelmann 1976). Estos estudios proporcionaron los primeros informes de organogénesis de las especies en la sección Lasiocarpo de Solanum. Se ha confirmado observaciones anteriores con *S. laciniatum* y *S. khasianum* indicando que la regeneración de ápices depende de una relación de

altas concentraciones de citokininas y baja de auxina (Evans & Sharp 1986, Zenkteler 1972). La regeneración también puede ocurrir con baja frecuencia en ausencia de auxina, como se informó para *S. dulcamara* (Bhatt *et al.* 1979, Zenkteler 1972) y *S. nigrum* (Davies & Dale 1979). En particular, *S. sessiliflorum* requiere altas concentraciones de citokinina.

La habilidad para regenerar plantas a partir de

explantes foliares de *S. sessiliflorum* tiene implicaciones interesantes, para las perspectivas de mejora clásica de estos cultivos recalcitrantes (Heiser 1985). El ciclo *in vitro* al cual es sometido el tejido ha permitido generar efectos desestabilizante en muchas especies de *Solanum*, lo cual da como resultados variaciones en las plantas regeneradas (Evans & Sharp 1986). Recobrar exitosamente la potencialidad de la variación somaclonal de hojas de lulo en cultivo *in vitro*, podría tener un impacto importante en lo referente a la mejora de este cultivo. Sin embargo, es probable que las aproximaciones biotecnológicas que incluyen cultivo de protoplasto o transformación del cultivo de segmentos de hojas con *Agrobacterium tumefaciens* como vector, puede facilitar el proceso de mejora.

LITERATURA CITADA

- Bhatt, N.P.,** Bhatt, D.P., Sussex, I.M. 1979. Organ regeneration from leaf discs of *Solanum nigrum*, *S. dulcamara* and *S. khasianum*. *Z Pflanzenphysiol.* **95**: 355-62.
- Davies, M.E.,** Dale, M.M. 1979. Factors affecting *in vitro* shoot regeneration on leaf discs of *Solanum laciniatum* Ait. *Z Pflanzenphysiol.* **92**: 51-60.
- Evans, D.A.,** Sharp, W.R. 1986. Somaclonal and gametoclonal variation. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV (eds.). *Handbook of plant cell culture*. Vol. 4. New York: MacMillan. p. 97-132.
- Flick, C.E.,** Evans, D.A., Sharp, W.R. 1983. Organo-genesis. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamada Y (eds.). *Handbook of plant cell culture*. Vol. 1. New York: MacMillan. p. 13-81.
- Heiser, C.B.Jr.** 1985. Ethnobotany of the naranjilla. (*solanum quitoense*) and its relatives. *Econ Bot.* **39**: 4-11.
- Murashige, T.,** Skoog, F. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassays for tobacco tissue culture. *Physiol Plant.* **15**: 473-97.
- Roest, S.,** Bokelmann, G.S. 1976. Vegetative propagation of *Solanum tuberosum* L. *in vitro*. *Potato Res.* **19**: 173-8.
- Whalen, M.D.,** Costich, D.E., Heiser, C.B. 1981. Taxonomy of *Solanum* Section Lasiocarpa. *Gentes Herb.* **12**: 41-129.
- Zenktele, M.** 1972. *In vitro* formation of plants from leaves of several species of the Solanaceae family. *Biochem Physiol Pflanzen.* **163**: 509-12.