

## BIOTÉCNICAS APLICADAS A *Calibrachoa variabilis*

### BIOTECHNICS APPLIED TO *Calibrachoa variabilis*

Kato, A. E., Mori, M., Dacunto, L., Acosta, C. y Hagiwara, J. C.

Instituto de Floricultura-INTA De los Reseros y Las Cabañas s/n°. Castelar (1712) Pcia de Buenos Aires. Argentina. E-mail: akato@castelar.inta.gov.ar

#### INTRODUCCIÓN

El género *Calibrachoa* La Llave & Lexarsa (Solanacea Juss.) por sus similitudes morfológicas, está muy relacionado con el género *Petunia Jussieu*, nativo de América del sur y de gran valor ornamental. Existen 11 especies silvestres originarias del noreste Argentino, de abundante floración en primavera-verano. Debido a que todas las especies comercializadas del género *Calibrachoa* son multiplicadas en forma agámica, tienen problemas de enfermedades virósicas, por lo cual es conveniente aplicar en las prácticas de propagación, la técnica de cultivo de meristemas, que ha permitido obtener plantas libres de virus en muchas especies, tales como crisantemo, begonia, jacinto, liliun, entre otras. En el Instituto de Floricultura se está trabajando en el mejoramiento del género, una de las herramientas aplicadas, es la poliploidización *in vitro*, debido a que la mayor parte de las especies son auto-incompatibles (Tsukamoto, 2002) y a la existencia de antecedentes que indican la posibilidad de superar la misma, aumentando el nivel de ploidía (Blomerus, 2002). El objetivo del presente trabajo fue obtener plantas autopoliploides de *C. variabilis*, a partir de individuos de sanidad controlada.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

**Cultivo de Meristema:** se emplearon como explanto meristemas apicales y laterales extraídos de plantas madre cultivadas en invernáculo. Se utilizó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) sin reguladores de crecimiento, como tratamiento control (TI) y complementado con auxina (ácido naftalén acético -ANA-) y cotocininas (6-bencil aminopurina -BA- o Kinetina -KIN-), conformaron 15 tratamientos en diferentes combinaciones (Cuadro 1). Los tallos que alcanzaron 1 cm de altura sin la emisión de raíces, en cinco semanas de cultivo, fue-

ron subcultivados en medio MS sin hormonas. Transcurridas siete semanas desde el inicio, las plantas obtenidas fueron transplantadas a macetas, para ser rusticadas. Los parámetros de evaluación fueron, altura de tallos, número de raíces (índice 1: Raíz: 1=0-5; 2 = 5-10; 3 = >10 raíces) y presencia de callo. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado y los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey HDS ( $p < 0,05$ ).

**Poliploidización:** fueron empleados como explanto para la inducción de autopoliploides, yemas adventicias, originadas en segmentos de hoja cultivadas *in vitro* durante 21 días, en MS con BA 0.1 mg L<sup>-1</sup>. Los segmentos foliares con las yemas adventicias, fueron sumergidas en solución de 1 % DMSO y diferentes concentraciones de colchicina (0, 0.01, 0.05 y 0.10 %), durante dos tiempos de exposición, 24 y 48 horas. Los explantos fueron cultivados 4 semanas en MS sin reguladores de crecimiento y la identificación de poliploides se realizó con citómetro de flujo (PA Partec).

#### RESULTADOS

En el cultivo de meristemas, el crecimiento del tallo se produjo con diferencias significativas, en los tratamientos que contienen los siguientes reguladores de crecimiento en mg L<sup>-1</sup>, T VII (0.005 ANA + 0.05 KIN), TVIII (0.005 ANA + 0.01 KIN) y TIX (0.05 KIN) (Cuadro 2). Si bien los tratamientos que solo contienen citocininas TIX, TX y TXIV, desarrollaron tallos que superan 1 cm de altura, estos no poseen sistema radicular. En los tratamientos que únicamente contienen auxina TII y TIII, se observó un escaso desarrollo (menor al 10 %) de tallos de 1 cm de altura y debido a ello no fueron incluidos en el análisis estadístico. Todos los tratamientos que contenían ANA en el medio de cultivo, desarrollaron un callo en la base del tallo. En la inducción de autopoliploides, la mayor cantidad

de plantas tetraploides (25%) y quiméricas (45 %) fue obtenida con el tratamiento de 24 horas y 0.01 % de colchicina. El tratamiento de 0.10 % y 24 horas, produjo 1 planta tetraploide, 2 plantas quiméricas y alta mortandad de explantos. No se obtuvieron plantas poliploides o quiméricas, en el tratamiento de 0.10 % de colchicina durante 48 horas de exposición.

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos de los tratamientos, se observó que:

- La utilización de reguladores de crecimiento, produjo una significativa reducción en el tiempo de obtención de una planta completa.
- El agregado de citocininas favoreció el desarrollo de tallos.
- Se observó diferenciación radicular y presencia de callo, en todos los tratamientos en que el ANA fue agregado al medio de cultivo.
- EL tratamiento con 0.01 % de colchicina 24 horas de exposición, fue el que produjo el mejor resultado en la inducción de autopoliploides.

### Cuadro 1. Composición del medio de cultivo, de los tratamientos.

Table 1. Composition of medium culture, of the treatments.

Medio	Reguladores de crecimiento (mg/L)		
	ANA	KIN	BA
I	0,000	0,000	0,000
II	0,010	0,000	0,000
III	0,050	0,000	0,000
IV	0,010	0,050	0,000
V	0,050	0,050	0,000
VI	0,005	0,000	0,000
VII	0,005	0,050	0,000
VIII	0,005	0,010	0,000
IX	0,000	0,050	0,000
X	0,000	0,010	0,000
XI	0,025	0,000	0,000
XII	0,010	0,000	0,010
XIII	0,010	0,000	0,050
XIV	0,000	0,000	0,010
XV	0,000	0,000	0,050

### Cuadro 2. Efecto de los tratamientos sobre la altura de tallos y raíces.

Table 2. Effect of treatments on stem height and roots.

Tratamiento	Altura (cm)	Raiz
IV	2,16 cd	1,81 b
V	4,35 bcd	2,90 a
VII	8,40 a	1,27 b
VIII	5,90 ab	1,72 b
IX	4,90 abc	
X	1,12 d	
XIV	3,77 bcd	

## BIBLIOGRAFÍA

- BLOMERUS, L.M. 2002. Ornithogalum: from diploid to tetraploid. Acta Horticultural 570: 251-254, ISHS.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco-tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- TSUKAMOTO, T.; ANDO, T.; WATANABE, H.; KOKUBUN, H.; HASIMOTO, G; SAKASAKI, U.; SUAREZ, E.; MARCHESI, E.; OYAMA, K.; KAO, K. 2002. J. Differentiation in the status of self incompatibility among all natural taxa of Petunia (Solanaceae) Journal of Plant Research 115: 185-193.