

FORMACIÓN DE CALLO A PARTIR DE DISCOS DE TUBÉRCULO DE PAPA

Callus formation from potato tuber disks

Carlos Espinosa Zapata¹, J. Jesús Figueroa Maldonado²,
Leticia Escobedo Bocardo³, M. Humberto Reyes Valdés³.

¹Campo Experimental Valle del Guadiana, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Apdo. P. 186. Durango, Dgo. México.

²Depto. de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. México. C.P. 25315

³Depto. de Fitomejoramiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. México. C.P. 25315

RESUMEN

Cuando en un sistema de cultivo de tejidos *in vitro* el explante se lleva a la dediferenciación, se generan callos. Bajo esta condición puede ocurrir una serie de cambios genéticos dentro de las células que conforman a los callos, denominándose a esto variación somaclonal. Tal variación resulta muy atractiva para el mejoramiento genético, pues hace factible la selección *in vitro* de características superiores a los cultivares originales.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar los medios nutritivos más adecuados para la formación de callos de diferentes genotipos de papa. Se partió de discos de tubérculo de los cultivares de papa Alpha, Norteña, Mondial y Clon AN-1; estos se sembraron en frascos de Gerber® que contenían los medios nutritivos: Engvild (1973), Murashige & Skoog (1962), Stantz & Steward (1959-B) y Lam (1975). Los explantes ya sembrados se colocaron en el cuarto de incubación a temperatura de 25°C y obscuridad por un período de 6 semanas. Después se evaluaron las siguientes características cuantitativas: peso fresco del callo, peso seco del callo y diferencia entre peso fresco y peso seco del callo. Las características cualitativas evaluadas fueron consistencia y color del callo.

Los resultados indican que se logró la inducción de callo con los cuatro medios nutritivos utilizados para los cuatro cultivares de papa, de los cuales sobresalió el Clon AN-1. En cuanto a los medios nutritivos, el de Engvild (1973) —conformado por sales inorgánicas de M/S (1962), vitaminas N & N, glicina, ANA y cinetina— produjo los mejores callos en cada uno de los genotipos probados. Finalmente, los discos de tubérculo

del Clon AN-1 que crecieron en el medio nutritivo de Engvild (1973) generaron los callos con mayor peso fresco y seco, así como de mejor consistencia y color.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, callo, peso fresco, peso seco, cultivares, medios de cultivo.

ABSTRACT

In vitro tissue culture systems that drive explants to undifferentiation produce the so-called callus. Under these conditions diverse genetic changes can occur in the cells, thus leading to somaclonal variation. Such variation is highly attractive to breeding programs since it makes possible in vitro selection of superior characteristics, as compared to the original cultivars.

The objective of this research was to determine the best culture media for callus generation in different potato genotypes. The starting materials were tuber disks from the cultivars Alpha, Norteña, Mondial and Clon AN-1; these were cultured in Gerber® bottles with the media Engvild (1973), Murashige & Skoog (1962), Stantz & Steward (1959-B), and Lam (1975). The explants in culture media were located in an incubation room at 25°C and darkness during six weeks. Afterwards, the following quantitative variables were evaluated: callus fresh weight, callus dry weight, and difference between fresh and dry callus weight. The recorded qualitative variables were callus consistency and color. The results

indicate that callus induction was successful with the four media and the four cultivars; among these the Clon AN-1 was outstanding. Medium Engvild (1973) —integrated by inorganic salts of M/S (1962), vitamins N & N, glycine, NAA, and kinetin— gave the best callus in all cultivars. Finally, the tuber disks of Clon AN-1 cultured in Engvild (1973) medium gave the callus with best fresh and dry weight, as well as with best consistency and color.

Key words: *Solanum tuberosum*, callus, fresh weight, dry weight, cultivars, culture media.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos es una de las ramas de la biotecnología que se debe aprovechar para elevar la productividad agrícola, ya sea incorporándola en los programas de mejoramiento genético o en la producción in vitro de cultivares sanos de alta calidad. Dentro del cultivo de tejidos, la generación de callos representa una de las formas por medio de la cual se pueden lograr beneficios a corto plazo, ya que es posible obtener plantas libres de virus, tolerantes a enfermedades, a herbicidas, a salinidad elevada o a sequía, así como para la obtención de metabolitos secundarios (Robert, 1985).

En mejoramiento genético, el cultivo de callos puede ser utilizado para aprovechar la variación somaclonal, ya que cuando las células vegetales se cultivan a partir de una fase callosa desorganizada, las plantas que se regeneran

pueden exhibir varios caracteres fenotípicos o bioquímicos distintos a los del material parental original (Lyndsey y Jones, 1989).

Con relación a lo anterior, Pieryk (1990) señala que para iniciar la formación de callos de un explante se recomienda el suministro de reguladores exógenos. Las exigencias de reguladores exógenos, dependen en gran medida del genotipo y de su contenido de reguladores endógenos. Estas necesidades en principio pueden ser solo auxinas, solo citocininas o auxinas y citocininas.

Según Devlin (1980), las auxinas en altas concentraciones suprimen la morfogénesis y dan por resultado la rápida proliferación de células tipo callo. En general, las auxinas son los reguladores de crecimiento más usados en la iniciación y mantenimiento del cultivo de callo, en concentraciones que generalmente oscilan de 0.1 a 10 mg/l. Con relación a esto, Po-jen y Ching-yeh (1985) reportan que para formación de callo en papa, el 2,4-D (2 mg/l) solo o combinado con AIA (3.2 mg/l) y cinetina (1.0 mg/l) fueron eficientes para inducir callo.

Por su parte, Aloni (1980) señala que los efectos sinérgicos de los reguladores de crecimiento pueden ser modificados por otros factores, como son los constituyentes del medio (azúcar, vitaminas, aminoácidos, etc.) y las condiciones físicas (iluminación, consistencia del medio etc.), aunque siempre se manifiesta como factor dominante el balance de los reguladores de crecimiento.

Quraishi *et al.* (1987) señalan que la iniciación de calogénesis con subsecuente organogénesis *in vitro* de varios explantes depende mucho de la

fisiología del tubérculo semilla, ya que la fisiología del tubérculo de papa acondicionada determina el grado de calogénesis, por lo que juegan un papel importante la edad y la temperatura de conservación.

El crecimiento de los callos relativamente indiferenciados puede cuantificarse de distintas maneras, pero normalmente se expresa como incremento del peso fresco, del peso seco o del número de células en un intervalo de tiempo (Lindsey y Jones, 1989).

Dodds y Roberts (1990) señalan que la medida de peso seco de un callo proporciona un aceptable estimador de la actividad biosintética de un cultivo; además en pesos frescos abajo de 500 mg la relación entre peso fresco y peso seco es aproximadamente lineal.

Por lo que respecta a variables de tipo cualitativo, Lindsey y Jones (1989) mencionan que en condiciones nutritivas y hormonales adecuadas, la morfología del callo puede describirse como friable o compacta. Al respecto, Barba (1994) señala que los callos varían según la apariencia externa, textura y composición celular, indicando que algunos callos son masas celulares compactas y duras, con células íntimamente unidas, mientras otras forman tejidos esponjosos con una gran cantidad de espacios intercelulares que varían en coloración, aún los derivados de la misma especie.

El objetivo del presente estudio fue determinar el medio nutritivo más adecuado en el cual cada uno de los cuatro cultivares utilizados forme callo con

características de friabilidad, y poder así desarrollar trabajos posteriores para aprovechar la variación somaclonal que pueda presentarse.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis de laboratorio

Para la realización de este estudio se utilizaron tubérculos de papa de los cultivares Alpha, Norteña, Clon AN-1 y Mondial. Estos cultivares variaron en su período de almacenamiento, peso y consistencia al momento de ser sembrados en los diversos medios nutritivos. Los tubérculos de la variedad Alpha fueron almacenados por dos meses, tuvieron un peso promedio de 100 g y su consistencia fue buena; la variedad Norteña se almacenó por dos años, pesó 56 g y tuvo buena consistencia; la variedad AN-1 tuvo cinco meses de almacenamiento, pesó 121 g y su consistencia fue buena; finalmente, la variedad Mondial tuvo un período de almacenamiento de dos años, pesó 50 g y su consistencia fue media. Todos estos materiales tuvieron buena sanidad y se conservaron a temperatura ambiente en un almacén acondicionado para este fin. Los medios de cultivo que se evaluaron para la formación de callo fueron:

- M-1 Engvild (1973) M&N
- M-2 Murashige & Skoog (1982)
- M-3 Stantz & Steward (1959-B)
- M-4 Lam (1975)

La formulación de los medios fue tomada de George *et al.* (1987) y se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición de los medios de cultivo utilizados para la inducción de callo (mg/l) (De George *et al.*, 1987)

Constituyentes	M1 (Engvild, 1973)	M2 Murashige & Skoog (1962)	M3 (Stantz & Steward, 1959)	M4 (Lam, 1975)
<u>Macronutrientes</u>				
KNO ₃	1900	1900	80	1900
NH ₃ NO ₃	1650	1650		1650
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	440		440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	370	360	370
Ca (NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	170	170		170
KCL			65	
NaH ₂ SO ₄ .2H ₂ O			61.5	
Na ₂ SO ₄			200	
<u>Micronutrientes</u>				
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	22.3	6.648	22.3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6	8.6	2.672	8.6
H ₃ BO ₃	6.2	6.2	1.5	6.2
KI	0.83	0.83	0.75	0.83
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.025	0.025		0.025
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.25		0.25
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025	0.025		0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85	27.85		27.85
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.25	37.25		37.25
Fe ₂ (SO ₄) ₃			2.5	
<u>Vitaminas</u>				
Myoinositol	100.0	100.0		100.0
Tiamina HCL	0.5	0.1	0.1	0.5
Ac. Nicotínico	5.0	0.5	0.5	5.0
Piridoxina HCL	0.5	0.5	0.1	0.5
Biotamina	0.05			0.05
Ac. Folico	0.5			0.5

Reguladores de crecimiento

2,4-D		2.0	6.0	3.0
Acido	8.0			
Naftalenacético				
Cinetina	0.5			
Agua de Coco		10 %	10 %	
<u>Aminoácidos</u>				
Glicina	2	2	3	
Proteína			500	1000
Hidrolizada				
SACAROSA	30000	30000	20000	30000
AGAR	7000	8000	8000	9000
pH	5.8	5.7	5.6	5.8

Los medios de cultivo se prepararon con agua desionizada, el pH se ajustó con NaOH y HCL al 1 y 0.1 N y se esterilizaron a una temperatura de 121 a 125 °C por espacio de 18 minutos.

Para la desinfección del material vegetativo los tubérculos utilizados fueron lavados con agua corriente y detergente comercial; posteriormente, se procedió a la desinfección en la campana de flujo laminar, para lo cual fueron colocados en alcohol al 70% por espacio de 30 segundos; se dejaron secar por 15 minutos y posteriormente, se colocaron en hipoclorito de sodio al 5% más dos gotas de Tween 20[®] por un espacio de 10 minutos y finalmente, se enjuagaron en agua estéril en tres ocasiones. Una vez desinfectado el material vegetativo y en condiciones de asepsia se procedió a eliminar la cutícula de los tubérculos con un bisturí; a continuación, se extrajeron cilindros de tejido con un sacabocados de 6 mm de diámetro, (eliminando 5 mm de los extremos del cilindro); después se hicieron cortes de discos de tubérculo de aproximadamente 3 mm de espesor.

Cada uno de los discos fue colocado en una caja de Petri con papel filtro estéril para eliminar el exceso de agua y finalmente se colocaron tres discos en cada frasco tipo Gerber® con 25 ml de medio nutritivo. Una vez hecha la siembra, los frascos se colocaron en el cuarto de incubación a una temperatura de 25°C por un espacio de seis semanas y en condiciones de oscuridad.

Variables Evaluadas

Se evaluaron las variables de tipo cuantitativo y de tipo cualitativo mencionadas por Lindsey y Jones (1989) y las señaladas por Pierik (1990), que son las siguientes: peso fresco de callo (p f c), peso seco de callo (p s c), diferencia peso fresco de callo – peso seco de callo (p f c - p s c), color, tamaño y consistencia. La evaluación de estas variables se hizo a las seis semanas de la siembra, para lo cual se extrajeron los callos y se pesaron en una balanza analítica con aproximación a diezmilésimas de gramo. El peso fresco de los callos se expresó en gramos (g) y se determinó inmediatamente después de extraer los callos del frasco donde fueron colocados con el medio de cultivo, cuidando de no incluir medio nutritivo. Para evaluar el peso seco, los callos se colocaron en una estufa a temperatura de 70°C por espacio de 72 horas, utilizando para ello la balanza analítica.

Además de variables de tipo cuantitativo, se realizó la evaluación de variables de tipo cualitativo que también son importantes en la formación de los callos. Tales variables son: color, consistencia y tamaño. Para la variable color, se

clasificaron desde callos de color blanco hasta callos de color café, pasando por cristalino y gris. Para consistencia, solamente se consideraron callos de dos tipos: suave y dura. Finalmente, para tamaño se utilizó una escala arbitraria de chico a muy grande.

Análisis Estadístico

Para este estudio se utilizó el diseño de completamente al azar con arreglo factorial y cinco repeticiones, donde el factor A correspondió a los cultivares y el factor B a los medios de cultivo.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \delta_{ijk}$$

Con: $i = 1, \dots, 4$ (cultivares)

$j = 1, \dots, 4$ (medios de cultivo)

$k = 1, \dots, 5$ (repeticiones)

Donde: Y_{ijk} = Variable aleatoria observable del i -ésimo cultivar con el j -ésimo medio de cultivo en la k -ésima repetición.

μ = Media general

α_i = Efecto del i -ésimo cultivar

β_j = Efecto del j -ésimo medio de cultivo

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción del i -ésimo cultivar en el j -ésimo, medio de cultivo

δ_{ijk} = Error experimental

Para la realización del análisis estadístico se consideró como una repetición el peso promedio de los tres callos formados en cada frasco. Las medias de los tratamientos fueron comparadas con la prueba de Tukey ($P < 0.01$) y los cálculos se realizaron con el programa Mstat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque se logró producir callo en los cuatro cultivares y con los cuatro medios nutritivos evaluados, los callos variaron en cuanto a sus características cuantitativas y cualitativas.

Cuadro 2. Análisis de varianza para formación de callo de cultivares de papa en los medios de cultivo probados

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios		
		Peso fresco de callo	Peso seco de callo	Diferencia pfc-psc
Factor A	3	11.077**	0.022**	10.124**
Factor B	3	8.978**	0.021**	8.161**
Interacción A x B	9	1.402**	0.001 NS	1.340**
Error	64	0.145	0.001	0.129
Total	79			
C. V.		27.09%	21.35%	28.08%

* significativo con $\alpha = 0.05$

** significativo con $\alpha = 0.01$

En el Cuadro 2 se presenta el análisis de varianza para las diferentes variables de tipo cuantitativo, donde se detectan diferencias altamente

significativas para todas las variables evaluadas. Sólo en el caso de peso seco, la interacción no reporta diferencia estadística. Los resultados indican que el comportamiento promedio de los medios de cultivo varió de un medio a otro; asimismo, se detecta que algunos cultivares tuvieron una mejor respuesta en ciertos medios nutritivos.

Cuadro 3. Prueba de Tukey para: peso fresco de callo, peso seco de callo y diferencia entre peso fresco y peso seco de callo de cuatro cultivares de papa

Cultivares	Peso fresco promedio de callo (g)	Peso seco promedio de callo (g)	Diferencia promedio pfc-psc (g)
AN-1	2.413 A	0.170 A	2.242 A
Norteña	1.485 B	0.119 AB	1.366 B
Alpha	1.012 BC	0.113 AB	0.899 BC
Mondial	0.708 C	0.092 B	0.616 C

Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.01$)

En el Cuadro 3 se presenta la prueba de Tukey ($\alpha=0.01$) para las diferentes variables evaluadas. En dicho cuadro se observa que en cuanto a peso fresco promedio de los callos y diferencia promedio (p f c - p s c), el cultivar AN-1 es estadísticamente superior al resto de los cultivares, le sigue el cultivar Norteña que es estadísticamente igual a Alpha pero superior al cultivar Mondial.

Por lo que respecta a peso seco de callo, se puede observar que el cultivar AN-1 es superior en forma numérica al resto de los cultivares, aunque en el aspecto estadístico es igual a Norteña y Alpha.

La diferente respuesta de los genotipos en los diversos medios de cultivo se relaciona con lo reportado por Pieryk (1990), quien menciona que las exigencias de reguladores exógenos dependen en gran medida del genotipo y de su contenido de reguladores endógenos; además Quraishi *et al.* (1987), señalan que la fisiología del tubérculo de papa acondicionada determina el grado de calogénesis, y que la edad y temperatura de conservación juegan un papel muy importante; por lo tanto, la superioridad del cultivar AN-1 puede deberse al cultivar mismo y a la condición fisiológica del explante al momento de la siembra, pues los tubérculos utilizados como fuente de explante de este cultivar tuvieron un período de almacenamiento de cinco meses. Esto tal vez permitió que la proporción de los reguladores endógenos combinara de mejor manera con los reguladores exógenos incluidos en los medios nutritivos que en el resto de los cultivares, en los cuales, para el caso de Alpha, el período de almacenamiento fue corto (dos meses) y en los otros dos cultivares fue muy largo.

Cuadro 4. Prueba de Tukey para peso fresco de callo (p f c.), peso seco de callo (p s c.) y p f c - p s c en diferentes medios de cultivo

Cultivares	Peso fresco promedio (g)	Peso seco promedio (g)	Diferencia p f c - p s c
M1	2.365 A	0.168 A	2.197 A
M2	1.237 B	0.107 B	1.130 B
M3	1.212 B	0.127 AB	1.085 B
M4	0.805 B	0.093 B	0.712 B

Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.01$)

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la prueba de Tukey para promedios de peso fresco, peso seco y diferencia entre peso fresco y peso seco de los callos que crecieron en los medios nutritivos usados. El medio M1 (Engvild, 1973) fue el que generó los callos con mayores pesos, tanto fresco y seco, así como el que dio la diferencia entre p f y p s más grande. El resto de los medios fueron similares entre sí y diferentes estadísticamente al M1.

De los cuatro medios nutritivos utilizados, al parecer, el M1 incluyó la proporción más adecuada de auxinas y citocininas: 8 mg de ANA y 0.5 mg de cinetina; el contenido de ANA en este medio nutritivo corresponde a la más alta concentración de auxina, además de contar con la acción de la citocinina. Lo anterior se apega a lo afirmado por Po-jen y Ching-yeh (1985), quienes mencionan que para la inducción de callo se requiere de una alta concentración de auxina y una citocinina, aunque esta última en baja concentración; también coincide con Devlin (1980), quien señala que la inducción y proliferación de callo requiere la adición de auxinas al medio. Esto teniendo en cuenta que la producción de callo está íntimamente relacionada con la concentración y tipo de auxinas, ya que las auxinas en altas concentraciones suprimen la morfogénesis y dan por resultado la rápida proliferación de células tipo callo en concentraciones que generalmente oscilan entre 0.1 y 10 mg/l.

Cuadro 5. Prueba de Tukey para el peso promedio de callo para las combinaciones cultivar-medio nutritivo

Tratamiento	Peso fresco Promedio (g)	Peso seco Promedio (g)	Diferencia p f c - p s c (g)
AN-1-M1	4.284 A	0.230 A	4.053 A
Norteña-M1	2.461 B	0.169 A B C	2.292 B
AN-1-M2	2.223 B C	0.182 A B	2.041 B
AN-1-M4	2.052 B C D	0.144 B C D E	1.908 B C
Norteña-M4	1.585 B C D E	0.106 C D E	1.480 B C D
Alpha-M1	1.485 C D E F	0.153 B C D	1.131 C D E
Alpha-M2	1.255 D E F G	0.126 B C D E	1.129 C D E
Mondial-M1	1.229 D E F G	0.118 B C D E	1.111 C D E
AN-1-M3	1.092 E F G	0.125 B C D E	0.967 D E
Norteña-M3	1.069 E F G	0.101 C D E	0.969 D E
Norteña-M2	0.824 E F G	0.103 C D E	0.722 D E
Alpha-M4	0.769 E F G	0.096 D E	0.673 D E
Mondial-M2	0.545 G	0.097 D E	0.448 E
Alpha-M3	0.540 G	0.075 E	0.465 E
Mondial-M4	0.540 G	0.081 D E	0.465 E
Mondial-M4	0.519 G	0.072 E	0.447 E

Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.01$)

En cuanto a la combinación cultivar - medio de cultivo (Cuadro 5), la prueba de Tukey detectó que para las variables peso fresco de callo y diferencia entre peso fresco de callo y peso seco de callo, la combinación del cultivar AN-1 con M1 fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos; le siguen las combinaciones Norteña x M1, AN-1 x M2, AN-1 x M4 y Norteña x M4, las cuales fueron similares entre sí. El cultivar Alpha respondió igual en los medios M1, M2 y M4, mientras que el comportamiento del cultivar Mondial fue el mismo en los cuatro medios de cultivo, aunque el mayor peso fresco de callo se logró en M1.

También se puede observar que el comportamiento de los tratamientos

superiores mantiene casi el mismo orden tanto en peso fresco de callo como de peso seco, lo cual coincide con lo expresado por Dodds y Robert (1990), en el sentido de que la relación de peso fresco y peso seco es aproximadamente lineal.

De acuerdo con lo anterior, los cuatro cultivares respondieron mejor en M1, pero fue en la combinación AN-1-M1 donde se logró el mayor peso fresco de callo, mayor peso seco de callo, y mayor diferencia $p f - p s c$, indicando con ello que tanto el genotipo como la combinación de reguladores endógenos y exógenos de auxinas/citocininas lograron producir los mayores pesos de callo. Lo anterior coincide en cierta forma con lo reportado por Devlin (1980), ya que señala que las auxinas en altas concentraciones suprimen la morfogénesis y dan como resultado la rápida proliferación de células tipo callo, y que aunque la adición de auxina es suficiente para la formación de callo, debe agregarse cinetina al medio, aunque en bajas concentraciones, para apoyar la proliferación de callos sanos.

Cuadro 6. Variables evaluadas en los diferentes tratamientos

Tratamientos	P. fresco(g)	P. seco (g)	p f-p s (g)	Color	Tamaño	Consistencia
Alpha-M1	1.485	0.153	1.131	Blanco	Grande	Suave
Alpha-M2	1.234	0.127	1.107	Cristalino	Grande	Suave
Alpha-M3	0.540	0.075	0.465	Café	Chico	Dura
Alpha-M4	0.769	0.096	0.673	Cristalino	Chico	Suave
Norteña-M1	2.461	0.169	2.292	Cristalino	Grande	Suave
Norteña-M2	0.824	0.103	0.722	Cristalino	Mediano	Suave
Norteña-M3	1.609	0.101	0.969	Cristalino	Chico	Suave
Norteña-M4	1.585	0.106	1.480	Cristalino	Mediano	Suave
AN-1-M1	4.284	0.230	4.053	Cristalino	Muy grande	Suave
AN-1-M2	2.223	0.182	2.041	Cristalino	Grande	Suave
AN-1-M3	1.092	0.125	0.966	Café	Chico	Dura

AN-1-M4	2.052	0.144	1.908	Cristalino	Mediano	Suave
Mondial-M1	1.229	0.118	1.111	Blanco	Grande	Suave
Mondial-M2	0.545	0.096	0.403	Cristalino	Chico	Dura
Mondial-M3	0.519	0.071	0.579	Café	Chico	Dura
Mondial-M4	0.539	0.081	0.457	Cristalino	Chico	Suave

En el Cuadro 6 se presenta el total de variables evaluadas. En dicho cuadro se aprecia que el tratamiento AN-1-M1 reúne las características que debe poseer un callo friable como son color cristalino, consistencia suave y buen tamaño; lo cual se refleja en el peso fresco y el peso seco. Los cuatro cultivares evaluados respondieron mejor al medio M1, ya que en este medio presentaron el mayor tamaño y las características de un callo friable. Con excepción del cultivar Norteña, el resto de los cultivares presentó una consistencia dura en M3; en la mayoría de los casos esta característica se observa asociada con el tamaño chico y el color café, excepto en el tratamiento Mondial-M2 cuya coloración es gris.

La diferencia de peso fresco de callo - peso seco de callo está dada por la cantidad de agua acumulada en el callo fresco. En el Cuadro 6 se puede observar que los cuatro tratamientos considerados como callos de consistencia dura (Alpha-M3, AN-1-M3, Mondial-M2 y Mondial-M3), se encuentran entre los siete tratamientos con las menores diferencias ($pfc - psc$), pudiéndose inferir que los callos que acumularon menor cantidad de agua fueron poco friables.

De acuerdo con la descripción que Lindsey y Jones (1989) hacen para un callo friable, la mayoría de los cultivares en los diversos medios, poseen estas

características (suaves y de coloración cristalina), excepto los cultivares AN-1 y Alpha cuando crecieron en M3 y Mondial cuando creció en M2 y M3.

La respuesta diferencial de los cultivares en los diferentes medios de cultivo se debe a las características genéticas de cada uno de ellos, y a la condición fisiológica de la fuente del explante. Como se mencionó, el tiempo de almacenamiento de los tubérculos de los diversos cultivares fue muy variable, además de los nutrientes contenidos en los medios de cultivo, especialmente la concentración de reguladores de crecimiento.

Como se aprecia en el Cuadro 6, el medio nutritivo M1, que incluyó una auxina y una citocinina (ANA y Cinetina), fue el que produjo los mejores callos, considerando tanto las características cuantitativas como cualitativas. El resto de los medios incluyeron sólo una auxina (2,4-D), en diferente concentración.

CONCLUSIONES

Aunque se logró inducir la formación de callo en los cuatro cultivares utilizados, cultivares Alpha, Norteña, Mondial y Clon AN-1, fue este último el que produjo los callos de mayor peso y con mejores características de friabilidad; de aquí que se considera un buen cultivar para formación de callo en papa. Sin embargo, no debe descartarse el efecto del estado fisiológico del explante.

El medio Engvild resultó ser el más adecuado para formar callos, especialmente en combinación con el Clon AN-1. La causa principal de esta superioridad parece ser la presencia de cinetina como regulador de crecimiento.

LITERATURA CITADA

- Aloni, R. 1980. Role of auxin and sucrose in the differentiation of sieve and tracheary elements in plant tissue cultures. *Planta*. 150:255-263.
- Barba, A. A. 1994. Cultivo de callos. In: *Cultivo de tejidos vegetales* (pp. 93-97). Hurtado, M. D. y Ma. E. Merino M. (Eds). Trillas, México, D. F.
- Devlin, R. M. 1980. *Fisiología vegetal*. Omega. Barcelona, España.
- Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1990. *Experiments in plant tissue culture*. Cambridge University Press, Crambridge, U. S. A.
- George, E. F., D. J. M. Puttock and H. J. George. 1987. *Plant culture media. Formulations and uses*. Exegetics Limited. England.
- Lindsey, K. y M. G. K. Jones. 1989. *Bioteología vegetal agrícola*. Acribia, S. A., Zaragoza, España.
- Pierik, R. L. M. 1990. *Cultivo in vitro de plantas superiores*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid España.
- Po-jen, W. and H. Ching-yeh. 1985. Callus culture (pp. 512-518). In: *Potato physiology*. Li, P. H. (Ed). Academic Press.

- Quraishi, A., I. John., L. Rossignol and R. Nozeran. 1987. Effect of the origin of explant on callus initiation and differentiation in potato (pp. 243-255). In: Biotechnology in agriculture and forestry. Bajaj, Y. P. S. (Ed). Springer-Verlag, Germany.
- Robert, M. L. 1985. El potencial del cultivo *in vitro* de células vegetales en el mejoramiento genético de las plantas (pp. 89-97). En: El cultivo de tejidos vegetales en México. Robert, M. L. (Ed). Conacyt, México.