

## Establecimiento *in vitro* de yemas de *Ipomoea batatas*

Orlando S. González Paneque<sup>1</sup>, Margarita Hernández Espinosa<sup>2</sup>, Juan J. Silva Pupo<sup>1</sup>, Silvia Montes Cruz<sup>2</sup>, Mirtha López Machado<sup>2</sup> y Antonio Sigarroa González<sup>3</sup>. \* Autor para correspondencia.

<sup>1</sup> Universidad de Granma. Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Apdo. 21. Bayamo. C.P.: 85100. Granma. Cuba. e-mail: ogpaneque@udg.co.cu.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Departamento de Genética y Mejoramiento. San José de Las Lajas. Gaveta Postal 1. C.P.: 32700. La Habana. Cuba.

<sup>3</sup> Facultad de Biología. Departamento de Biología Vegetal. Universidad de la Habana. Calle: 25. No. 455. Entre: I y J. Vedado. La Habana. Cuba.

### RESUMEN

Con la finalidad de estudiar el comportamiento de diferentes yemas en el establecimiento *in vitro* del boniato, fueron recolectadas raíces tuberosas pertenecientes a los clones Cemsa 78-354, Inivit 90-1, Inivit 93-1, Yabú-8 y Jewel; y se colocaron en frascos con agua en el laboratorio para inducir la brotación de las yemas. Posteriormente, se seleccionaron como material de siembra: el ápice meristemático y las yemas axilares uno, dos, tres, cuatro y cinco (a partir del ápice) y fueron sembrados en el medio de cultivo de Murashige y Skoog que contenía las sales MS, tiamina (1 mg.l<sup>-1</sup>), mioinositol (100 mg.l<sup>-1</sup>), sacarosa (3%), gelrite (2 g.l<sup>-1</sup>) y diferentes combinaciones de ácido gibérelico (AG<sub>3</sub>) y ácido 3-indol acético (AIA), por ejemplo: AG<sub>3</sub> (5 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>), AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>), AG<sub>3</sub> (5 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.1 mg.l<sup>-1</sup>) y AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.1 mg.l<sup>-1</sup>). El pH fue ajustado a 5.8 ± 0.01 en todos los casos, previo a la adición del agente solidificante. Transcurridas cinco semanas se evaluó el comportamiento morfológico de las yemas. Se obtuvieron buenos resultados en la micropopagación al emplear las yemas axilares dos, tres y cuatro en el medio de cultivo con los reguladores del crecimiento AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>).

Palabras clave: ápice meristemático, brotación, clones, yemas axilares

### ABSTRACT

Different buds of sweet potato were studied. Roots of the clones Cemsa 78-354, Inivit 90-1, Inivit 93-1, Yabú-8 and Jewel were selected and put in glass with water in the laboratories for inducing the shoots. Afterwards the top shoot and the axiles shoots one to five (from top shoot) were selected and sown in the Murashige and Skoog medium with the sales MS, Thiamine (1 mg.l<sup>-1</sup>), myoinositol (100 mg.l<sup>-1</sup>), sucrose (3%), gelrite (2 g.l<sup>-1</sup>) and different growth regulator combinations of giberelic acid (AG<sub>3</sub>) and 3-indol acetic acid (AIA), for example: AG<sub>3</sub> (5 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>), AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>), AG<sub>3</sub> (5 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.1 mg.l<sup>-1</sup>) and AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.1 mg.l<sup>-1</sup>). The pH was adjusted to 5.8. After five weeks, the morphologic behaviour of the shoots was evaluated. The better results were obtained in the micropropagation with the use of the axiles shoots two, three and four in the culture medium whit growth regulator AG<sub>3</sub> (10 mg.l<sup>-1</sup>) + AIA (0.05 mg.l<sup>-1</sup>).

Key words: clones, axiles buds, top shoot, brotation

### INTRODUCCIÓN

El boniato (*Ipomoea batatas* L.) es una planta de origen tropical. Produce raíces reservantes de gran valor calórico y nutritivo, debido a su alto contenido de carbohidratos (Medina, 1991). Es un alimento primordial, principalmente, en los países del tercer mundo. Entre las raíces y tubérculos cultivados es el segundo en importancia y representa más del 80% de la producción mundial. Se propaga, generalmente, en forma vegetativa debido a la dificultad de obtener semilla botánica. Por ello, los trabajos de mejoramiento genético tradicional que utilizan el sistema de reproducción sexual resultan ser largos y costosos.

Las técnicas *in vitro* han sido una poderosa herramienta en la explotación comercial y han propiciado el empleo de la micropopagación en diferentes especies, donde

los resultados disponibles hacen suponer que esta sustituirá los sistemas convencionales de multiplicación y esto trae consigo la necesidad de estudiar la misma. Uno de los elementos clave y más costosos utilizados en la propagación *in vitro* lo constituyen el tipo de explante y los reguladores del crecimiento (González, 1998; Plana *et al.*, 2000).

Las técnicas de cultivo de tejidos en boniato, como también en otras especies, ofrecen gran apoyo a los programas de propagación acelerada; siendo posible obtener plantas libres de patógenos a partir del cultivo de meristemos y luego multiplicar masivamente estas plantas usando las técnicas de micropopagación y el empleo del cultivo de embriones (Salinas, 1990) y la conservación del material vegetal (Jarret *et al.*, 1991; Sigueñas, 1997).

Es por ello que el objetivo propuesto para la ejecución de este trabajo fue evaluar, en distintos clones de boniato, el establecimiento de yemas obtenidas de brotes de tubérculos colocados en frascos con agua y diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento en el medio de cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Genética y Mejoramiento de Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de la Habana. Para ello se emplearon raíces tuberosas de los clones Cemsa 78-354, Inivit B 90-1, Inivit B 93-1, Yabú-8 y Jewel; procedentes de bancos de semillas, las cuales se seleccionaron tomando en cuenta su sanidad y uniformidad en el tamaño. Posteriormente, se colocaron en frascos de cristal con agua en condiciones semicontroladas de laboratorio y se mantuvieron a temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , humedad relativa de 75-80% y luz solar de 4 000-5 000 lx. Se procedió a los veinticinco días al corte de los brotes para la selección del ápice meristemático y de las yemas. La desinfección se realizó con hipoclorito de sodio (1%) durante veinte minutos y los brotes se lavaron tres veces con agua destilada estéril.

Para evaluar la efectividad en el establecimiento del material vegetal, se seleccionó el ápice meristemático y las yemas axilares uno, dos, tres, cuatro y cinco (a partir del ápice) y se sembraron en el medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962), compuesto por las sales MS, tiamina ( $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ), mioinositol ( $100 \text{ mg.l}^{-1}$ ), sacarosa (3%), gelrite ( $2 \text{ g.l}^{-1}$ ) y diferentes combinaciones de ácido giberélico ( $\text{AG}_3$ ) y ácido 3-indol acético (AIA), las cuales fueron:  $\text{AG}_3$  ( $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.05 \text{ mg.l}^{-1}$ ),  $\text{AG}_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.05 \text{ mg.l}^{-1}$ ),  $\text{AG}_3$  ( $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) y  $\text{AG}_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ). El pH fue ajustado a  $5.8 \pm 0.01$  en todos los casos, previo a la adición del agente solidificante. Se utilizó una longitud del explante de 1.0 cm y se sembraron en tubos de ensayo de 24.0 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro, que contenían 10 ml de medio de cultivo y veinticinco tubos por tratamiento. En cada caso se utilizó el promedio de tres repeticiones. El cultivo fue colocado en cámaras asépticas a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , luz artificial (16 h luz y 8 oscuridad) de 3 000-4 000 lx y humedad relativa de 80-90%.

Transcurridas cinco semanas se realizaron, por vitroplanta, las siguientes evaluaciones: número de raíces, longitud de las raíces (cm), número de hojas y tamaño del brote (cm). Se utilizó un diseño completamente al azar y los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza bifactorial, donde los factores fueron el tipo de explante y las concentraciones de los reguladores del crecimiento en el medio de cultivo; al existir interacciones entre los tratamientos y con la finalidad de evidenciar diferencias entre los mismos, se realizó

la prueba de comparación de medias de Duncan para el nivel de significación del 1%, todos contenidos en el paquete estadístico TonyStat.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las concentraciones y combinaciones de reguladores del crecimiento evaluadas, se observaron diferencias cuantitativas y cualitativas en el establecimiento *in vitro* del material vegetal; lo cual indicó que, al utilizar uno u otro tipo de explante y concentraciones de reguladores del crecimiento, difieren en la respuesta en dependencia del clon; es decir, el factor genotipo conjuntamente con el tipo de explante y sustancia empleada son determinantes en el establecimiento y crecimiento *in vitro* del boniato.

Al realizar un análisis visual comparativo y cuyos resultados no se muestran, se pudo observar que, todos los tratamientos presentaron características morfológicas similares en el vigor y color de las plantas, alcanzando una buena velocidad de crecimiento y un buen comportamiento *in vitro*.

Las concentraciones auxínicas empleadas favorecieron la emisión de raíces, siendo estas más abundantes a la concentración más alta ( $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ), en la mayoría de los clones evaluados (Tablas 2 y 5). Además, se obtuvo la inducción de brotes y raíces, simultáneamente, en el medio de cultivo (Tablas 1, 2, 3, 4 y 5). Lo cual pudo estar dado en que, al aumentar la concentración del regulador del crecimiento en el medio de cultivo se favoreció la emisión simultánea de brotes y raíces al ser empleado conjuntamente con el  $\text{AG}_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ).

La obtención de raíces se favoreció en todas las concentraciones y clones estudiados, alcanzando valores hasta de un 100% en algunos casos y esto indicó que, al ser combinado el  $\text{AG}_3$  con la auxina se favoreció la emisión de raíces.

Las condiciones *in vitro* estimulan el desarrollo de las yemas axilares, permitiendo la formación de una planta por cada yema. La eficiencia de este sistema estriba en que el número de plantas obtenidas está determinado por el número de yemas axilares preexistentes en el inóculo. Por otro lado el sistema presenta la ventaja de que los individuos regenerados muestran una gran estabilidad genética (Roca y Mroginski, 1991).

En lo referente al tamaño del brote en el establecimiento de las yemas, fue posible en todas las concentraciones empleadas. Sin embargo, la mayor capacidad se puso de manifiesto cuando se emplearon las combinaciones de  $\text{AG}_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.05 \text{ mg.l}^{-1}$ ) y  $\text{AG}_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) + AIA ( $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) en la mayoría de los clones evaluados, existiendo diferencias significativas (Tablas 1, 2, 3, 4 y 5); lo cual puede estar dado en que las concentraciones de los reguladores del crecimiento empleadas favorecieron el crecimiento vegetativo.

Tabla 1. Evaluación de vitroplantas de boniato en el clon Cemsa 78-354 a las cinco semanas de cultivo.

Variable analizada	Tipo de explante	Medios de cultivo					Duncan (1%)
		MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	
Número de raíces (n)	Apice	3.6 bc	2.8 c	3.6 bc	1.8 d	Desviación	
	Yema 1	6.4 abc	2.6 c	11.0 ab	6.0 abc	Estándar del error:	
	Yema 2	13.0 a	11.0 ab	6.8 abc	13.0 a	3.64	
	Yema 3	5.6 bc	11.8 ab	6.2 abc	14.6 a	Cuadrado medio del error:	
	Yema 4	14.8 a	12.0 ab	11.2 ab	5.4 bc	13.27	
Longitud de las raíces (cm)	Yema 5	2.8 c	12.6 a	16.0 a	10.0 ab	Desviación	
	Apice	6.2 ef	6.3 def	5.4 f	9.1 bcdef	Estándar del error:	
	Yema 1	7.5 cdef	11.0 bc	10.2 bc	10.7 bc	2.05	
	Yema 2	10.1 bcd	12.2 ab	8.7 bcdef	11.9 bc	Cuadrado medio del error:	
	Yema 3	13.1 a	10.9 bc	11.3 ab	13.4 a	4.20	
Número de hojas (n)	Yema 4	9.3 bcde	14.3 a	10.7 bc	12.7 a	Desviación	
	Yema 5	11.1 bc	10.0 bcde	9.5 bcde	12.3 ab	Estándar del error:	
	Apice	5.2 def	4.4 ef	4.2 f	7.0 bcdef	2.32	
	Yema 1	9.8 abc	7.0 bcdef	11.2 abc	9.8 abc	Cuadrado medio del error:	
	Yema 2	9.6 abcd	10.6 abc	8.6 bcde	13.8 a	5.38	
Tamaño del brote (cm)	Yema 3	9.0 bcd	9.2 bcd	9.2 bcd	9.2 bcd	Desviación	
	Yema 4	10.6 abc	12.8 ab	10.2 abc	9.0 bcd	Estándar del error:	
	Yema 5	11.4 abc	9.8 abc	9.2 bcd	9.2 bcd	1.66	
	Apice	2.2 e	2.1 e	2.7 d	2.5 de	Cuadrado medio del error:	
	Yema 1	4.9 cd	2.4 de	8.0 abc	5.9 bc	2.75	
	Yema 2	6.4 bc	6.8 bc	6.4 bc	8.3 ab	Desviación	
	Yema 3	7.2 abc	6.8 bc	6.8 bc	7.9 abc	Estándar del error:	
	Yema 4	6.2 bc	10.0 a	5.9 bc	6.9 bc	1.66	
	Yema 5	7.7 abc	6.5 bc	5.8 bc	6.6 bc	Cuadrado medio del error:	
						2.75	

\* Medias con letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Duncan al 1%.  
Medias seguidas de una misma letra en columnas por variable y medio analizado.

Tabla 2: Evaluación de las vitroplantas en el clon Inivit B 90-1 a las cinco semanas.

Variable analizada	Tipo de explante	Medios de cultivo					Duncan (%)
		MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	
Número de raíces (n)	Apice	2.2 j	1.4 j	1.8 j	2.6 ij	2.6 ij	Desviación
	Yema 1	3.4 hij	6.2 cdefg	3.0 hij	5.4 defgh	5.4 defgh	Estándar del error:
	Yema 2	5.4 defgh	10.0 ab	8.6 abc	10.0 ab	10.0 ab	1.39
	Yema 3	4.8 efghi	3.8 ghij	8.4 bc	7.2 cde	7.2 cde	Cuadrado medio del error:
	Yema 4	4.4 fghi	6.8 cdefg	7.6 bcd	7.0 cdef	7.0 cdef	1.94
Longitud de las raíces (cm)	Yema 5	4.8 efghi	5.6 defgh	11.0 a	7.0 cdef	7.0 cdef	Desviación
	Apice	6.0 g	4.5 h	5.4 gh	4.4 h	4.4 h	Estándar del error:
	Yema 1	9.5 def	7.3 fg	7.5 fg	8.5 ef	8.5 ef	1.41
	Yema 2	12.3 bc	13.2 b	11.3 bcd	12.7 b	12.7 b	Cuadrado medio del error:
	Yema 3	11.9 bcd	11.1 bcd	12.6 b	9.7 cdef	9.7 cdef	2.00
Número de hojas (n)	Yema 4	12.2 bcd	7.5 fg	12.9 b	10.6 bcde	10.6 bcde	Desviación
	Yema 5	12.2 bcd	11.4 bcd	15.7 a	12.6 b	12.6 b	Estándar del error:
	Apice	4.0 ghi	2.8 l	4.6 fghi	3.2 hi	3.2 hi	1.67
	Yema 1	5.4 efghi	6.2 cdefgh	6.6 bcdefg	5.8 defghi	5.8 defghi	Cuadrado medio del error:
	Yema 2	7.8 abcdef	9.2 abc	8.2 abcde	9.6 ab	9.6 ab	2.82
Tamaño del brote (cm)	Yema 3	9.0 abcd	7.8 abcdef	8.0 abcde	10.6 a	10.6 a	Desviación
	Yema 4	6.2 cdefgh	6.2 cdefgh	7.8 abcdef	7.0 bcdefg	7.0 bcdefg	Estándar del error:
	Yema 5	6.0 cdefgh	6.8 bcdefg	9.0 abcd	6.8 bcdefg	6.8 bcdefg	1.02
	Apice	4.8 fg	2.6 h	4.5 g	2.5 h	2.5 h	Cuadrado medio del error:
	Yema 1	5.8 cdefg	5.7 cdefg	6.9 bcd	5.7 cdefg	5.7 cdefg	1.04
Tamaño del brote (cm)	Yema 2	7.8 ab	7.1 bc	7.8 ab	7.1 bc	7.1 bc	Desviación
	Yema 3	9.0 a	6.8 bcde	6.5 bcdefg	6.7 bcdef	6.7 bcdef	Estándar del error:
	Yema 4	6.7 bcdef	5.9 bcdefg	6.2 bcdefg	6.1 bcdefg	6.1 bcdefg	1.02
	Yema 5	4.9 efg	5.0 defg	6.6 bcdefg	5.5 cdefg	5.5 cdefg	Cuadrado medio del error:
	Apice	2.2 j	1.4 j	1.8 j	2.6 ij	2.6 ij	1.04

Tabla 3. Evaluación de vitroplantas de boniatos en el clon Inivit B 93-1 a las cinco semanas de cultivo.

Variable analizada	Tipo de explante	Medios de cultivo					Duncan (1%)
		MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	
Número de raíces (n)	Apice	1.4 l	2.6 kl	2.6 kl	2.6 kl	2.0 kl	Desviación
	Yema 1	2.6 kl	3.8 ijkl	3.8 ijkl	1.6 l	7.4 fghij	Estándar del error: 2.45
	Yema 2	5.0 ghijkl	7.8 efghi	7.8 efghi	16.2 ab	6.4 fghijk	Cuadrado medio del error: 5.99
	Yema 3	4.2 hijkl	8.6 defgh	8.6 defgh	10.4 cdef	12.0 bcde	Desviación
	Yema 4	15.6 ab	9.4 cdefg	9.4 cdefg	17.8 a	10.8 cdef	Estándar del error: 2.42
Longitud de las raíces (cm)	Yema 5	13.4 abc	12.6 bcd	12.6 bcd	15.4 ab	16.4 ab	Cuadrado medio del error: 5.85
	Apice	7.1 def	8.9 cde	8.9 cde	6.4 ef	9.0 bcde	Desviación
	Yema 1	9.7 abcde	10.8 abcde	10.8 abcde	3.6 f	11.9 abc	Estándar del error: 2.42
	Yema 2	12.7 abc	12.5 abc	12.5 abc	14.3 a	12.9 abc	Cuadrado medio del error: 5.85
	Yema 3	10.8 abcde	12.6 abc	12.6 abc	12.0 abc	12.9 abc	Desviación
Número de hojas (n)	Yema 4	11.4 abcd	10.5 abcde	10.5 abcde	12.0 abc	12.6 abc	Estándar del error: 1.54
	Yema 5	10.9 abcde	10.0 abcde	10.0 abcde	10.2 abcde	13.8 ab	Cuadrado medio del error: 2.36
	Apice	3.4 de	6.8 bc	6.8 bc	5.4 bcde	6.0 bcd	Desviación
	Yema 1	5.0 cde	5.6 bcde	5.6 bcde	2.8 e	7.4 abc	Estándar del error: 1.02
	Yema 2	6.4 bcd	6.2 bcd	6.2 bcd	5.6 bcde	7.2 abc	Cuadrado medio del error: 1.05
Tamaño del brote (cm)	Yema 3	5.8 bcd	6.8 bc	6.8 bc	6.4 bcd	8.2 a	Desviación
	Yema 4	6.8 bc	5.4 bcde	5.4 bcde	5.6 bcde	6.2 bcd	Estándar del error: 1.02
	Yema 5	4.4 cde	9.8 a	9.8 a	6.4 bcd	6.4 bcd	Cuadrado medio del error: 1.05
	Apice	2.2 h	3.4 efgh	3.4 efgh	3.4 efgh	3.9 defgh	Desviación
	Yema 1	4.0 defgh	4.4 bcdefg	4.4 bcdefg	2.5 gh	6.1 abc	Estándar del error: 1.02
Tamaño del brote (cm)	Yema 2	5.3 abcdef	2.9 gh	2.9 gh	6.6 a	6.5 a	Cuadrado medio del error: 1.05
	Yema 3	4.9 abcdef	5.4 abcd	5.4 abcd	4.9 abcdef	6.3 ab	Desviación
	Yema 4	5.3 abcd	5.4 abcd	5.4 abcd	4.3 cdefg	6.7 a	Estándar del error: 1.02
	Yema 5	3.2 fgh	6.5 a	6.5 a	5.6 abcd	4.5 bcdefg	Cuadrado medio del error: 1.05

\* Medias con letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Duncan del 1%.  
Medias seguidas de una misma letra en columnas por variable y medio analizado.

Tabla 4: Evaluación de vitroplantas de boniato en el clon Yabú-8 a las cinco semanas de cultivo.

Variable analizada	Tipo de explante	Medios de cultivo					Duncan (%)
		MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	
Número de raíces (n)	Apice	1.4 h	3.0 fgh	3.2 fgh	3.4 efg	3.4 efg	Desviación
	Yema 1	1.8 h	2.0 gh	2.6 gh	5.8 cd	5.8 cd	Estándar del error: 1.18
	Yema 2	7.0 bcd	6.2 bcd	6.8 bcd	7.0 bcd	7.0 bcd	Cuadrado medio del error: 8.2 ab
	Yema 3	8.2 ab	5.6 cd	7.8 abc	8.2 ab	8.2 ab	Cuadrado medio del error: 7.0 bcd
	Yema 4	5.4 de	9.2 a	7.2 abcd	7.0 bcd	7.0 bcd	1.39
Longitud de las raíces (cm)	Yema 5	5.0 def	6.0 bcd	6.0 bcd	5.4 de	5.4 de	Desviación
	Apice	4.9 g	5.8 fg	6.0 fg	5.7 fg	5.7 fg	Estándar del error: 1.71
	Yema 1	6.9 defg	5.8 fg	5.9 fg	9.3 bcde	9.3 bcde	Cuadrado medio del error: 10.1 abcd
	Yema 2	12.2 ab	12.2 ab	12.3 ab	12.3 ab	12.3 ab	2.93
	Yema 3	11.7 abc	9.9 abcd	13.0 a	8.6 cdef	8.6 cdef	Desviación
Número de hojas (n)	Yema 4	12.5 ab	10.0 abcd	8.9 cdef	10.1 abcd	10.1 abcd	Estándar del error: 1.48
	Yema 5	8.3 def	8.8 cdef	6.2 efg	9.0 cdef	9.0 cdef	Cuadrado medio del error: 6.4 efg
	Apice	3.2 j	4.0 ij	4.0 ij	6.4 efg	6.4 efg	Desviación
	Yema 1	6.4 efghi	5.8 fghij	5.6 fghij	5.0 ghij	5.0 ghij	Estándar del error: 1.48
	Yema 2	11.2 ab	9.8 abc	9.4 abcd	8.2 cde	8.2 cde	Cuadrado medio del error: 7.8 cdefg
Tamaño del brote (cm)	Yema 3	8.8 bcde	8.2 cdef	11.6 a	9.8 abc	9.8 abc	Desviación
	Yema 4	9.0 abcde	6.4 efghi	7.4 cdefgh	7.8 cdefg	7.8 cdefg	Estándar del error: 1.10
	Yema 5	7.8 cdefg	4.6 hij	6.8 defghi	5.8 fghij	5.8 fghij	Cuadrado medio del error: 5.1 fgh
	Apice	3.2 h	3.8 gh	4.8 fgh	5.1 fgh	5.1 fgh	Estándar del error: 1.10
	Yema 1	4.8 fgh	3.8 gh	4.9 fgh	5.5 efg	5.5 efg	Cuadrado medio del error: 5.1 fgh
Tamaño del brote (cm)	Yema 2	8.4 a	7.7 abcd	8.1 ab	5.3 efg	5.3 efg	Desviación
	Yema 3	8.4 a	6.8 abcdef	7.4 abcde	6.1 bcdef	6.1 bcdef	Estándar del error: 1.10
	Yema 4	6.9 abcdef	7.9 abc	5.9 cdefg	5.1 fgh	5.1 fgh	Cuadrado medio del error: 1.22
	Yema 5	6.2 bcdef	6.0 cdefg	5.6 defg	5.2 efg	5.2 efg	Desviación
	Apice	1.4 h	3.0 fgh	3.2 fgh	3.4 efg	3.4 efg	Estándar del error: 1.18

\* Medias con letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Duncan del 1%.  
Medias seguidas de una misma letra en columnas por variable y medio analizado.

En trabajos realizados por Cantliffe (1993); Jarret (1993) y Salinas (1994), aplicaron diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento al medio de cultivo con la finalidad de probar su efecto en el crecimiento de brotes de boniato, logrando un buen desarrollo de los mismos.

En la obtención de brotes y raíces se lograron respuestas en los diferentes clones estudiados y en los tratamientos evaluados. Lo cual indica que, existió relación entre los reguladores del crecimiento empleados y el tipo de clon en la respuesta al establecimiento a partir de ápices meristemáticos y yemas. Los resultados de estos ensayos confirmaron los obtenidos en múltiples investigaciones de diferentes especies vegetales, sobre la capacidad de los reguladores del crecimiento para activar los procesos metabólicos y el crecimiento vegetal; lo que abre nuevas perspectivas de utilización en el crecimiento de diferentes clones de boniato.

Las vitroplantas obtenidas mostraron buenas características para ser adaptadas a suelo y proporcionar distintos explantes para posteriores subcultivos (ápices meristemáticos y yemas axilares) y estudios morfogénicos (limbo foliar, internodos, raíces, etc.).

En todos los clones se observó que las yemas axilares brotaron más rápido que los ápices meristemáticos, alcanzando resultados más favorables en las variables evaluadas y además, el crecimiento de las plantas fue más rápido y uniforme (Tablas 1, 2, 3, 4 y 5) y esto puede deberse a que se encuentran mejor preparadas fisiológicamente para su establecimiento *in vitro* y por presentar mayor tamaño que los ápices meristemáticos, son menos afectadas por la acción del agente desinfectante empleado y el estrés que este le ocasiona es menor.

De manera general, se encontraron diferencias significativas en los indicadores evaluados en los distintos clones y las concentraciones de los reguladores del crecimiento empleadas, (Tablas 1, 2, 3, 4, y 5) y no se observaron diferencias en cuanto al inicio del proceso de inducción de brotes entre los distintos explantes y medios de cultivo, pero sí en el crecimiento de los mismos; por lo general estos se observaron a partir de los siete días después del inicio de la brotación.

Las plántulas propagadas por yemas proporcionaron una óptima calidad de explantes. Cabe señalar las diferencias encontradas en los ensayos preliminares entre yemas de distintas posiciones de los entrenudos; en la que se observó que cuando estas eran de la posición apical del tallo, solo brotaban con un tamaño pequeño. Teniendo una gran influencia la acción de los reguladores del crecimiento en la dominancia apical, ya que su concentración aumenta hacia la zona apical del tallo (Dodds y Roberts, 1987).

Los resultados obtenidos presuponen la interacción de factores como la asimilación rápida de los componentes del medio de cultivo y la estabilidad de los mismos. Las diferencias encontradas en el tamaño de los brotes en los distintos clones fue debido, principalmente, a la concentración de  $AG_3$ . Alguacil *et al.* (1996) y Siguéñas (1997), sugirieron el empleo de 10 mg.l<sup>-1</sup> para la micropropagación del boniato.

Es necesario destacar que, con el medio de cultivo compuesto por las sales de Murashige y Skoog (1962), suplementado con  $AG_3$  y AIA, se logró el crecimiento y desarrollo de las yemas sin la necesidad de realizar subcultivos para las diferentes fases; es decir, se logró el establecimiento, ahijamiento y enraizamiento de las yemas en el mismo medio de cultivo, pudiéndose observar que cada una de ellas se llevaron a cabo de manera simultánea a medida que las yemas se convirtieron en plántulas. Esto es característico en la micropropagación del boniato y es un aspecto favorable, ya que se eliminan los subcultivos en las diferentes fases por separado, ahorrando tiempo y otros recursos, así como evitando las posibles contaminaciones que se puedan presentar por la manipulación del material vegetal. Esta característica en el cultivo *in vitro* del boniato, también ha sido referida por otros autores en diversos cultivos, aunque su número es reducido en comparación con los cultivos que requieren de la ejecución de las diferentes fases de la micropropagación en distintos medios de cultivo.

Se obtuvo un alto índice en el número de yemas axilares en las plántulas logradas dado por el número de hojas emitidas, lo cual facilitó posteriormente los subcultivos y se alcanzó un buen vigor en las mismas. Se definieron claramente las mejores concentraciones de los reguladores del crecimiento en el medio de cultivo para el establecimiento de las yemas, lo cual reviste una gran importancia porque, entre otros factores, garantiza la culminación exitosa del proceso desarrollado *in vitro*. Siendo recomendado como un método de propagación clonal en el boniato. Los resultados obtenidos en el trabajo han confirmado lo descrito por otros autores en relación con la capacidad regenerativa de las yemas, las posibilidades de lograr tal empeño y la realidad de emplearlo con éxito en la propagación acelerada a gran escala en este cultivo, lo cual abre nuevas posibilidades en los programas de multiplicación de clones de interés comercial y facilita la aplicación de otras técnicas, como la conservación e intercambio de germoplasma.

Con respecto a la micropropagación, constantemente se incrementa la lista de especies que se pueden multiplicar eficientemente empleando estos métodos. Sin embargo, las técnicas no se han podido aplicar con los mismos resultados en todas las especies vegetales y esto ha estimulado a muchos

investigadores a realizar esfuerzos para elucidar el problema. Sobre la base de las consideraciones anteriores, se estima que aunque el cultivo de tejidos vegetales no resolverá todos los problemas

agrícolas de los próximos años, esta técnica, complementada con otras, será de gran importancia para la solución de crecientes necesidades (Roca y Mroginski, 1991).

Tabla 5: Evaluación de vitropiantas de boniato en el clon Jewel a las cinco semanas de cultivo.

Variable analizada	Tipo de explante	Medios de cultivo					Duncan (1%)
		MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.05 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (5 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	MS (1962) AG <sub>3</sub> (10 mg.l <sup>-1</sup> ) AIA (0.1 mg.l <sup>-1</sup> )	
Número de raíces (n)	Apice	1.6 e	4.0 de	4.4 de	3.2 e	3.2 e	Desviación
	Yema 1	2.2 e	3.0 e	4.6 de	3.6 e	3.6 e	Estándar del error: 1.63
	Yema 2	8.0 bc	9.4 bc	10.6 b	9.2 bc	9.2 bc	Cuadrado medio del error: 2.66
	Yema 3	5.4 cd	8.2 bc	16.2 a	9.4 bc	9.4 bc	Desviación
	Yema 4	6.2 cd	10.8 b	8.4 bc	7.2 cd	7.2 cd	Estándar del error: 2.03
Longitud de las raíces (cm)	Yema 5	7.0 cd	9.0 bc	12.4 b	6.6 cd	6.6 cd	Cuadrado medio del error: 4.14
	Apice	8.4 cde	7.3 de	6.2 e	8.2 cde	8.2 cde	Desviación
	Yema 1	8.6 cde	10.3 abcd	12.8 ab	6.7 de	6.7 de	Estándar del error: 2.03
	Yema 2	9.7 bcde	11.6 abc	12.1 ab	12.2 ab	12.2 ab	Cuadrado medio del error: 4.14
	Yema 3	11.5 abc	13.3 ab	11.0 abc	13.9 a	13.9 a	Desviación
Número de hojas (n)	Yema 4	11.5 abc	10.3 abcd	11.9 ab	11.3 abc	11.3 abc	Estándar del error: 1.44
	Yema 5	8.9 cde	13.2 ab	11.0 abc	9.2 cde	9.2 cde	Cuadrado medio del error: 2.08
	Apice	4.0 g	7.8 abcde	4.4 fg	3.4 g	3.4 g	Desviación
	Yema 1	5.2 fg	8.0 abcde	5.4 efg	4.4 fg	4.4 fg	Estándar del error: 1.44
	Yema 2	10.4 a	9.4 abc	7.0 cdef	10.2 a	10.2 a	Cuadrado medio del error: 0.98
Tamaño del brote (cm)	Yema 3	7.0 cdef	8.8 abc	6.6 cdef	8.6 abcd	8.6 abcd	Desviación
	Yema 4	8.4 abcd	9.0 abc	7.2 bcde	7.4 bcde	7.4 bcde	Estándar del error: 0.98
	Yema 5	5.8 efg	9.8 ab	6.0 defg	7.0 cdef	7.0 cdef	Cuadrado medio del error: 0.97
	Apice	5.1 defgh	5.9 bcdef	2.9 i	4.5 hi	4.5 hi	Desviación
	Yema 1	5.5 cdefgh	5.9 bcdef	4.6 gh	5.0 defgh	5.0 defgh	Estándar del error: 0.98
Tamaño del brote (cm)	Yema 2	5.7 bcdefgh	7.0 abcd	6.1 bcdefgh	7.5 ab	7.5 ab	Cuadrado medio del error: 0.97
	Yema 3	6.4 abcdefgh	7.4 abc	6.8 abcde	8.1 a	8.1 a	Desviación
	Yema 4	6.6 abcdefg	5.3 defgh	6.5 abcdefg	5.5 abcdefg	5.5 abcdefg	Estándar del error: 0.97
	Yema 5	5.4 defgh	6.2 bcdefgh	4.8 fgh	5.1 defgh	5.1 defgh	Cuadrado medio del error: 0.97

\* Medias con letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Duncan del 1%.  
Medias seguidas de una misma letra en columnas por variable y medio analizado.



## CONCLUSIONES

Las yemas de la parte apical, intermedia y basal del brote obtenidas a partir de tubérculos mostraron diferentes respuestas ante la acción de un mismo grupo de reguladores del crecimiento y los mejores resultados se obtuvieron con las yemas de la parte central del brote, las cuales presentaron un mejor comportamiento *in vitro* y una respuesta más homogénea.

Las notables diferencias encontradas, en las variables evaluadas, al llevar a cabo el establecimiento de los distintos clones de boniato, son un indicador de la influencia del genotipo y a partir de estos experimentos se puede seleccionar el medio de cultivo y el tipo de yema, en dependencia de la variable analizada en el establecimiento *in vitro* del cultivo.

Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron el efecto positivo del  $AG_3$  ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) cuando es combinado con el AIA ( $0.05 \text{ mg.l}^{-1}$ ), para el cultivo *in vitro* del boniato.

## REFERENCIAS

- Alguacil, M, Espinosa A, González O y Silva J (1996) Encapsulado de yemas de boniato: Una alternativa para la obtención de semilla de calidad. Programas y Resúmenes X seminario Científico del INCA, pp. 72. Cultivos Tropicales
- Cantliffe, DJ (1993) Advanced Propagation System for Biomass Species: A model system based on Sweet potato. Biomass and Biology 5: 63-69
- Dodds, J y Roberts L (1987) Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge Univ. Press, pp.232. London
- González, S (1998) Actividad biológica de diferentes brasinoesteroides en *Rhaphanus sativus*, L. y *Saccharum officinarum*, L. Programas y Resúmenes XI Seminario Científico INCA. Taller de Productos Bioactivos y la Agricultura. Cultivos Tropicales
- Jarret, R, Salazar S y Fernandez Z (1991) Somatic embryogenesis in Sweet potato. HortScience 19 (3): 397-398
- Jarret, R (1993) Cultivo de Tejidos de Camote. En: W. Roca y L. Mroginsky (Eds.). Cultivo de Tejidos Vegetales en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Cap. 18. Parte B. CIAT, pp. 421-446. Colombia
- Medina, BL (1991) Organogénesis *in vitro* a partir de entrenudos, raíces y hojas de nueve cultivares de Camote (*Ipomoea batatas*, Lam.): Aspectos Hormonales e Histológicos. Tesis para optar por el Título de Biólogo. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de Ciencias y Filosofía, pp. 160. Lima
- Salinas, R (1990) Cultivo *in vitro* de embriones de Camote (*Ipomoea batatas*, Lam.). Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria, pp. 89. Lima
- Salinas, R (1994) Evaluación de la actividad biológica de distintos brasinoesteroides. Turrialba 44: 220-225
- Sigueñas, C (1997) Propagación y Conservación *in vitro* de dos cultivares de Camote (*Ipomoea batatas* Lam.). Tesis para optar por el título de Biólogo. Universidad Nacional Agraria de la Molina, pp. 186. Lima
- Plana, D, Alvarez M, Florido M, Lara R y Nuñez M (2000) Efecto del Biobras 6 en la morfogénesis *in vitro* del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) var. Amalia. Cultivos Tropicales
- Roca, W y Mroginski L (1991) Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Cultivo de Tejidos en la agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Capítulo 6. Parte A. CIAT, pp 127-141. Colombia