PRODUCCIÓN DE VITROPLÁNTULAS DE TOMATE (Lycopersicon esculentum *Mill*) Y DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE FRUTO

José Raymundo Enríquez del Valle, Guillermo Carrillo-Castañeda y Juan Velázquez Mendoza

Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 56230, México.

ABSTRACT

Appropriate technology to enhance shoot induction ability and vitroplants quality, characteristics determined by the genotype but strongly affected by the environment, might facilitate the generation of transgenic crops. 1. In the tomato variety Contessa 98 % of the leaf explants formed callus but shoot induction: a) was observed in 59.97 % of the explants being 2.4 the mean number of shoots per explant if the back side of the leaf disks were placed in contact with the medium. Half as much was the percentage obtained putting the other side of the explants in contact with the medium; b) was modified by age and period of the year in which the leaf tissue of the donor plant were developed since 95.7, 90.2 and 49.6 % of the explants obtained from 4, 6 and 8 weeks old plants respectively developed shoots being, in the same order, 4.27, 4.32 and 2.61 the mean number of shoots obtained per explant; c) was detected in 98 % of vitroplantlet leaf tissue explants and 3.27 mean shoots per explant were obtained. 2. Similar performance of the plants obtained from seed and from leaf tissue was observed, in particular fruit quality and yields, when all of them were cultured under soil conditions.

Key words: shoot induction, micropropagation, yield

Biotecnología Aplicada 1998;15:77-82

RESUMEN

Para la generación dinámica de cultivos transgénicos se requiere de tecnología apropiada para la óptima regeneración de brotes y regeneración de vitroplantas de calidad, características determinadas por el genotipo y afectadas por el ambiente. 1. El 98 % de los explantes obtenidos de plantas de tomate de la variedad Contessa formaron callo, pero el desarrollo de brotes: a) fue de 59,97 %, y se regeneraron 2,44 brotes promedio por explante al colocar la superficie del envés sobre el medio de cultivo; con ello se obtuvo prácticamente la mitad al colocarlos con la cara del haz en contacto con el medio; b) fue modificado por la edad y período del año en que fueron desarrolladas las plantas donadoras del tejido puesto que 95,7; 90,2 y 49,6 % de los explantes formaron brotes al utilizar plantas de 4, 6 y 8 semanas de edad; en este mismo orden, de 4,27; 4,32 y 2,61, se dio el número promedio de brotes por explante obtenidos; c) fue de 98 % generándose 3,27 brotes promedio por explante, cuando éstos fueron obtenidos de tejido foliar de vitroplántulas. 2. Las plantas micropropagadas no presentaron casos de albinismo o malformaciones y la producción y calidad de fruto de éstas fue similar al de las plantas de semilla.

Palabras claves: inducción de brotes, micropropagación, rendimiento

Introducción

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), planta originaria de América, es por su utilidad cultivada en regiones tropicales, subtropicales y templadas y, constituye, en consecuencia, una especie ampliamente estudiada (1). La obtención de nuevas formas de importancia económica mediante la modificación o incorporación de genes exóticos a la planta a través de métodos biotecnológicos ha demostrado la utilidad de estas nuevas tecnologías (2), razón por la que un rasgo genético de gran valor metodológico es la capacidad de regeneración *in vitro* de brotes adventicios a partir de tejidos de la planta. En los genotipos estudiados se ha demostrado que este carácter muestra amplia variación (3-8, García y Carrillo-Castañeda, datos no publicados) y su expresión depende también del tipo de tejido de la planta (9, 10). Dos estrategias exploradas para incrementar la expresión de este carácter han sido: a) la identificación de variedades de alta capacidad de regeneración de brotes adventicios *in vitro* (8, 11, 12, García y Carrillo-Castañeda, datos no publicados) y b) la identificación de las condiciones o factores que afectan dicha expresión (13-16). El empleo de vitroplantas tiene también una aplicación potencial en sistemas de mejoramiento genético convencional así como en la producción hortícola, razón por la que, los objetivos del presente trabajo han sido: 1. Determinar en la variedad de tomate Contessa, importante por su valor comercial, la plasticidad de la potencialidad de la inducción de brotes, considerando características

Autor de correspondencia

1. Hille J, Koornneef M, Ramanna MS, Zabel F. Tomato: a crop species amenable to improvement by cellular and molecular methods. Euphytica 1989;42: 1-23.

2. Smith CJS, Watson CF, Ray J, Bird CR, Morris PC, Schuh W *et al.* Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. Nature 1988;334:724-726.

3. Kut SA, Evans DA. Plant regeneration from culture of leaf explants of eight wild tomato species and two related *Solanum* species. *In Vitro* 1982;18:593-598.

4. Locy RD. Callus formation and organogenesis by explants of six *Lycopersicon* species. Can J Bot 1983;61:1072-1079.

intrinsecas de la planta donadora del tejido foliar así como aspectos metodológicos, y 2. La determinación de la calidad de las vitroplantas obtenidas valorando los siguientes criterios: su desarrollo bajo condiciones de suelo y, en especial, su rendimiento y calidad de fruto.

Materiales y Métodos

A partir de plantas de *L. esculentum* Mill variedad Contessa obtenidas de semilla y desarrolladas en invernadero durante 4, 6 y 8 semanas en macetas de 193 cm^3 de capacidad con un contenido de una mezcla de 50 % de perlita y 50 % de tierra, se obtuvieron las hojas jóvenes que alcanzaban el tamaño de las hojas adultas y que no mostraban daños o síntomas de enfermedad.

Establecimiento de los cultivos *in vitro*

Las hojas fueron sometidas a un próceso de desinfección, para lo cual éstas se conservaron sumergidas durante 20 min en una solución de 1,2 % de hipoclorito de sodio y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. A continuación, con la ayuda de un sacabocados estéril, de las hojas desinfectadas fueron obtenidos discos de 5 mm de diámetro para colocarlos sobre el medio de cultivo MSB, el cual tenía la constitución química del medio de Murashige y Skoog (17); pero de tiamina, 1,0 mg. Este medio se suplementó en cantidades por litro, con: sacarosa, 20 g, los reguladores de crecimiento: ácido indolacético, 4 mg; cinetina, 2 mg y agua de coco, 200 mL. El medio usado para la inducción de raíz fue similar al MSB, pues contenía los compuestos inorgánicos del medio de Murashige y Skoog al 50 % de la concentración; no contenía agua de coco y en lugar del ácido indolacético y cinetina, contenía 1 mg de ácido indolbutírico, al ser ampliamente conocido que este regulador del desarrollo vegetal induce la formación de raíz. Ambos medios de cultivo fueron definidos, basándonos en el trabajo de Compton y Veilleux (18). El pH de los medios de cultivo fue ajustado a 5,8, se les agregó 0,4 % de agar para esterilizarlos a continuación en autoclave (1,05 kg cm^{-2}) durante 15 min. Los cultivos fueron incubados a 26-29 °C bajo condiciones de fotoperíodo de 16 h.

En primer lugar, el efecto de colocar los discos de tejido foliar con la superficie del envés o el haz en contacto con el medio de cultivo fue evaluado, para lo cual se utilizaron las hojas de plantas de seis semanas de edad; con ello se estableció un total de 120 cultivos por condición experimental repartidos en cuatro experimentos independientes y los resultados obtenidos se sometieron a la comparación de medias de muestras independientes mediante la prueba T de Student, según Snedecor y Cochran (19).

Para la determinación del efecto de la condición de la edad de la planta donadora de tejido foliar en la capacidad de inducción de brotes *in vitro*, se llevaron a cabo seis experimentos establecidos durante los meses de abril y mayo cultivando un total de 195, 215 y 215 discos de tejido foliar de plantas de 4, 6 y 8 semanas respectivamente. En estos experimentos y los siguientes, los cultivos fueron establecidos colocando la superficie del envés de los discos de tejido foliar en contacto con el medio de cultivo.

La capacidad de inducción de brotes a partir de tejido foliar obtenido de vitroplántulas, cultivadas bajo las condiciones experimentales descritas, fue evaluada cultivando 65 explantes en total distribuidos en dos experimentos independientes.

La cinética de formación de raíz se determinó en dos experimentos independientes, utilizando el medio de cultivo previamente indicado y dos lotes de 18 plántulas obtenidas *in vitro* en el medio MSB.

Para el cálculo del número promedio de brotes formados por explante se consideraron a todos aquellos que presentaban estructuras en las que era aparente el tallo a partir de los cuales emergían hojas y siempre y cuando dichos explantes estuvieran libres de contaminación.

Las vitroplántulas de aproximadamente 6 cm de longitud fueron lavadas para retirar restos de medio de cultivo y cultivadas de la manera indicada para las plántulas que provenían de semilla, pero se cubrieron con bolsas de plástico perforadas hasta que fueron transplantadas a tierra a los días indicados, contados a partir del momento en que éstas fueron retiradas de las condiciones *in vitro*.

Establecimiento de los cultivos en tierra

Vitroplántulas de 49 y 63 días y plántulas de 20 y 55 días fueron colocadas en varias franjas de tierra de 9,6 m de longitud por 1,2 m de ancho, a 30 cm de distancia en dos surcos separados por 90 cm. El fertilizante y riego se aplicaron de acuerdo a las indicaciones de Mirafuentes (20).

Para determinar la calidad de la producción, los tomates cosechados fueron clasificados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el tomate en estado fresco (21), que establece tres tipos: México extra, frutos de más de 73 mm de diámetro; México 1, con diámetro de 58 a 72 y México 2, frutos con diámetro entre 48 y 57 mm.

Resultados

Efecto del área de contacto del tejido foliar con el medio de cultivo.

Los discos de tejido foliar, al colocarse con la superficie del haz o del envés en contacto con el medio MSB, duplicaron en promedio su área a las primeras cuatro semanas de incubación, cuando el envés formó una superficie cóncava (Figuras 1a y 1b). Primero apareció la formación de un callo color

5. Niedz RP, Rutter SM, Handley LW, Sink KC. Plant regeneration from leaf protoplasts of six tomato cultivars. Plant Sci 1985;39:199-204.

6. Tal M, Dehan K, Heikin H. Morphogenetic potential of cultured leaf sections of cultivated and wild species of tomato. Ann Bot 1977;41:937-941.

7. Tan MMC, Colijn-Hoogmans CM, Lindhout WH, Kool AJ. A comparison of shoot regeneration from protoplasts and leaf discs of different genotypes of the cultivated tomato. Theor Appl Genet 1987;75:105-108.

8. Zelcer A, Sofferman O, Izhar S. An *in vitro* screening for tomato genotypes exhibiting efficient shoot regeneration. J Plant Physiol 1984;115:211-215.

9. Frankenberger EA, Hasegawa PM, Tigchelaar EC. Diallel analysis of shoot forming capacity among selected tomato genotypes. Z Pflanzenphysiol 1981a; 102:233-242.

10. Nakamo M, Hoshino Y, Mii M. Adventitious shoot regeneration from cultured petal explants of carnation. Plant Cell, Tissue Organ Culture 1994; 36:15-19.

11. Frankenberger EA, Hasegawa PM, Tigchelaar EC. Influence of environmental and developmental state on the shoot-forming capacity of tomato genotypes. Z Pflanzenphysiol 1981b; 102:207-220.

12. Morgan A, Cockin EC. Plant regeneration from protoplasts of *Lycopersicon esculentum* Mill. Z Pflanzenphysiol 1982; 106:97-104.

13. Behki RM, Lesley SM. *In vitro* plant regeneration from leaf explants of *Lycopersicon esculentum* (tomato). Can J Bot 1976;54:2409-2414.

14. Kartha KK, Gamborg JP, Shyluk JP, Constabel F. Morphogenetic investigation on *in vitro* leaf culture of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Starfire and high frequency plant regeneration. Z Pflanzenphysiol 1976;77:292-301.

15. Padmanabhan J, Paddock EF, Sharp WS. Plantlet formation from *Lycopersicon esculentum* leaf callus. Can J Bot 1974; 52:1429-1432.

16. Sibi M, Biglary M, Demarly Y. Increase in the rate of recombinants in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) after *in vitro* regeneration. Theor Appl Genet 1984;68:317-321.

17. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 1962;15:473-497.

18. Compton ME, Veilleux RE. Shoot, root and flower morphogenesis on tomato inflorescence explants. Plant Cell, Tissue Organ Culture 1991;24:223-231.

19. Snedecor GW, Cochran WC. Métodos estadísticos. México, CECSA. 1991; 703 p.

20. Mirafuentes HF. Efecto de la poda en la producción de dos genotipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) bajo condiciones de campo o invernadero. Tesis de Maestro en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 1985.

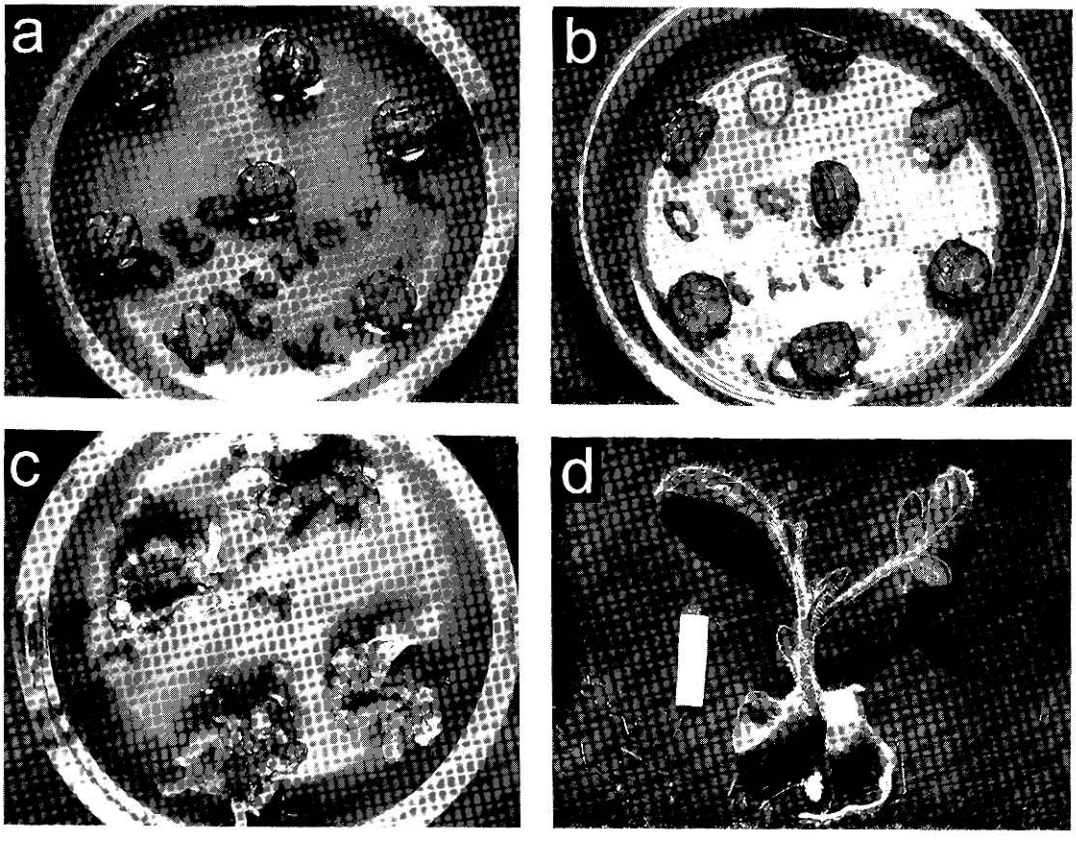

Figura 1. Aspecto de los explantes de 14 días de desarrollo al ser colocados con la superficie del envés (a) o del haz (b) en contacto con el medio al establecer el cultivo; callos y brotes desarrollados en los discos de hoja a las cuatro semanas de incubación (c) y de una vitroplántula (d). La longitud de la barra es de 10 mm. (Vea la figura a color en la página 136)

verde tanto en la superficie del tejido como en su periferia en el 98 % de los explantes. La formación de brotes, en los que se observó la presencia de un tallo y no el de una hoja en desarrollo que fue un fenómeno inadvertido a lo largo del proceso de este trabajo, fue observada entre la segunda y la quinta semana de cultivo. Los resultados demuestran que de los 120 explantes colocados con la superficie del envés del tejido foliar en contacto con el medio de cultivo, 59,97 % desarrollaron brotes; el promedio de brotes presentes por explante fue de 2,44. Solamente el 29,97 % de los explantes desarrollaron brotes y el número promedio generados por explante fue de 1,44 cuando los discos de tejido foliar se colocaron sobre el medio de la otra forma (Tabla 1).

Efecto de la edad de la planta y origen del tejido foliar en la inducción de brotes

Una vez definido el caso anterior, los efectos de la edad y el origen de la planta donadora del tejido foliar en la formación de brotes fueron determinados colocando la superficie del envés en contacto con el medio de cultivo. En el primer caso, seis experimentos independientes fueron llevados a cabo estableciendo los cultivos durante los meses de abril y mayo, y al cumplir éstos cinco semanas de desarrollo en el medio MSB, pudo determinarse que la formación de callo se presentó entre el 94,2 y 100 % de ellos, independientemente de la edad de la planta de que se hubiera tomado el tejido y, en éstos, entre el 85,71 y 100 % de los cultivos establecidos a partir de

21. Secretaría de Comercio, México. Dirección General de Normas Comerciales. Serie de folletos informativos sobre normas de calidad, No. 1. 1982.

Tabla 1. Determinación de la inducción de brotes en cultivos *in vitro* establecidos en el medio MSB a partir de discos de hoja de plantas de *L. esculentum* variedad Contessa de seis semanas de edad. Las determinaciones se efectuaron cuando los cultivos cumplieron cinco semanas de incubación.

Superficie foliar del explante en contacto con el medio de cultivo	Número de explantes	Explantes que desarrollaron brotes (%)	$\bar{x}$ brotes/ explante
Envés	120	59,97	2,44*
Haz	120	29,97	1,44

* Significativo al nivel de 0,05 en valores en t.

Tabla 2. Determinación de la inducción de brotes en cultivos *in vitro*, establecidos a partir de discos de hoja de plantas de *L. esculentum* variedad Contessa, desarrollados durante cinco semanas de incubación en el medio de cultivo MSB. El tejido foliar fue de plantas de tres diferentes edades desarrolladas en invernadero.

Experimento	Edad de la planta (semana)	Número de explantes	Explantes que formaron callo (%)	Explantes que formaron brotes (%)	Número de brotes por explante
1	4	35	100	94,28	3,96 ± 0,29[a]
	6	40	100	77,5	2,87 ± 0,21[a]
	8	40	95	27,7	1,54 ± 0,20[b]
2	4	35	100	94,28	3,96 ± 0,29[a]
	6	40	100	77,5	2,87 ± 0,21[a]
	8	40	95	27,5	1,54 ± 0,20[b]
3	4	35	94,2	85,71	5,1 ± 0,60[a]
	6	35	97,14	94,28	6,9 ± 0,67[a]
	8	35	97,14	62,85	4,31 ± 0,58[b]
4	4	25	100	100	6,68 ± 0,60[a]
	6	35	100	100	6,82 ± 0,60[a]
	8	35	100	65,71	4,04 ± 0,71[b]
5	4	40	100	100	3,31 ± 0,17[a]
	6	40	100	100	4,12 ± 0,24[a]
	8	40	100	30	2,0 ± 0,27[b]
6	4	25	100	100	2,64 ± 0,23[a]
	6	25	100	92	2,39 ± 0,21[a]
	8	25	100	84	2,28 ± 0,29[a]

[a,b]: nivel de significación. p = 0,01.

hojas de plantas de cuatro semanas de edad desarrollaron brotes; entre el 77,5 y 100 % de los cultivos establecidos a partir de plantas de seis semanas y entre el 27,5 y 84 % de los cultivos establecidos a partir de hojas de plantas de ocho semanas (Tabla 2). El aspecto morfológico de estos brotes fue similar. En las Figuras 1c y 1d se muestra el aspecto de explantes con brotes y el de una plántula desarrollada, respectivamente.

Como una posible consecuencia de la edad de la planta, se observó como tendencia que paralelamente a la disminución en el porcentaje de cultivos establecidos que inducían brotes, se presentaba una disminución en el número de éstos generados por explante; con ello se obtuvo mayor número de brotes en los cultivos establecidos a partir de hojas de plantas de cuatro y seis semanas de edad en relación con las de ocho semanas; entre éstos se encontró diferencias estadísticamente significativas (p = 0,01). Los resultados de los seis experimentos analizados en conjunto se presentan en la Tabla 3 y en ella se aprecia, con claridad, la similitud de los resultados en la capacidad de los explantes para desarrollar callo así como las diferencias encontradas en su capacidad de inducción de brotes.

La capacidad de formación de brotes en los cultivos establecidos a partir de tejido foliar de plántulas cultivadas *in vitro*, fue determinada en dos experimentos independientes. En el primer y segundo experimento el 96 y el 100 % de los explantes respectivamente los desarrollaron y en éstos el número promedio de brotes por explante fue, en el mismo orden, de 3,25 y 3,3.

Tabla 3. Determinación de la inducción de brotes en cultivos *in vitro* de cinco semanas de incubación en el medio de cultivo MSB establecidos a partir de discos de hoja de plantas de *L. esculentum* Mill variedad Contessa. El tejido foliar obtenido de plantas de tres edades desarrolladas en invernadero.

Edad de la planta (semana)	Número total de expantes	Explantes que formaron callo (%)	Explantes que formaron brotes (%)	Número promedio de brotes por explante
4	195	98,7	95,7	4,27
6	215	99,5	90,2	4,32
8	215	97,8	49,6	2,61

Inducción de la formación de raíz *in vitro*

Dos lotes de 18 plántulas cada uno de ellos desarrolladas en el medio MSB, al ser transferidas al medio para la inducción de raíz, el 100 % de ellas las regeneraron en períodos de 8 y 11 días de incubación. La cinética del fenómeno se presenta en la Figura 2.

Desarrollo vegetativo, producción y calidad de fruto de las vitroplantas

En el análisis de las plantas efectuado a los 121 días de cultivo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,05$), considerar en las plantas micropropagadas y de semilla: la altura de planta, días a la cosecha y producción de fruto, sin embargo, la altura de las plantas en promedio fue mayor en cuanto mayor fue la edad de la plántula al momento del trasplante, independientemente de que hubieran sido micropropagadas o de semilla. Las plantas de semilla y micropropagadas alcanzaron alturas máximas promedio de 92 y 91 cm, respectivamente.

Las plantas generadas a partir de semilla requirieron de 98 y 108 días en promedio para el inicio de la cosecha cuando éstas al ser trasplantadas a suelo habían cumplido 55 y 20 días respectivamente. Si bien la diferencia de edad entre éstas al momento del trasplante fue de 35 días sólo hubo una diferencia de diez días para el inicio de la cosecha. En el caso de las plántulas micropropagadas trasplantadas a suelo cuando cumplían 49 y 63 días de edad, transcurrieron 88 y 98 días respectivamente para el inicio de la cosecha. La diferencia de edad de estas plántulas fue de 14 días y hubo una diferencia de 10 días en promedio entre ellas para el inicio de cosecha.

Al comparar la producción total de fruto en sus diferentes categorías de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-FF-31-1982 se observó que la mayor producción correspondió a las categorías México 1 y México 2, y una cantidad pequeña de la producción correspondió a frutos de la categoría México extra (Figura 3).

Discusión

El fenómeno de la regeneración de brotes a partir de discos de tejido foliar de plantas de tomate es un aspecto metodológico clave en el proceso de transformación genética, fenómeno biológico involucrado en la generación de los cultivos transgénicos, razón por lo que uno de los tópicos de interés de los investigadores ha sido generar información acerca de las condiciones experimentales para establecer sistemas más eficientes de regeneración de brotes (22, 23). En primer término este trabajo estuvo orientado a definir condiciones experimentales que mejoren el procedimiento para la micropropagación de plántula de tomate de la variedad Contessa. Los resultados que aquí se presentan muestran la plasticidad del sistema.

1. Al hacer ajustes muy simples a las condiciones experimentales se observa con relativa claridad cómo se modifica la capacidad de regeneración de brotes del tejido foliar. La cara del envés de los discos de tejido foliar, independientemente del modo en que se hubieran colocado sobre la superficie del medio, a medida que transcurrían los primeros días de incubación fue transformándose en una superficie cóncava, y cuando la superficie del envés se había colocado en contacto con el medio de cultivo, se permitió que en el inicio del establecimiento de los cultivos la mayor parte de la región periférica de estos discos tuvieran contacto con el medio de cultivo. Como los cultivos se desarrollaron sometidos a un régimen de fotoperíodo, el colocar el envés del tejido foliar en contacto con el medio también

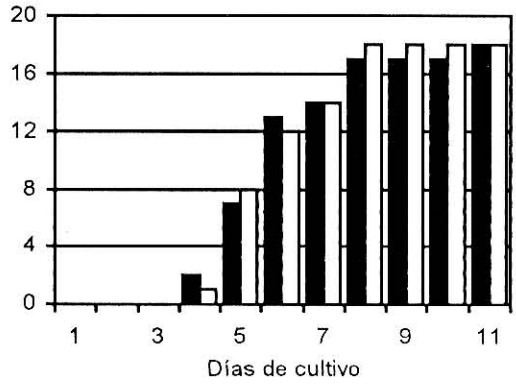

Figura 2. Cinética de la aparición de raíz en dos lotes de plántulas, definidos por las barras oscuras y claras, transferidas al medio de inducción de raíz y cultivadas *in vitro* en éste durante los días indicados.

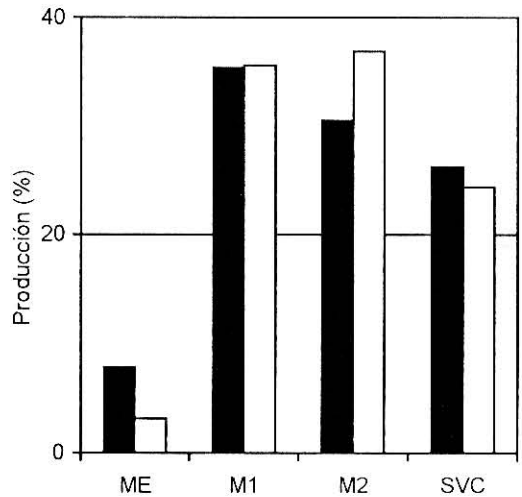

Figura 3. Comparación de los porcentajes de producción total de fruto de tomate a partir de planta de semilla (■) y vitroplantas (□), por categorías de calidad: ME, México extra (diámetro mayor de 73 mm); M1, México 1 (diámetro entre 58 y 72 mm); M2, México 2 (diámetro entre 48 y 57 mm); SVC, sin valor comercial.

22. Hamza S, Chupeau Y. Re-evaluation of conditions for plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation from tomato (*Lycopersicon esculentum*). J Exp Bot 1993;44(269):1837-1845.

23. Patil RS, Davey MR, Power JB. Highly efficient plant regeneration from mesophyll protoplasts of indian field cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant Cell, Tissue Organ Culture 1994; 36:255-258.

permitió que la superficie del haz fuera la expuesta más directamente a la luz. Behki y Lesley (13) han demostrado la importancia que tiene la luz en la inducción de brotes de tomate.

2. Se confirma también y se evalúa cómo la capacidad de regeneración de brotes a partir de tejido foliar es influenciada por el grado de desarrollo de la planta (11). Presumimos que el estado fisiológico de la planta y en particular de sus hojas que por sus funciones específicas es fuertemente alterado por los cambios graduales o súbitos de la temperatura, la humedad relativa y del fotoperíodo ocurridos a lo largo de los períodos en que estas plantas fueron desarrolladas en un invernadero en el que faltó control de estos tres factores del ambiente. Al analizar la información experimental obtenida en el presente trabajo por experimento independiente, se pone de manifiesto la magnitud de este efecto, que está acorde con los resultados de otro trabajo realizado en este laboratorio (24). Debido a estas mismas causas, Gil y Carrillo-Castañeda (datos no publicados) observaron que el porcentaje de brotes generados a partir de los discos de tejido foliar de *L. esculentum*, al ser sometidos a un proceso de transformación mediado por *Agrobacterium tumefaciens*, varió significativamente a lo largo de dos años, pero coincidentemente los investigadores obtuvieron el mayor número de brotes en el mismo período del año. Los discos de tejido de las plantas de cuatro y seis semanas, presentaron mayor número de brotes llegando a un máximo de 6,9 en promedio por disco en la tercera semana de abril; la máxima proporción de explantes que desarrollaron brotes (cercana a 100 %) pudo observarse en los cultivos establecidos a partir de plantas de cuatro semanas, y la menor capacidad (50 %) en los de ocho semanas. Campton y Veilleux (18), al analizar este fenómeno en 11 variedades obtuvieron como los resultados de mayor contraste 5,3 y 1,3 brotes en promedio por explante en solamente el 42 y el 38 % de los cultivos respectivamente. Resulta significativo que la capacidad primordial de multiplicación celular, que le permite a la célula vegetal desdiferenciada adaptarse para sobrevivir *in vitro* no se encontró afectada, puesto que la capacidad de formación de callo en los explantes fue alta y relativamente uniforme.

3. La capacidad de inducción de brotes a partir de tejido foliar de las vitroplántulas, por haber sido éstas desarrolladas bajo un régimen en el que las condiciones ambientales fueron controladas relativamente mejor, resultó cercana al 100 %. De esta forma las variaciones de los resultados se atenúan tal y como ocurrió cuando fue utilizado hipocótilo de plántula axénica como explante, desarrollada también bajo condiciones ambientales controladas (11). Este estudio preliminar en el que se obtuvieron un poco más de tres brotes en promedio en prácticamente el 100 % de los cultivos establecidos ha sido el punto de partida para definir mejores condiciones experimentales de cultivo para las vitroplántulas, con el propósito de obtener un tejido foliar con mayor capacidad de inducción de brotes. Nuestra atención también está centrada en el fenómeno de regeneración de plantas a partir de embriones somáticos, ya que se considera que esta vía presenta más ventajas para la micropropagación (25). En dependencia con estos resultados, las vitroplantas pudieran ser la base de sistemas de producción de tomate si desde el punto de vista tecnológico se logra competir favorablemente en el terreno económico con los sistemas convencionales de producción.

4. Casos de albinismo o alteraciones morfológicas no se han presentado en las plantas micropropagadas obtenidas a lo largo de varios años de trabajo en nuestro laboratorio. Estas se diferencian de la plántula obtenida a partir de semilla por no tener cotiledones, tener un tallo y aspecto más vigoroso además de tener un color verde más oscuro, coincidiendo en términos generales con los resultados obtenidos por otros autores (26-29). Es interesante indicar que en la inmensa mayoría de las investigaciones dirigidas a establecer condiciones experimentales para micropropagar planta de tomate, no se ha prestado la debida importancia en determinar sus características a lo largo de su desarrollo y mucho menos se genera la información acerca de los niveles de producción y calidad del producto, como prueba de la eficacia del procedimiento biotecnológico. En los escasos trabajos en los que se consigna este tipo de información se encuentran casos de resultados contrastantes. Ciertas vitroplantas duplicaron los niveles de producción, en comparación con el rendimiento obtenido de la planta que provenía de semilla (30), aunque dichas vitroplantas fueron obtenidas a partir de las yemas axilares del tallo; sin embargo, otros autores (31), al comparar la cantidad y calidad de fruto de tomate de las variedades Calypso y Dombito encontraron que, en promedio, la planta micropropagada a partir de tejido foliar tuvo una producción ligeramente menor al de la planta obtenida a partir de semilla, pero sus frutos fueron de mayor tamaño.

Nuestra planta micropropagada requiere mínimos cuidados durante los primeros días al trasplantarla a maceta, como lo han experimentado otros autores (32); rebasada esta etapa de adaptación, el manejo es el de las plantas obtenidas mediante semilla. Los resultados de las pruebas a las que fueron sometidas estas vitroplantas indican que este procedimiento de micropropagación ha sido satisfactorio, al haberse obtenido plantas con un alto grado de uniformidad y, en especial, porque tanto la producción como la calidad de fruto resultó similar al de las plantas producidas a partir de semilla.

Recibido en febrero de 1997. Aprobado en octubre de 1997.

24. Mejía JM, Carrillo-Castañeda G. Determinación del efecto estacional trascendente en el desarrollo *in vitro* de ápices del tallo de *Lycopersicon esculentum* Mill. Agrociencia Serie Fitociencia 1992;3(2):91-102.

25. Gill R, Malik KA, Sanago MHM, Saxena PK. Somatic embryogenesis and plant regeneration from seedling cultures of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). J Plant Physiol 1995; 147:273-276.

26. Gunay AL, Rao PS. *In vitro* propagation of hybrid and cotyledon explants. Ann Bot 1980;45:205-207.

27. Dhruva B, Ramakrishnan T, Vaidyanathan CS. Regeneration of hybrid tomato plants from leaf callus. Curr Sci 1978;47:458-460.

28. Kartha KK, Champoux S, Gamborg OL, Pahl K. *In vitro* propagation of tomato by shoot apical meristem culture. J Am Soc Hort Sci 1977;102:346-349.

29. Ohki S, Bigot C, Mousseau J. Analysis of shoot forming capacity *in vitro* in two lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) and their hybrids. Plant Cell Physiol 1978;19:27-42.

30. Deng LP, Guo YH, Jia YK, Sheng JH. Preliminary report on cultures of shoot tips of tomato and the yields of plants from culture. Hereditas 1988;10(2):9-10.

31. Buitelaar K. Tomatoes. No higher yield by means of tissue culture. Groenten en Fruit 1990;46(12): 26-27.

32. Debergh PC, Maene LJ. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Sci Hort 1981; 14:335-345.