

Obtención y micropropagación de híbridos intra e interespecíficos de tomate (género *Lycopersicon*)

✉ Guillermo Pratta, Roxana Zorzoli, Liliana A Picardi

Cátedra de Genética. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario. CC 14, 2123 Zavalla, Argentina. Telf: (54-0341) 497 0080; Fax: (54-0341) 497 0085; E-mail: gpratta@fcagr.unr.edu.ar

RESUMEN

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es una herramienta útil para superar las dificultades en la obtención de híbridos (v.g., aborto del embrión y producción escasa de semillas), cuando se incorporan especies silvestres a los programas de mejoramiento genético. En este trabajo se evaluaron diferentes cruzamientos para obtener híbridos intra e interespecíficos del género *Lycopersicon*, la utilidad del cultivo *in vitro* de embriones inmaduros para sortear la incompatibilidad unilateral, y la respuesta de los híbridos producidos a la micropropagación. Se utilizaron las especies y variedades *L. esculentum*, *L. esculentum* var. *cerasiforme*, *L. pimpinellifolium*, *L. peruvianum* y *L. hirsutum*. Se encontraron diferencias entre cruzamientos para la producción de híbridos intra e interespecíficos. El cultivo *in vitro* de embriones inmaduros fue adecuado para obtener híbridos interespecíficos de cruzamientos con incompatibilidad unilateral. En caso éste, también se observaron diferencias entre las distintas combinaciones de genotipos. Por otra parte, la capacidad de regeneración *in vitro* de los híbridos intra e interespecíficos producidos por cruzamientos compatibles, resultó, en general, superior a la de las líneas progenitoras, mientras que en el caso de los cruzamientos incompatibles, hubo una disminución en la capacidad de regeneración *in vitro* de los híbridos con respecto a los progenitores.

Palabras claves: cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, mejoramiento vegetal, recursos fitogenéticos rescate de embriones

Biotecnología Aplicada 1999;16:242-245

ABSTRACT

Obtainment and micropropagation of intra- and interspecific hybrids of tomato (genus *Lycopersicon*)

In vitro plant tissue culture is a useful tool for overcoming the problems in obtaining hybrids (i.e., embryo abortion, production of seeds) when wild species are incorporated to breeding programs. The ability for producing intra- and interspecific hybrids among different crosses in the genus *Lycopersicon*, the adequacy of *in vitro* culture of immature embryos to break the unilateral incompatibility, and the micropropagation response of the hybrids obtained, were evaluated. Different genotypes of the species and varieties of *L. esculentum*, *L. esculentum* var. *cerasiforme*, *L. pimpinellifolium*, *L. peruvianum*, and *L. hirsutum*, were used. Differences in the ability to produce intra- and interspecific hybrids were found among the crosses. *In vitro* culture of immature embryos was successful in obtaining interspecific hybrids when the crosses presented unilateral incompatibility. In this case, there also were differences in the ability to cross among the genotypes. The capacity for *in vitro* regeneration of the intra- and interspecific hybrids originated from compatible crosses was in general superior to that of the parental lines, but a decrease in the regeneration capacity was observed in the hybrids originated from incompatible crosses, with respect to the parental genotypes.

Keywords: embryo rescue, *in vitro* plant tissue culture, plant breeding, plant genetic resources

Introducción

La fecundación cruzada entre genotipos de una misma especie o de especies emparentadas, constituye un método clásico para la ampliación de la variabilidad genética. En especial en aquellos casos en que la diversidad intraespecífica es reducida, puede ser interesante cruzar especies cultivadas con especies silvestres.

En el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), especie autógena de reducida base genética, se ha aumentado la variabilidad mediante la hibridación con los taxones silvestres [1, 2]. Dentro de *Lycopersicon* existen nueve especies que muestran un alto grado de homosecuencialidad en sus cromosomas (todas presentan $2n = 2x = 24$), y están agrupadas en dos subgéneros según el color de los frutos y el sistema reproductor predominante [3]:

- *Eulycopersicon*: formado por las especies de fruto rojo y predominantemente autógenas (*L. esculentum*, *L. esculentum* var. *cerasiforme* y *L. pimpinellifolium*).
- *Eriopersicon*: formado por especies de fruto verde, en general autoincompatibles (*L. hirsutum* y *L. peruvianum*).

Los cruzamientos interespecíficos entre *L. pimpinellifolium* y *L. esculentum* son relativamente fáciles de obtener, mientras que ambos, en los cruzamientos con *L. peruvianum* y *L. hirsutum*, presentan incompatibilidad unilateral. Este fenómeno se manifiesta en el hecho de que la fecundación sólo se produce cuando la forma doméstica actúa como progenitor femenino, con el aborto posterior del embrión por falta de nutrientes debido a un inadecuado desarrollo del endospermo [4]. De todos modos, tanto en las hibridaciones interespecíficas como en las intervietales, el número de semillas obtenidas suele ser bajo [5].

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es una biotecnología que puede ser aplicada como herramienta complementaria de los programas de mejoramiento convencionales para superar las dificultades mencionadas. Por ejemplo, el cultivo *in vitro* de embriones inmaduros (técnica conocida como rescate de embriones) puede emplearse para romper la barrera que representa la incompatibilidad unilateral en el intercambio de genes,

1. Rick CM. Potential improvement of tomatoes by controlled introgression of genes from wild species. In: Proceedings of the Conference on Broadening Genetic Base Crops; 1978; Wagenigen, Austria. Wagenigen: Pudoc; 1979. p.167-73.

2. Warnock SJ. Natural habitats of *Lycopersicon* species. HortScience 1991; 26(5):466-71.

3. D'Arcy WG. Solanaceae studies II: typification of subdivisions of *Solanum*. Annals of the Missouri Botanical Garden 1972;59:262-78.

4. Hermsen JG. Some fundamental considerations on interspecific hybridization. Iowa State Journal of Research 1984; 58(4):461-74.

5. Zorzoli R, Picardi LA. Análisis de caracteres productivos en híbridos interespecíficos de *Lycopersicon*. En: Actas del XXV Congreso Argentino de Genética. 3ra. Reunión Argentino-uruguayo de Genética; 1994; La Plata, Argentina; 1994. p.56.

pués los reguladores y los constituyentes del medio de cultivo aportarían al embrión los elementos necesarios para su crecimiento hasta convertirse en una planta autónoma [6]. También es factible la generación de clones de materiales selectos a través del cultivo *in vitro* de meristemos, extremos de tallos u otros explantes [7, 8], por lo que se puede recurrir a la micropropagación si se desea conservar el híbrido obtenido por vía manual o por rescate de embriones inmaduros. De esta forma, la posibilidad de contar con protocolos eficientes para la obtención de híbridos intra e interespecíficos de *Lycopersicon*, así como para la regeneración de estos genotipos, permitirá aprovechar mejor la diversidad biológica de este género mediante la ampliación de la variabilidad genética disponible para el desarrollo de los programas de mejoramiento del tomate.

Los objetivos de este trabajo fueron: a) evaluar la capacidad de los diferentes cruzamientos intra e interespecíficos para la producción de genotipos híbridos; b) determinar el protocolo más adecuado para el rescate de embriones inmaduros de los híbridos interespecíficos provenientes de cruzamientos que presentan incompatibilidad unilateral; y c) lograr una micropropagación eficiente de los híbridos intra e interespecíficos obtenidos.

Materiales y Métodos

Los genotipos parentales utilizados fueron: los cultivares Rin, Nor, Kitec y Caimanta, y el híbrido comercial Tommy, de *L. esculentum*; *L. esculentum* var. *cerasiforme*, accesiones LA 1385 y LA 1673; *L. pimpinellifolium*, accesión LA 722; *L. peruvianum*, accesiones LA 1333 y LA 2151; *L. hirsutum* forma *glabratum*, accesión LA 2128; y *L. hirsutum* forma *typicum*, accesiones LA 2101 y LA 1777.

Los materiales silvestres fueron suministrados por el Dr. Charles Rick, del Tomato Genetic Resources Center de la Universidad de California (Davis, California, USA). La siembra se realizó en almácigo en agosto de 1995 y las plantas fueron trasplantadas a invernadero a los 30 días siguiendo un diseño completamente aleatorizado. El número total de plantas fue 112. Las castraciones y polinizaciones manuales (N = 186) se llevaron a cabo en noviembre y diciembre de ese mismo año. Según la técnica estándar [9], las flores de *L. esculentum* y *L. esculentum* var. *cerasiforme* fueron emasculadas un día antes de su apertura (momento calculado por el cambio de color de la corola de amarillo pálido a amarillo crema), y polinizadas al día siguiente. Los cruzamientos eran diferenciados según fueran realizados entre variedades de la forma cultivada (Ci) o entre la forma cultivada y las silvestres (CI). A su vez, estos cruzamientos (CI) fueron agrupados de acuerdo con la existencia de compatibilidad (CIC) o incompatibilidad unilateral (CII). La eficiencia del método de polinización se evaluó a través del porcentaje de cuajado de frutos (CF) y el número promedio de semillas por fruto (SF) de las plantas procedentes de cada tipo de cruzamiento. Los valores de CF fueron comparados mediante la prueba no paramétrica χ^2 , y los valores de SF mediante un ANDEVA atendiendo a un sólo criterio de clasificación [10].

Los frutos producidos por las plantas procedentes de cruzamientos de *L. esculentum* y *L. esculentum* var. *cerasiforme* con *L. peruvianum* y *L. hirsutum*,

fueron cosechados inmaduros 30 días después de la polinización, desinfectados en etanol 96% e hipoclorito de sodio 4%, lavados con agua destilada estéril, y seccionados en una cámara de flujo laminar. Las semillas inmaduras (con menos de 2 mm de largo) fueron sumergidas en agua destilada estéril para eliminar la cubierta gelatinosa, y secadas en papel de filtro estéril. La siembra *in vitro* de los embriones se realizó en medio salino-vitaminico MS [11] de concentración reducida a la mitad, suplido con sacarosa 45 g/L y agar 6 g/L, con el propósito de reproducir la constitución del endospermo de la forma más exacta posible (Tabla 1). Este medio de cultivo fue seleccionado sobre la base de que permitió obtener el mayor porcentaje de germinación de diferentes genotipos de *Lycopersicon* spp. en estudios previos en los que se probaron varias formulaciones (resultados no publicados). Se sembraron 5-6 embriones por tubo de ensayo y se incubaron en cámaras de cultivo a 25 ± 2 °C, con un fotoperíodo de 16 h. En cada cruzamiento se probaron dos formas de sembrar los explantes: semillas enteras y semillas cortadas. Las plantas germinadas *in vitro* fueron rusticadas y pasadas a tierra. En el estudio se empleó un diseño completamente aleatorizado y se evaluaron el número de frutos cosechados (NF), el número de semillas sembradas *in vitro* (SS), el número de semillas germinadas *in vitro* (SG) y el número de plantas híbridas (PH) que completaron los ciclos vegetativo y reproductor una vez trasplantadas a tierra.

Los híbridos intra e interespecíficos obtenidos en 1995 (tanto los producidos por cruzamientos compatibles realizados en forma manual, como los producidos por cruzamientos incompatibles a través del rescate de embriones), los progenitores y el híbrido comercial, fueron sembrados en condiciones de invernadero en agosto del año siguiente. A los 30 días de la siembra, se tomaron folíolos de la tercera hoja por debajo del ápice, se desinfectaron en etanol 96% e hipoclorito de sodio 4%, se remojaron tres veces en agua estéril y se cultivaron *in vitro* en medio MS suplido con sacarosa 30 g/L, agar 9 g/L, ácido indolacético (AIA) 0.175 mg/L y benciladenina (BA) 2,25 mg/L (Tabla 1) [7, 8]. Los explantes (N = 308) se incubaron en una cámara climatizada a 25 ± 2 °C con un fotoperíodo de 16 h. Se empleó un diseño completamente aleatorizado. Los caracteres analizados fueron: la capacidad de desdiferenciación, evaluada mediante el porcentaje de callos (C, número de explantes que sólo produjeron callos x 100/número total de explantes), y la capacidad de regeneración, a través de las variables tasa de productividad (TP, número total de vástagos/número total de explantes) y porcentaje de regeneración (R, número de explantes que dieron lugar a vástagos y/o primordios x 100/número total de explantes). En el análisis de los datos se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para TP, y χ^2 para R y C [10].

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo utilizados.

Componente	Medio para el rescate de embriones	Medio para la regeneración
Base MS (%) [11]	50	100,0
Sacarosa (g/L)	45	30,0
Agar (g/L)	6	9,0
AIA (mg/L)		0,175
BA (mg/L)		2,25

6. Hogeboom NG. Breaking breeding barriers in *Lycopersicon*. 1. The genus *Lycopersicon*, its breeding barriers and the importance of breaking these barriers. *Euphytica* 1972;21:221-7.

7. Zorzoli R, Cointy E, Prado E, Mroginski L, Picardi LA. Influencia del citoplasma sobre la capacidad de regeneración *in vitro* en híbridos y sus generaciones segregantes en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Agriscientia* 1993; 10(2):15-9.

8. Pratta G, Zorzoli R, Picardi LA. Intra and interspecific variability of *in vitro* culture response in *Lycopersicon* (tomatoes). *Brazilian Journal of Genetics* 1997; 20(1):75-8.

9. Rick CM. Potential genetic resources in tomato species: clues from observations in native habitats. In: *Genes, enzymes and populations*. New York: Ed. Svb, Plenum; 1973. p.255-69.

10. Snedecor G. *Métodos Estadísticos*. 5ta Edición. México: Compañía Editorial; 1964.

11. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 1962;15:473-97.

Resultados y Discusión

En la Tabla 2 se presentan el total de polinizaciones realizadas y los valores de CF y SF agrupados según el progenitor femenino, con discriminación entre Ci, CIC y CII. La diferencia entre el número de castraciones realizadas ($N = 186$) y el de polinizaciones ($N = 179$), se debe a que algunas flores se marchitaron durante el día, lo que sugiere que aún eran inmaduras en el momento de la emasculación. Sin embargo, dado que la proporción de flores "perdidas" fue baja (7 de 186), se consideró que el criterio utilizado para determinar el momento de castración resultó efectivo. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) para CF ni para SF en cada tipo de cruzamiento. Esto indica que la fertilización de los óvulos ocurrió de igual manera en todos los casos, independientemente del tipo de polen empleado. No obstante, la eficiencia de polinización resultó baja, ya que sólo 28% de las flores hibridadas produjeron frutos. También, el número promedio de semillas por fruto fue mucho menor que el que se obtiene normalmente por autofecundación (más de 50 semillas por fruto). Esto podría deberse a deficiencias en la manipulación del polen, o bien a daños en el ovario durante la emasculación.

Con respecto al cultivo *in vitro* de los embriones inmaduros, sólo germinaron aquellas semillas que habían sido cortadas previo a la siembra (Figura 1). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3. La proporción de semillas germinadas *in vitro* fue 0,075, valor similar al encontrado por distintos autores para cruzamientos interespecíficos en *Lycopersicon* [12, 13] y en otros géneros [14, 15]. Se observó que el mayor porcentaje de germinación corresponde a los cruzamientos entre los cultivares Caimanta y Nor de *L. esculentum* y la accesión LA 2128 de *L. hirsutum*, lo que confirmó la existencia de diferencias en la capacidad de cruzamiento de los genotipos usados en las hibridaciones amplias [13]. De hecho, estos autores destacan la importancia de una correcta elección de los progenitores a fin de lograr mejores resultados. Así, si se hubieran tenido en cuenta únicamente los cruzamientos de LA 2128, la proporción de semillas germinadas habría aumentado a 0,246, con superioridad del cultivar Nor (31,03% de germinación) sobre Caimanta (17,86%) como progenitor femenino. La menor frecuencia de germinación en los cruzamientos de *L. esculentum* con *L. peruvianum* y las otras accesiones de *L. hirsutum* f. *typicum*, podría deberse a que estos materiales silvestres están más alejados evolutivamente de la especie cultivada que LA 2128 (perteneciente a *L. hirsutum* f. *glabratum*), lo que dificulta la obtención de híbridos viables.

No se observaron diferencias entre los genotipos en relación con la tasa de crecimiento de los embriones cultivados *in vitro*: en todos los casos, la germinación comenzó a los 4-5 días de la siembra y fue necesario repicar las plántulas a los 17 días aproximadamente para evitar la competencia por nutrientes dentro del tubo de ensayo. La rusticación se realizó un mes después de la siembra cuando las plantas contaban, al menos, con tres hojas completamente expandidas. Si bien un número elevado de híbridos interespecíficos se secó durante esta etapa, el porcentaje de pérdidas es atribuible al protocolo empleado, pues este valor es similar al obtenido en experiencias previas con plantas de *Lycopersicon* regeneradas *in vitro* [16]. En este caso no se manifestarían barreras pos-

Tabla 2. Número total de polinizaciones, porcentaje de cuajado de frutos (CF) y número promedio de semillas por fruto (SF) en *L. esculentum* (E) y *L. esculentum* var. *cerasiforme* (C).

♀	Número de polinizaciones				CF			SF		
	Ci	CIC	CII	Total	Ci	CIC	CII	Ci	CIC	CII
E	25	73	69	167	28,00	34,;	24,64	15,14	15,;	19,71
C	-	3	9	12	-	0,;	11,11	-	0,;	17,00
Total	25	76	78	179	28,00	34,;	23,08	15,14	15,;	19,56

Ci: cruzamiento entre variedades de la forma cultivada, CIC: cruzamiento compatible, CII: cruzamiento incompatible.

Los frutos correspondientes a Ci y CIC fueron cosechados maduros, mientras que los frutos correspondientes a CII fueron cosechados inmaduros 30 días después de la polinización.

En Ci y CIC, las semillas se encontraban en estado maduro, mientras que en CII se encontraban en el estado inmaduro (30 días después de la polinización).



Figura 1. Rescate *in vitro* de embriones híbridos interespecíficos provenientes de cruzamientos incompatibles. Derecha, embriones recién sembrados; centro, comienzo de la germinación (determinado por la aparición de la radícula); e izquierda, plántula completamente desarrollada.

Tabla 3. Número de frutos cosechados (NF), semillas sembradas *in vitro* (SS), semillas germinadas *in vitro* (SG) y plantas híbridas que completaron el ciclo en tierra (PH), de los cruzamientos interespecíficos incompatibles.

Cruzamiento	NF	SS	SG	PH
var. Rin x LA1333 (<i>L. peruvianum</i>) ¹	4	31	0	0
var. Rin x LA 2151 (<i>L. peruvianum</i>) ¹	2	42	3	1
var. Rin x LA 1777 (<i>L. hirsutum</i>) ¹	2	34	3	1
var. Nor x LA 1333 (<i>L. peruvianum</i>) ¹	4	74	0	0
var. Nor x LA 2128 (<i>L. hirsutum</i>) ¹	1	58	18	8
var. Caimanta x LA 1333 (<i>L. peruvianum</i>) ¹	2	108	0	0
var. Caimanta x LA 2151 (<i>L. peruvianum</i>) ¹	1	40	1	1
var. Caimanta x LA 2128 (<i>L. hirsutum</i>) ¹	2	56	10	3
var. Caimanta x LA 2101 (<i>L. hirsutum</i>) ¹	1	8	0	0
LA 1385 x LA 1333 (<i>L. peruvianum</i>) ²	1	17	0	0
Total	20	468	35	14

¹El progenitor femenino corresponde a *L. esculentum*.

²El progenitor femenino corresponde a *L. esculentum* var. *cerasiforme*.

germinativas [17], sino que la pérdida de plantas se debería a la dificultad habitual de las plantas obtenidas *in vitro* para adaptarse a las condiciones *in vivo* [18].

En las Tablas 4 y 5 se presentan la nómina de los híbridos intra e interespecíficos obtenidos, sus progenitores, el híbrido comercial y los respectivos valores de TP, R y C (Figura 2). Dado el diferente comportamiento *in vitro* observado en los híbridos según provengan de cruzamientos compatibles o incompatibles, en los primeros fue posible analizar las tres variables a los 45 días de la siembra. En los híbridos interespecíficos producidos por cruzamientos incompatibles, sólo fue posible analizar R y C luego de 60 días de incubación, debido a que la producción de vástagos fue despreciable. Por lo tanto, los resultados se discutirán por separado.

12. Chen L, Adachi T. Efficient hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *L. peruvianum* via "embryo rescue" and *in vitro* propagation. *Plant Breed* 1996;25:1-6.

13. Lai A, Chiaretti D, Mini P, Bitti ME, Crino P. Parameters influencing embryo rescue in interspecific *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon peruvianum*. *Eucarpia Tomato 90*. In: Proceedings of the 11th Eucarpia Meeting on Tomato Genetics and Breeding; 1990; Málaga, Spain; 1990. p.173-7.

14. Mofazzal Hossain M, Inden H, Asahira T. Intergenic and interspecific hybrids through *in vitro* ovule culture in the Cruciferae. *Plant Science* 1988;58:121-8.

Tabla 4. Tasa de productividad (TP), porcentaje de regeneración (R) y porcentaje de callos (C) *in vitro* a los 45 días, de los híbridos obtenidos por cruzamientos compatibles, sus progenitores y el híbrido comercial Tommy.

Genotipo	TP	R	C
var. Rin (<i>L. esculentum</i>)	0,14	63	29
var. Nor (<i>L. esculentum</i>)	0,00	86	10
var. Caimanta (<i>L. esculentum</i>)	0,17	67	33
var. Kitec (<i>L. esculentum</i>)	0,00	50	40
LA 1385 (<i>L. esculentum</i> var. <i>ceras.</i>)	2,33	100	0
LA 1673 (<i>L. esculentum</i> var. <i>ceras.</i>)	0,00	0	100
LA 722 (<i>L. pimpinellifolium</i>)	1,29	57	40
F ₁ (var. Rin x var. Nor)	1,22	100	0
F ₁ (var. Nor x var. Rin)	0,14	100	0
F ₁ (var. Nor x var. Kitec)	0,25	88	12
F ₁ (var. Nor x LA 1385)	0,88	100	0
F ₁ (var. Caimanta x LA 1673)	1,00	80	15
F ₁ (var. Rin x LA 722)	0,33	100	0
F ₁ (var. Nor x LA 722)	1,14	100	0
F ₁ (var. Caimanta x LA 722)	0,50	88	12
var. Tommy	0,25	88	8

Tabla 5. Porcentaje de regeneración (R) y porcentaje de callos (C) *in vitro* a los 60 días, correspondientes a los híbridos obtenidos de cruzamientos interespecíficos incompatibles y a sus progenitores.

	var. Caimanta	Caimanta x LA 2128	LA 2128	Nor x LA 2128	var. Nor
R	26	5	35	19	32
C	71	93	55	75	68

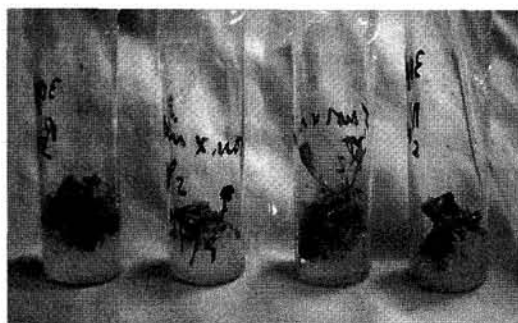


Figura 2. Cultivo de híbridos intra e interespecíficos. Se observa la regeneración de vástagos.

Si se consideran en conjunto los híbridos obtenidos por cruzamientos compatibles, los progenitores y el híbrido comercial, se encontraron diferencias altamente significativas entre genotipos ($P < 0,01$) para TP, R y C. Estos resultados concuerdan con los de trabajos previos [7, 8], en los que se logró micropropagar genotipos híbridos intervarietales de *L. esculentum* mediante la utilización de explantes foliares, y se encontró variabilidad intra e interespecífica para la respuesta *in vitro* de diversos genotipos del género. En esta experiencia, los híbridos presentaron, en general, una mayor capacidad de regeneración, aunque el máximo valor de TP correspondió a la línea LA 1385 (Tabla 4). Al comparar el grupo de híbridos con el de líneas, se encontró que las F₁ no discrepan entre sí para R ni para C ($P > 0,05$), con significativas diferencias para TP con

un nivel de significación de 5%. En cambio, las diferencias fueron altamente significativas ($P < 0,01$) para las tres variables entre las líneas progenitoras. Estos resultados ratificarían la hipótesis sobre el mayor potencial morfogénico de los genotipos heterocigóticos en relación con los homocigóticos [19]. También, el mayor rango de variación observado en el comportamiento *in vitro* de las líneas indica que la deriva genética pudo haber originado genotipos discrepantes para este carácter dentro de las especies autógamas [8].

En cuanto a los híbridos obtenidos vía rescate de embriones, sólo fue posible micropropagar aquellas combinaciones de las cuales un número adecuado de plantas superó el proceso de rusticación, es decir, la F₁ de Caimanta x LA 2128 y la F₁ de Nor x LA 2128 (Tabla 3). Los valores de R y C se presentan en la Tabla 5. En el grupo formado por el cultivar Caimanta, LA 2128 y la F₁ procedente del cruce entre ellos, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) para ambas variables. Estos resultados se deben a la menor capacidad de regeneración expresada por el híbrido, ya que los progenitores no discreparon entre sí ($P > 0,05$). En el grupo formado por el cultivar Nor, LA 2128 y la F₁ procedente del cruce entre ellos, no se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) para ninguna de las variables. El comportamiento de estos híbridos, cuyo potencial morfogénico fue inferior al de sus progenitores, podría ser explicado por la existencia de interacciones diferenciales dependientes de los genotipos que se establecerían entre los genomas alejados evolutivamente de las especies (a diferencia de las especies compatibles, para las que las distancias genéticas son menores). Esto afectaría de distinta forma el comportamiento *in vitro* de los híbridos, en dependencia de la constitución genética de los progenitores. En el caso de la F₁ de Caimanta x LA 2128, se produciría la no complementación entre los genomas para la diferenciación, lo que no ocurriría en el caso de la F₁ de Nor x LA 2128, debido, posiblemente, a diferencias alélicas eventuales entre los cultivares Caimanta y Nor de *L. esculentum*. La no complementación entre genomas se manifestaría, principalmente, mediante la disminución de la capacidad de regeneración del híbrido F₁ (Caimanta x LA 2128) con respecto a los progenitores. Este hecho sería un factor limitante para micropropagar estos genotipos de difícil obtención.

Conclusiones

- Se encontraron diferencias entre las combinaciones de genotipos para obtener híbridos intra e interespecíficos de *Lycopersicon*.
- El cultivo *in vitro* de embriones inmaduros permitió obtener híbridos interespecíficos provenientes de cruzamientos que presentan incompatibilidad unilateral.
- La capacidad de regeneración *in vitro* de los híbridos intra e interespecíficos producidos por cruzamientos compatibles, resultó, en general, superior a la de las líneas progenitoras, mientras que en los cruzamientos que presentan incompatibilidad unilateral se observó una disminución en la capacidad de regeneración *in vitro* de los híbridos con respecto a los progenitores.

15. van Ripley L, Arnison PG. Hybridization of *Sinapis alba* L. and *Brassica napus* L. via embryo rescue. *Plant Breed* 1990; 104:26-33.

16. Pratta G, Zorzoli R, Picardi LA. Adaptation of *Lycopersicon* plants from *in vitro* culture. *Comun Biol* 1995; 13(4): 448.

17. Martin FW. The inheritance of self-incompatibility in hybrids of *Lycopersicon esculentum* Mill. x *L. chilense* Dun. *Genetics* 1961;46:1443-54.

18. Capellades M, Fontarnau R, Carulla C, Debergh P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue cultured *Rosa multiflora*. *J Amer Soc Hort Sci* 1990;115(1):141-5.

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