



ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN DE PHYSALIS PERUVIANA L. A PARTIR DE YEMAS AXILARES ADULTAS

ESTABLISHMENT OF A PROTOCOL OF PROPAGATION OF PHYSALIS PERUVIANA L. FROM ADULT AXILLARY BUDS

Leidy Yanira Rache Cardenal*
José Constantino Pacheco Maldonado**

Recepción 09/03/2012
Evaluación 26/04/2012
Aprobado 11/06/2012

Resumen

La uchuva tiene importancia ecológica, medicinal e industrial, y posee un alto potencial comercial porque su fruto es apetecido en el mercado nacional e internacional. Dichas características han originado una alta demanda de frutos que no alcanza a ser suplida con la oferta actual. En este trabajo se estableció un protocolo para la propagación de uchuva utilizando MS como medio de cultivo, semillas de frutos maduros y yemas axilares de plantas adultas como explantes primarios. Después de la fase de establecimiento (30 días en MS sin reguladores y 60 días en MS con 0.05mg L^{-1} de AIB más 0.1 mg L^{-1} de BA) se cuantificó 100% de germinación de semillas y yemas viables que reactivaron su actividad meristemática. La tasa de multiplicación de los segmentos nodales procedentes de plántulas cultivadas en MS con 0.05mg L^{-1} de AIB fue de 4.5, y la de explantes nodales procedentes de microtallos desarrollados a partir de yemas axilares cultivadas en MS con 0.05mg L^{-1} de AIB más 0.1mg L^{-1} de BA, fue de 5.1. Durante el enraizamiento se cuantificó 100% de microtallos enraizados en MS sin reguladores de crecimiento. Después del endurecimiento en invernadero, el 95% de las plántulas fue viable y reactivó su crecimiento.

* Ms.C. Biología. Docente - Universidad de Boyacá. e-mail: leidyache@gmail.com

** Dr. Biología. Docente - Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. e-mail: jospach@hotmail.com.

Palabras clave: Uchuva, plantas adultas, semillas, yemas axilares, cultivo in vitro.

Abstract

Cape gooseberry has ecological, medicinal and industrial importance, and possesses a high commercial potential because its fruit is very well-accepted in both national and international market. These characteristics have caused a high demand for fruit, which does not reach to be supplied with the current bid. In this research a protocol for cape gooseberry micro propagation was established, using MS as a culture medium, seeds from ripe fruits and axillary buds from mature plants as primary explants. After the establishment phase (30 days in MS without regulators and 60 days in MS with IBA 0.05mg L⁻¹ plus BA 0.1 mg L⁻¹) 100% of germinated seeds and viable buds that reactivated their meristematic activity were quantified. The multiplication rate of the nodal segments coming from plantlets cultivated in MS supplemented with IBA 0.05mg L⁻¹, was 4.5, and the multiplication rate of the nodal explants coming from developed shoots from axillary buds cultivated in MS supplemented with IBA 0.05mg L⁻¹, plus BA 0.1 mg L⁻¹ was 5.1. During rooting phase was quantified 100% of micro shoots rooted in MS without growth regulators. After hardening in greenhouse, 95% of seedlings was viable and reactivated their growth.

Keywords: Cape gooseberry, mature plants, seeds, axillary buds, in vitro culture.

Introducción

La uchuva (*Physalis peruviana* L.) es una Solanácea [1] de gran importancia ecológica. Por su crecimiento robusto y expansivo se utiliza como planta de cobertura para protección de terrenos contra la erosión [2]. Posee diversos usos agroindustriales [3, 4], también medicinales, gracias a las sustancias antioxidantes y anticancerígenas que contiene [5], y un gran potencial para consumo como fruta fresca. Sus frutos son fuente de provitamina A, C, algunas del complejo B, proteínas, carbohidratos [6], hierro y fósforo [7]. Con respecto al desarrollo de procesos biotecnológicos en esta especie, se han reportado estudios sobre inducción de procesos organogénicos [8, 9], embriogénesis



Establecimiento de un Protocolo de Propagación
de *Physalis Peruviana* L.
a partir de Yemas Axilares Adultas

y multiplicación [10, 5], germinación de semillas [11]; además, algunos trabajos relacionados con aplicación de radiación gamma [11 -13] y estudios citogenéticos [14 - 16].

En Colombia, la uchuva presenta una gran demanda y se comercializa en mercados nacionales e internacionales; es muy apetecida por su sabor y características medicinales, aunque los estudios dedicados a la propagación de esta fruta son poco conocidos [17, 18]. Por otra parte, en los cultivos se observa variabilidad fenotípica pues la propagación se realiza principalmente por semilla [17]. Según Santana y Angarita [9], debido a que *P. peruviana* es una planta alógama, muestra gran variabilidad fenotípica en la población. Esta característica no es deseada, por tanto, lo ideal es obtener variedades comerciales de un hábito particular de crecimiento, calidad uniforme y alta productividad [17].

Una alternativa viable para obtener materiales homogéneos de cultivares con características particulares como las mencionadas anteriormente, es la propagación asexual de uchuva mediante esquejes [18], no obstante según Miranda [19] y López y otros [17], estas plántulas y las provenientes de cultivos *in vitro* presentan inconvenientes con la emisión de raíces adventicias, lo cual influye en el anclaje de las plantas en el sitio de cultivo definitivo. Se ha encontrado que la capacidad de enraizamiento depende de las características genéticas del material por propagar, edad del cultivo, suplemento exógeno de reguladores, variación de hormonas exógenas, efectos morfogenéticos, cofactores físicos, químicos y nutricionales [17].

Una segunda alternativa para obtener material homogéneo de cultivares con características deseables en la producción es la micropropagación, ya que esta técnica facilita la clonación de individuos adultos seleccionados [20, 9].

Con el fin de obtener materiales vegetativos comerciales de alta uniformidad y productividad, en esta investigación se pretendió desarrollar un protocolo de micropropagación, utilizando como explantes primarios yemas axilares tomadas de plantas adultas con características deseables, seleccionadas en un huerto comercial. El medio de cultivo, los reguladores de crecimiento y la concentración de reguladores utilizados para propagar estos explantes, se eligieron teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los ensayos en los que

se cultivaron yemas juveniles de plántulas procedentes de semilla sexual. Los tratamientos en los que se cultivaron yemas axilares tomadas de plantas adultas fueron los que produjeron mayor número de entrenudos y menor longitud del microtallo o de la plántula desarrollada.

Materiales y métodos

Este trabajo se efectuó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales-**BIOPLASMA**- de la Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, (Tunja). A fin de facilitar y acelerar el desarrollo del protocolo de micropropagación de plantas adultas, los ensayos iniciales en cada una de las etapas del protocolo se hicieron utilizando yemas juveniles de plántulas procedentes de semilla sexual, porque a partir de estas se obtuvo de manera eficiente y rápida una proliferación elevada de microtallos necesarios para el establecimiento de los ensayos. Las observaciones realizadas y los resultados obtenidos sirvieron de base para los ensayos con yemas adultas.

Etapa 0. Selección de plantas madre

Las plantas adultas se localizaron en el municipio de Arcabuco, Boyacá, ubicado a 5°42' y 20" de latitud norte y a 0°30' y 35" de longitud en relación al meridiano de Bogotá y 73°26' del oeste de Greenwich, a 2,739 m s.n.m. y temperatura media de 15°C. Se seleccionaron plantas que presentaron alta producción y frutos de buen tamaño. De estas plantas se colectaron frutos maduros y estacas de 5-8 cm de longitud, al menos con dos yemas axilares cada uno, las cuales se mantuvieron húmedas durante su traslado al laboratorio.

Etapa I. Establecimiento in vitro de cultivos

En todas las etapas se utilizó medio MS (Murashige y Skoog), [21]. El pH de todos los medios de cultivo se ajustó a 5.6 con KOH y/o HCl (0.5 – 1.0 N) y los medios se esterilizaron en autoclave a 15 psi y 121°C durante 20 minutos. Los cultivos se mantuvieron en cuarto de incubación a temperatura de 24 ± 1°C con iluminación continua (70-80 $\mu\text{mol.m}^2/\text{s}$), suministrada por lámparas fluorescentes SILVANA, luz día de 75 W.



Establecimiento de un Protocolo de Propagación
de *Physalis Peruviana* L.
a partir de Yemas Axilares Adultas

A partir de semilla. Los frutos maduros se enjuagaron con agua más Tween 20 (0.1 ml/100ml). La pulpa de los frutos se colectó en un tamiz y las semillas se extrajeron con ayuda de una corriente de agua. Las semillas obtenidas se embebieron en agua durante doce horas y, posteriormente, se sometieron al siguiente proceso de asepsia superficial: un enjuague con agua destilada más Tween 20 (0.1 ml/100ml) (v/v) durante cinco minutos en agitación constante; inmersión en etanol al 70% durante quince segundos; inmersión en hipoclorito de sodio (NaOCl, 0.058% v/v) durante quince minutos y, finalmente, tres enjuagues, de dos minutos cada uno, con agua destilada estéril. Las semillas asépticas se cultivaron durante veinte días en frascos de vidrio de 200 ml., con alícuotas de 15 ml. de medio sin reguladores de crecimiento, cinco semillas por frasco.

A partir de yemas axilares adultas. Las estacas de 5–8cm. de longitud con yemas vegetativas cerradas, se dividieron en segmentos nodales y para la desinfección superficial se aplicó el siguiente procedimiento: un enjuague con agua destilada más Tween 20 (0.1 ml./100 ml.) (v/v) durante cinco minutos en agitación constante; inmersión en etanol al 70 % durante 30 segundos; inmersión en NaOCl (0.066% v/v) durante quince o treinta minutos y, finalmente, tres enjuagues consecutivos con agua destilada estéril. Posteriormente, en cámara de flujo laminar, de las yemas de cada segmento nodal se eliminaron las hojas en desarrollo y se escindió el meristemo acompañado de dos primordios foliares. Los meristemos se cultivaron durante 90 días en frascos de vidrio de 7 ml. que contenían alícuotas de 3 ml. de medio suplementado con 0.2mg·L⁻¹ de BA (N⁶ – Benciladenina) y 0.05 mg·L⁻¹ de AIB (Ácido 3-indolbutírico), un meristemo por frasco. En total se cultivaron treinta meristemos y el ensayo se repitió dos veces consecutivas.

Durante esta etapa se evaluó la efectividad de los procesos de asepsia superficial, el porcentaje de germinación de semillas y la reactivación in vitro de la actividad meristemática.

Etapa 2. Propagación

A partir de plántulas. Después de treinta días de cultivo, a las plántulas desarrolladas a partir de semillas se les eliminó la raíz, se fragmentaron en segmentos nodales, y se cultivaron en frascos de vidrio de 250ml., con

alícuotas de 15ml. de medio con diferentes concentraciones de reguladores (Tabla 1). Las concentraciones y los reguladores de crecimiento se eligieron de acuerdo con la información registrada por Chaves y otros [5] y Díaz y otros [16]. En cada tratamiento se cultivaron 25 segmentos nodales, cinco explantes por frasco. Los cultivos se mantuvieron en cuarto de incubación y se efectuaron dos ciclos de proliferación, de treinta días cada uno.

Tabla 1. Reguladores de crecimiento adicionados al medio de cultivo ensayado para proliferación de microtallos de uchuva, a través de segmentos nodales, procedentes de plántulas obtenidas de semillas germinadas.

REGULADORES DE CRECIMIENTO	CONCENTRACIÓN (mg·L ⁻¹)
BA	0.2
BA	0.1
AIB	0.1
AIB	0.05
BA + AIB	0.1 + 0.05

A partir de yemas axilares adultas. De manera semejante a las plántulas, los microtallos desarrollados a partir de meristemas se dividieron en segmentos nodales y se cultivaron en medio con 0.1mg L⁻¹ de BA más 0.05mg L⁻¹ de AIB, tratamiento del ensayo anterior en el cual se obtuvieron entrenudos más cortos con mayor cantidad de yemas neoformadas. El primer ciclo de proliferación se inició con treinta segmentos nodales y los microtallos obtenidos se multiplicaron durante tres ciclos consecutivos, (treinta días cada ciclo). En esta etapa, al final de cada ciclo se evaluó: la longitud de microtallos desarrollados, número de yemas neoformadas y el efecto de la concentración de los reguladores sobre la tasa de multiplicación. La tasa de multiplicación se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de multiplicación} = \frac{\text{No. ápices} + \text{No. segmentos nodales}}{\text{No. segmentos nodales iniciales}}$$

Etapa 3. Enraizamiento

Microtallos de 3 a 5 cm. de longitud (procedentes de cultivos establecidos a partir de semilla y de yemas axilares adultas) se cultivaron durante veinte



Establecimiento de un Protocolo de Propagación
de *Physalis Peruviana* L.
a partir de Yemas Axilares Adultas

días en medio con 0.05; 0.1 y 2.5mg L⁻¹ de AIB y sin reguladores. En cada tratamiento se cultivaron treinta microtallos y cada tratamiento se repitió dos veces.

Al final de esta etapa se cuantificó el porcentaje de microtallos enraizados en cada tratamiento.

Etapa 4. Endurecimiento

Las plántulas obtenidas in vitro se removieron de los frascos, las raíces se enjuagaron con agua corriente y se transfirieron a un sustrato compuesto de tierra, arena y cascarilla, en proporción 3:1:2, y se mantuvieron en invernadero (75-85% de humedad relativa, temperatura media diurna 18°C y nocturna 12°C) con riego por nebulización doce segundos cada seis horas durante dos semanas; posteriormente, durante dos a tres semanas, se redujo gradualmente el riego (seis segundos cada 24 horas). El tipo de sustrato y las condiciones de endurecimiento se eligieron de acuerdo con ensayos previos realizados por el grupo de investigación, en los cuales se cuantificó un 92% de plántulas viables que reactivaron su crecimiento. En esta etapa se cuantificó el número de plántulas viables que reactivaron su crecimiento y desarrollo después de cinco semanas de aclimatación.

Análisis estadístico

El diseño fue totalmente aleatorizado, se hizo análisis de varianza (Anova) unifactorial, con un nivel de confiabilidad del 95%. Para los factores que resultaron estadísticamente significativos se realizó la prueba Tukey de Diferencia Honestamente Significativa (DHS). Los datos fueron procesados con el paquete estadístico StatGraphic versión 4.0.

Resultados y discusión

Etapa 1. Establecimiento in vitro de cultivos

La aplicación de un proceso de asepsia superficial adecuado es crítico para mantener la viabilidad y facilitar la reactivación del crecimiento y desarrollo

del explante. Mroginski y Roca, [22] indican que evitar la contaminación con microorganismos es un aspecto básico que se debe tener en cuenta para el éxito, tanto en el establecimiento de los cultivos, como en su posterior incubación y manipulación. Así mismo, Chaves y otros [5] establecen que la utilización de diferentes agentes germicidas es fundamental para reducir la contaminación de explantes durante el establecimiento *in vitro*.

A partir de semilla sexual. El proceso de asepsia superficial aplicado permitió obtener 100% de semillas asépticas. El medio de cultivo favoreció la viabilidad de las semillas y el desarrollo de plántulas, cuantificándose 100% de semillas germinadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Putalun y otros [23], y Contreras y Almeida [24], en medio libre de reguladores en estudios de germinación de semillas de *Physalis minima* L. y *Physalis ixocarpa* L., respectivamente. Sin embargo, contrastan con los resultados de Rodríguez [15], quien reporta altos porcentajes de germinación (80% a 99%, dependiendo del ecotipo) cultivando semillas en MS con $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIA más $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIB, y con Torres y otros [10], quienes utilizaron MS con $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIA, para inducir altos porcentajes de germinación. Los altos porcentajes de germinación que presentan las semillas de esta especie indican, según Rodríguez [15], una alta eficiencia biológica de la especie, una buena polinización y ausencia de baja fertilidad por hibridación o introgresión genética y, según Chaves y otros [5], un alto poder germinativo de la especie.

Durante el periodo de germinación se observó en las semillas de uchuva emergencia de radícula después de catorce días de cultivo y desarrollo de plántulas con tres a cuatro entrenudos después de 25 a 30 días de cultivo en medio MS sin reguladores de crecimiento; datos similares fueron registrados por Rodríguez [15], quien observó inicio del proceso de germinación después de ocho días de cultivo, aunque en medio MS con AIA y AIB. Esto indica que el tiempo y el porcentaje de germinación de las semillas de uchuva están relacionados con la presencia de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo, evidenciándose un efecto positivo del AIA y AIB en la inducción e inicio de la germinación, pero un efecto negativo en el porcentaje de germinación. Sin embargo, se debe tener en cuenta, según Matilla [25], que las características de la semilla, como el tamaño, el contenido de los sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal y toma de CO_2 , entre otros, juegan un papel importante en la duración de las fases de germinación de las semillas.



A partir de yemas axilares adultas. Cuando los explantes primarios proceden de plantas adultas, el establecimiento de cultivos y la proliferación in vitro de microtallos son etapas difíciles de realizar, debido principalmente al alto grado de contaminación exógena y endógena que presentan los explantes [26] y la escasa reactividad in vitro de los tejidos tomados de plantas adultas de campo [27]. En este trabajo, para desinfectar los segmentos nodales tomados de plantas adultas de campo, la inmersión en NaOCl al 0.066% (v/v) durante treinta minutos fue más efectiva (73% de explantes asépticos) que la misma inmersión durante quince minutos (37% de explantes asépticos). En los cultivos se observó que la reactivación del crecimiento de los explantes asépticos es un proceso lento que requiere entre sesenta y noventa días de cultivo, con subcultivos a medio fresco cada treinta días (Figuras IA y B).

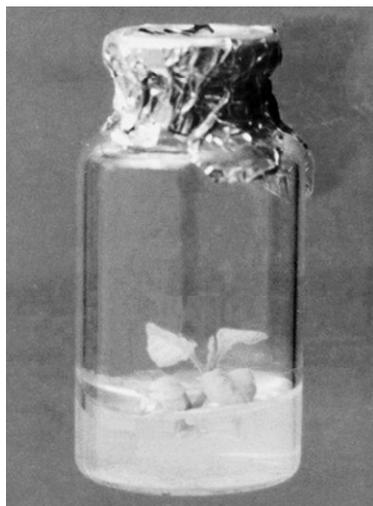
Etapa 2. Propagación

Procedentes de plántulas desarrolladas de semillas germinadas. En los cultivos de segmentos nodales procedentes de plántulas desarrolladas de semillas germinadas (Figura IC), los valores medios más elevados de longitud de microtallos desarrollados, 8.6; 8.4 y 8.2 cm., así como de yemas neoformadas, 4.3, 4.5 y 3.9, se cuantificaron en segmentos nodales cultivados en MS con 0.1, o con 0.05 mg L⁻¹ de AIB y en MS sin reguladores de crecimiento, respectivamente (Tabla 2, Figura ID). Estos resultados contrastan con los obtenidos por Torres y otros [10], quienes cuantificaron un mayor número de yemas axilares desarrolladas utilizando MS suplementado con 5mg L⁻¹ de BA y con los obtenidos por Chaves y otros [5] utilizando MS con 0.3mg L⁻¹ de BA.

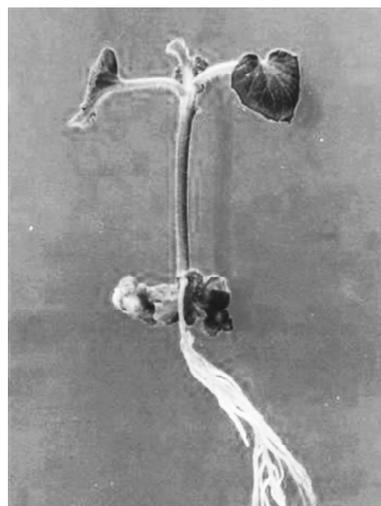
Respecto al desarrollo de yemas apicales y axilares, en este trabajo se observó que las yemas apicales se desarrollan en un periodo de tiempo más corto que las yemas axilares. En MS suplementado con 0.1mg L⁻¹ de BA más 0.05mg L⁻¹ de AIB (T5, Tabla 2), la tasa de multiplicación fue 3.7 con longitud media de microtallos de 2.7cm, observándose que en presencia de estos reguladores cada microtallo produjo mayor cantidad de yemas neoformadas debido a que los entrenudos fueron más cortos. Datos similares, mayor número de yemas en menor longitud de los microtallos, fueron reportados por Chaves y otros [5], quienes verificaron que para *Physalis peruviana* concentraciones elevadas de BA aumentan la tasa de proliferación y promueven el acortamiento de los entrenudos, en MS con 0.3mg L⁻¹ de BA obtuvieron 7.69 yemas, en brotes de 1.73

cm de longitud; mientras que en MS sin reguladores de crecimiento obtuvieron 5.42 yemas, en brotes de 6.06cm de longitud. Estas observaciones confirman lo reportado por Chaves y otros [5], en cuanto a que altas concentraciones de citoquininas, en este caso el BA, inhiben la elongación de los brotes.

A.



B.



C.



D.





Establecimiento de un Protocolo de Propagación
de *Physalis Peruviana* L.
a partir de Yemas Axilares Adultas

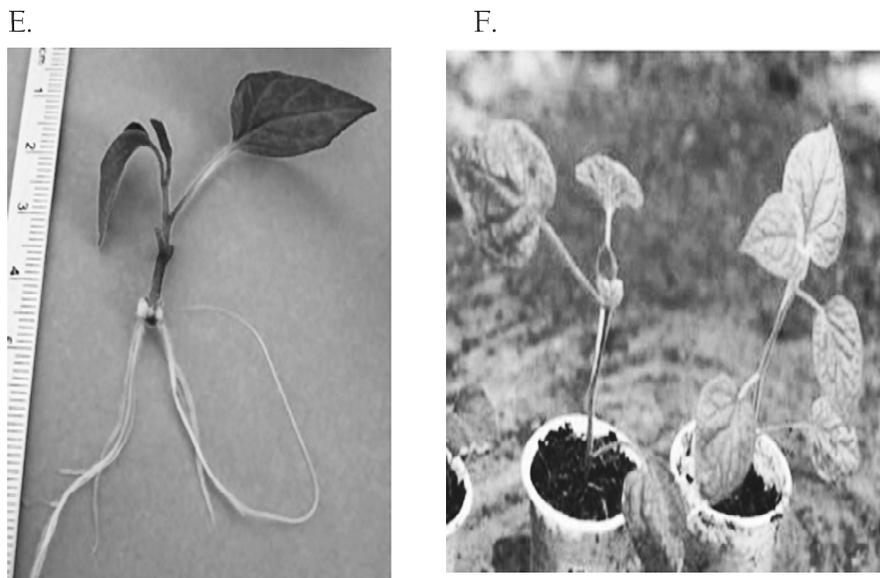


Figura 1. Regeneración de plantas de uchuva por medio de segmentos nodales. A. Microtallo de origen meristemático. B. Microtallo después de sesenta días de cultivo. C. Segmentos nodales. D. Microtallos en proliferación. E. Microtallo enraizado. F. Plántulas aclimatadas.

El análisis de varianza realizado para los datos de yemas neoformadas y longitud de microtallos desarrollados con respecto al regulador utilizado en el medio de cultivo, mostró diferencias estadísticamente significativas. La prueba de rango múltiple para la variable yemas neoformadas, corroboró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, y mostró que al cultivar segmentos nodales en medio suplementado con 0.05 mg L^{-1} de AIB (T4) y 0.1 mg L^{-1} de AIB (T3, Tabla 2), se obtiene la mayor cantidad de yemas neoformadas. Además, para la variable longitud de microtallos desarrollados, demostró que el tratamiento T3 (0.1 mg L^{-1} de AIB) y el T6 (sin reguladores), son los que más facilitan el crecimiento y desarrollo de los microtallos. Rache y Pacheco [27] indicaron que una apropiada combinación de auxina con citoquinina favorece una adecuada elongación y un aumento del número de brotes desarrollados en *E. muiska*; a su vez, Sotolongo y otros [28] sugieren la utilización de auxinas con el fin de superar y reducir los efectos residuales de las citoquininas favoreciendo la elongación de los brotes.

Tto	Reguladores de crecimiento	Concentración (mg·L ⁻¹)	Long. \bar{X} cm microtallos	No.	Yemas axilares neoformadas \bar{X}
T1	BA	0.2	2.4 ± 0.5a	58	2.4 ± 1.3 ^a
T2	BA	0.1	2.7 ± 1.7a	70	2.9 ± 1.3ab
T3	AIB	0.1	8.6 ± 0.7b	103	4.3 ± 0.8c
T4	AIB	0.05	8.4 ± 2.0b	109	4.5 ± 1.2c
T5	BA + AIB	0.1 + 0.05	2.7 ± 1.4a	88	3.7 ± 1.0bc
T6	S.R.	S.R.	8.2 ± 2.1b	94	3.9 ± 1.1c

Tabla 2. Efecto de BA y AIB sobre la proliferación in vitro de uchuva a través de segmentos nodales procedentes de microtallos desarrollados a partir de plántulas obtenidas de semillas germinadas.

Tto: tratamiento; S.R.: sin reguladores. Promedios con una misma letra no difieren estadísticamente, según prueba Tukey (P=0.05).

Procedentes de yemas axilares adultas. Para establecer y multiplicar los segmentos nodales provenientes de meristemos, se utilizó MS con 0.1 mg·L⁻¹ de BA más 0.05 mg L⁻¹ de AIB (T5), debido a que en este tratamiento los microtallos presentaron entrenudos más cortos con mayor cantidad de yemas neoformadas, características útiles para establecer ciclos de micropropagación.

La tasa de multiplicación en tres ciclos de propagación de segmentos nodales provenientes de cultivo de meristemos osciló entre 4.7 y 5.1 (Figura 2), observándose un aumento progresivo de la tasa a medida que transcurrieron los ciclos de proliferación.



Establecimiento de un Protocolo de Propagación
de *Physalis Peruviana* L.
a partir de Yemas Axilares Adultas

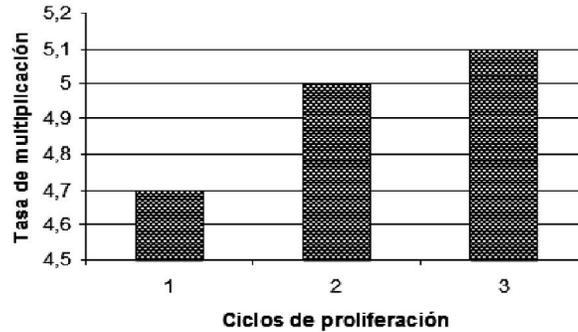


Figura 2. Tasa de multiplicación de microtallos provenientes de meristemas tomados de yemas axilares de plantas adultas. Datos obtenidos durante tres ciclos consecutivos de proliferación.

Etapa 3. Enraizamiento

En los cultivos de microtallos en MS sin reguladores de crecimiento y en MS con las concentraciones más bajas de AIB (0.05 y 0.1 mg L^{-1}), se cuantificó 100% de enraizamiento; mientras que al aumentar la concentración de AIB a 2.5 mg L^{-1} , el porcentaje de microtallos enraizados disminuyó a 82% (tabla 3, Figura 1E). Resultados similares fueron obtenidos por Contreras y Almeida [24] en ensayos de enraizamiento de microtallos de *Physalis ixocarpa* L. en medio libre de reguladores. Estos resultados indican que es posible suprimir el uso de auxinas para inducir rizogénesis en *Physalis peruviana*. Probablemente el haber utilizado AIB en el medio de cultivo durante los tres ciclos de proliferación, favoreció el enraizamiento de los microtallos en MS sin reguladores de crecimiento.

REGULADORES DE CRECIMIENTO	CONCENTRACIÓN ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	ENRAIZAMIENTO (%)
AIB	0.05	100
	0.1	100
	2.5	82
CONTROL	-	100

Tabla 3. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de microtallos de uchuva

Etapa 4. Endurecimiento

En las condiciones ensayadas, se cuantificó 95% de plántulas aclimatadas que reactivaron su crecimiento después de 35 días; por tanto, es evidente que el sustrato y las demás condiciones ensayadas favorecieron el desarrollo del sistema radicular de las plántulas regeneradas *in vitro* así como su endurecimiento (Figura 1F). López y otros [17] utilizaron sustratos compuestos por arena, arena: suelo: cascarilla de arroz, y demostraron que fueron los mejores sustratos para enraizamiento de esquejes de uchuva debido a que los suelos con texturas franco-arenosas permiten el óptimo desarrollo de este cultivo y facilitan la velocidad de crecimiento y la expansión de las raíces. Por otra parte, Díaz y otros [16] utilizaron sustrato compuesto de arena y cascarilla de arroz en proporciones 2:1. Respectivamente, y obtuvieron 92% de plántulas viables que sobrevivieron a la aclimatación.

Conclusiones

Se estableció un protocolo de micropropagación de *Physalis peruviana* L. a partir de yemas axilares tomadas de plantas adultas, que permite la producción masiva de plántulas con características deseables en la producción.

El protocolo de micropropagación de *Physalis peruviana* L. comprende: establecimiento de cultivos en MS sin reguladores de crecimiento durante treinta días y subcultivo en MS con 0.05 mg L⁻¹ de AIB más 0.1 mg L⁻¹ de BA, durante sesenta días; multiplicación a partir de segmentos nodales cultivados en MS con 0.05 mg L⁻¹ de AIB más 0.1 mg L⁻¹ de BA; enraizamiento de microtallos en MS sin reguladores de crecimiento y aclimatación de plántulas en condiciones controladas utilizando como sustrato tierra, arena y cascarilla de arroz en proporción 3:1:2.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen a la Dirección de Investigaciones — DIN— de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por el apoyo financiero, y a los integrantes del Grupo de Investigación BIOPLASMA-UPTC, por su continua colaboración.



Referencias

- [1] M. García, Uchuva, cosecha y postcosecha, Corpoica, Litopapeles Ochoa Ltda. Mosquera, Colombia, 2003.
- [2] G. Fischer, "Crecimiento y desarrollo", en Producción, poscosecha y explotación de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.), V. Flórez, G. Fischer & A. Sora, Ed. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia: Bogotá, 2000, pp. 9-25.
- [3] C. Zárate & R. Polanía, "Análisis fitoquímico de *Physalis peruviana*". Trabajo de grado, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1974.
- [4] S. Ahmad & A. Malik, "Withanolides from *Physalis peruviana* in phytochemistry", Oxford International Centre of Chemistry Science, Research Institute of Chemistry, University Karachi-Pakistan, vol. 50, no. 4, pp. 647-651, 1999.
- [5] A. Chaves, M. Schuch & A. Erig, "Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L.", *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, vol. 29, No. 6, pp. 1281 – 1287, 2005.
- [6] A. Sandhu, S. Sing, P. Minhas & G. Grewal, "Rhizogenesis of shoot cuttings of raspberry (*Physalis peruviana* L.)", *J. Hort.*, vol. 46, no. 3, pp. 376-378, 1989.
- [7] G. Fisher & P. Almanza. "Nuevas tecnologías en el cultivo de la uchuva *Physalis peruviana* L.", *Rev. Agrod*, vol. 4, no. 1-2, pp. 294, 1993.
- [8] M. Zenktele, "In vitro formation of plants from leaves of several species of the Solanaceae family", *Biochem Physiol*. pp. 509-512, 1972.
- [9] G. Santana & A. Angarita, "Regeneración adventicia de somaclones de Uchuva (*Physalis peruviana*)", *Agron. Colomb*, vol. 14, no. 1, pp. 59-65, 1997.
- [10] O. Torres, M. Perea, A. López, A. Salamanca & J. Mikan, "The use of *Physalis peruviana* tissue culture for breeding and selection", In *Solanaceae III: Taxonomy, chemistry, evolution*, Hawkes, Laster, Need & Estrada, ed., Londres, 1991.
- [11] R. Raghava & Y. Murty, "Effect of growth regulators on seed germination and seedling growth of *Physalis peruviana* L. Comp.", *Physiol. Ecol*, vol. 12, no. 1, pp. 41-48, 1987.
- [12] R. Raghava & Y. Murty, "Effects of growth substances and gamma rays on stomata and epidermal cell of *Physalis* L.", *Geobios*, vol. 16, pp. 216-264, 1988.
- [13] R. Raghava & N. Raghava, "Modification of seedling growth of husk tomato by seed-applied plant growth regulators and gamma rays", *Geobios*, vol. 20, pp. 21-26, 1993.
- [14] W. Wenzel, "A cytological study of colchiploid cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.)", *Agroplanta*, vol. 5, pp. 79-84, 1973.

- [15] N. Rodríguez. Estudio citogenético en *Physalis peruviana* L.: “Uchuva” (*Solanaceae*). Trabajo de grado, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Bogotá, 2004.
- [16] D. Díaz, D. González, L. Rache & J. Pacheco; “Efecto citogenético de la colchicina sobre yemas vegetativas de *Physalis peruviana* L.”, *Prospec. Cient.*, nº 4, pp. 27-40, 2008.
- [17] F. López, N. Guío, G. Fischer & D. Mirando, “Propagación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos”, *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, vol. 61, no. 1, pp. 4347-4357, 2008.
- [18] N. Moreno, J. Álvarez, H. Balaguera & G. Fischer, “Propagación asexual de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en diferentes sustratos y a distintos niveles de auxina”, *Agron. Colomb*, vol. 27, no. 3, pp. 341-348, 2009.
- [19] D. Miranda, “Criterios para el establecimiento, los sistemas de cultivo, el tutorado y la poda de la uchuva”, en *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia*, G. Fischer, D. Miranda, W. Piedrahita & J. Romero, Ed. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia: Bogotá, 2005, pp. 29-54.
- [20] J. Bernal, *La Uchuva (Physalis peruviana L.), historia, taxonomía y biología*. Memorias Primer Curso Nacional de Uchuva, Tunja, 1986.
- [21] T. Murashige & F. Skoog, “A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture”, *Physiol. Plant*, vol. 15, pp. 473-479, 1962.
- [22] L. Mroginski & W. Roca, “Capítulo 2: Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro”, en *Cultivo de tejidos en la agricultura*, W. Roca & L. Mroginski, Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia, 1991, pp. 969.
- [23] W. Putalun, P. Prasarnsiwamai, H. Tanaka & Y. Shoyama, “Solasodine glycoside production by hairy root cultures of *Physalis minima* Linn”, *Biotechnol Lett*, vol. 26, pp. 545-548, 2004.
- [24] I. Contreras & J. Almeida, “Micropropagación del tomatillo (*Physalis ixocarpa* L.)”, *Rev. Fac. Farma.*, vol. 45, no. 1, pp. 61-64, 2003.
- [25] A. Matilla, “Desarrollo y germinación de las semillas”, en *Fundamentos de fisiología vegetal*, J. Azcón-Bieto & M. Talón. Ed. McGraw-Hill Interamericana: Madrid, 2008, pp. 537-558.
- [26] B. Reed & E. Abdelnour, “The use of zeatin to initiate in vitro cultures of *Vaccinium* species and cultivars”, *Hort. Sci.*, vol. 26, pp. 1320-1322, 1991.
- [27] L. Rache & J. Pacheco, “Micropropagación de *Espeletopsis muiska* (Cuatrecasas), frailejón del Parque Natural La Ranchería-Boyacá, Colombia”, *Agron. Colomb*, vol. 27, no. 3, pp. 349-358, 2009.
- [28] S. Sotolongo, M. García, L. Junco, G. Geada & E. García, “Micropropagación de *Psidium salutare* (Myrtaceae)”, *Rev. Jard. Bot. Nac.*, vol. 24, no. 1-2, pp. 245-250, 2003.