

PROPAGACIÓN *in vitro* DE PAPA RATONA (*Oxalis tuberosa* Mol.)

J. M. Mejía-Muñoz¹; S. González-Castillo;
R. Mora-Aguilar; J. E. Rodríguez-Pérez

Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México.
C.P. 56230. MÉXICO. Correo-e: jmerced58@hotmail.com (¹Autor responsable)

RESUMEN

Con el propósito de determinar un sistema de propagación *in vitro* de *Oxalis tuberosa* Mol., se sembraron yemas axilares y apicales de brotes de tubérculos, en un medio MS con 1 mg-litro⁻¹ de benciladenina (BA), al que se agregó 0, 0.1 y 1.0 mg-litro⁻¹ de ácido naftalenacético (ANA). Las condiciones de incubación fueron: fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 26 °C e intensidad de luz de 90 mmol·m⁻²·s⁻¹. La combinación 1:1 de ANA:BA produjo una tasa de multiplicación de NUEVE brotes por explante. A los 31 días después de la siembra se observó la presencia de brotes vigorosos con capacidad de enraizamiento y longitud promedio de 3 cm. Se produjeron callos en la parte basal del explante a los 56 días después de la siembra, favorecidos por la mayor proporción de ANA, con apariencia desde verde blanquecino, hasta rosado, con textura friable o compacta, pero no se observó organogénesis sobre ellos. Los brotes obtenidos fueron transferidos al medio de enraizamiento MS con 0.5 mg-litro⁻¹ de ácido indolbutílico (AIB), lo cual ocurrió 15 días después. El período de micropropagación fue de 155 días.

PALABRAS CLAVES ADICIONALES: yemas, medio de cultivo, micropropagación, brotes.

in vitro PROPAGATION OF OCA (*Oxalis tuberosa* Mol.)

ABSTRACT

With the aim of determining an *in vitro* propagation system for *Oxalis tuberosa* Mol., sowed axillary and apical buds of tuber sprouts in an MS medium, with 1 mg-liter⁻¹ of bencyladenine (BA) added with 0, 0.1 and 1.0 mg-liter⁻¹ of naphtalenacetic acid (ANA). Incubation conditions included a 16-hour photoperiod, at a temperature of 26 °C, and a light intensity of 90 mmol·m⁻²·s⁻¹. The combination of 1:1 of ANA:BA resulted in a multiplication rate of nine sprouts per explant. Thirty one days after seeding, we observed vigorous sprouts with the ability to produce roots and an average length of 3 cm. Calli at the base of the explant were produced 56 days after seeding, favored by a higher proportion of ANA, with a pale-green to pink appearance and friable or compact texture; but no organogenesis was observed. Sprouts obtained were transferred to an MS root-promoting medium with 0.5 mg-liter⁻¹ of indolebutylic acid (AIB), causing roots to appear 15 days later. The micropropagation period lasted 155 days.

ADDITIONAL KEY WORDS: buds, culture medium, micropropagation, sprouts.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto agronómico *Oxalis tuberosa* Mol., conocida en México como papa ratona o papa roja, es un cultivo de origen andino que presenta alto potencial para su desarrollo en el país, principalmente en las áreas templadas, debido a que tiene similar o mayor rendimiento de tubérculos en comparación con la papa (*Solanum tuberosum* L.), con mayor resistencia a plagas y enfermedades y a bajas temperaturas; además, su valor nutrimental y contenido de carbohidratos ubican a esta especie como el segundo cultivo

andino más importante después de la papa (Flores *et al.*, 2002).

Como todas las especies de propagación vegetativa, durante su desarrollo presenta síntomas de enfermedades sistémicas, las cuales si no son combatidas correctamente, terminan por eliminar a la planta, además de diseminar el problema, por lo que es necesario, al igual que en el cultivo comercial de papa, establecer protocolos de producción de semilla-tubérculo certificada libre de enfermedades, que necesariamente deben pasar por un esquema de

micropropagación, el cual de manera adicional, puede ser aplicado en aspectos de mantenimiento de colecciones, evaluación de la diversidad biológica, eliminación de virus, sistemas de propagación de material sano, selección de materiales uniformes y con calidad, técnicas de producción de semillas e investigación en transmisión de enfermedades de papa ratona a papa y viceversa (Estrada *et al.*, 1896; Khan *et al.*, 1988).

En términos generales, existen dos factores fundamentales que determinan el éxito del cultivo de células, tejidos y órganos: el tipo de inóculo inicial y el medio del cultivo (Roca *et al.*, 1978). Stace-Smith y Mellor (1968), encontraron que la fórmula de Murashige y Skoog (1962), (medio MS) favorece la supervivencia y tasa de desarrollo de inóculos de las especies de papa; el medio está caracterizado por altas concentraciones de iones potasio y amonio y de I-inositol. El incremento de las concentraciones de estos elementos, es decisivo para el cultivo de meristemas apicales de papa, los cuales desarrollan plántulas más vigorosas que con los medios anteriormente usados (Mellor y Stace-Smith, 1977).

Los requerimientos nutricionales, para el desarrollo y crecimiento de ápices de tallos *in vitro*, varían con el tamaño del inóculo, el uso planeado del cultivo y el genotipo de las plantas. Las sustancias hormonales decisivas son auxinas y citocininas (Wang y Huang, 1974).

La acción principal de las auxinas en el cultivo *in vitro* de tejidos, es la estimulación celular y el desarrollo de callos. La función de las citocininas se traduce en provocar también la división celular y, además, regular la diferenciación de los tejidos cultivados. Las auxinas y citocininas dan lugar a expresiones del desarrollo y crecimiento. En general, cuando la concentración de citocininas es menor que la de auxinas, se produce desarrollo de raíces, pero cuando la cantidad de citocininas es mayor que la de auxinas, se desarrollan yemas adventicias (Mellor y Stace-Smith, 1977).

Recientemente, Fletcher y Fletcher (2001), han establecido un protocolo *in vitro* que incluye terapia química y calor para la eliminación de tres virus presentes en tubérculos introducidos a Nueva Zelanda (Arracacha virus B, Papaya mosaic virus y Ullucus mild mottle virus) que emplea ápices de 1.0 cm de longitud cultivados en un medio MS sin reguladores de crecimiento. Adicionalmente, Pomar (2004), tomando como base brotes micropropagados en un medio de MS adicionado con ácido giberélico (AG_3), ANA y bencilamino purina (BAP), propone un método de producción de microtubérculos *in vitro* empleando un medio de White en combinación con 0.1 o 0.25 ppm de BAP y 200 ppm de (CCC). Finalmente, Bais *et al.* (2003), han abierto un campo muy impresionante para la producción de compuestos de amplio espectro de actividad antimicrobiana en el suelo, a partir de exudados de raíces de *Oxalis tuberosa* Mol. transformadas con *Agrobacterium rhizogenes* portadoras del

gen rol A y que fueron obtenidas en un protocolo de cultivo *in vitro* de hojas cultivadas en un medio MS sin reguladores de crecimiento.

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue establecer un sistema de micropropagación *in vitro* de *Oxalis tuberosa* Mol. (papa ratona o papa roja).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron explantes de brotes de tubérculos de *O. tuberosa* Mol., seleccionados de agricultores de la zona de Perote, Veracruz. El medio de cultivo básico utilizado fue el de Murashige y Skoog (1962), complementado con tiamina $0.4 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$, ácido nicotínico $1 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$, riboflavina $1 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$, inositol $100 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ y 3.0 % de sacarosa; el pH se ajustó a 5.7. Posteriormente fueron agregados los reguladores de crecimiento BA y ANA en las concentraciones correspondientes a los tratamientos sujetos de estudio: T1: BA $1.0 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$; T2: BA $1.0 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ + $0.1 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de ANA; T3: BA $1.0 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ + $1.0 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de ANA. Para la fase de enraizamiento se utilizó el mismo medio de cultivo (MS) al que solamente se le adicionó $0.5 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de AIB.

La incubación se llevó a cabo dentro de una cámara de ambiente controlado, con un fotoperíodo de 16 h luz y 8 de oscuridad, una intensidad lumínica de $90 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y temperatura de $26 \text{ }^\circ\text{C}$.

El primer trasplante a medio nuevo se efectuó a los 47 días después del establecimiento. El segundo trasplante se realizó a los 85 días y dado el desarrollo de explantes, en cuanto a número y longitud de brotes, éstos fueron divididos y transplantados en frascos de cristal tipo "gerber", colocando cuatro segmentos de brotes por frasco. Cuando se contó con brotes de 2 a 3 cm de longitud, éstos fueron transplantados para enraizamiento en el medio básico de MS adicionado con $0.5 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de AIB. Las condiciones de incubación fueron las mismas que en la fase de multiplicación.

El registro de las variables respuesta se realizó en cinco momentos; la primera correspondió a los 31 días después de establecido el experimento y, posteriormente, cada siete días (38, 45, 52 y 59 dde). Las variables evaluadas para la micropropagación fueron: número de brotes (NB) presentes por explante; longitud de brotes (LB en mm), determinado desde su base hasta su extremo distal; presencia de callo, que se determinó una vez que se formó una protuberancia visible sobre el explante; tamaño de callo (TC), que se midió con una escala relativa visual que comprendía los números del 1 (pequeño) hasta el 10 (grande); tipo de callo, donde se consideraron dos categorías: compacto y friable. El callo compacto tuvo la apariencia de un conglomerado sólido, en tanto un callo friable mostró una capa similar a algodón en su superficie.

En la fase de enraizamiento sólo se determinó visualmente la presencia de raíces y su longitud se midió de manera aproximada, por fuera del frasco, mediante el uso de una regla graduada; a estas variables no se les realizó análisis estadístico.

El análisis de la información se basó en pruebas no paramétricas de acuerdo con la naturaleza de los caracteres evaluados por no tener distribución normal.

Para las variables NB, LB, TC se usó la prueba de Kruskal y Wallis, basada en la asignación de rangos para comparar muestras independientes, utilizando ajustes por empates bajo un diseño experimental completamente al azar (Infante y Zárate, 1984). Posteriormente se efectuó la comparación múltiple de rangos basada en la suma de promedios rangos de acuerdo con la prueba utilizada (Hollander y Wolfe, 1973).

Fue calculada la frecuencia de callos (p) y aplicada una comparación de dos proporciones binomiales (Infante y Zárate, 1984), por pares de tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 aparecen los resultados de la prueba estadística de Kruskal y Wallis utilizada para detectar diferencias entre efectos de tratamientos. El tamaño de callo (TC) presentó diferencias estadísticas a partir de los 38 días después de la siembra de inóculos; en el número de brotes por tubo (NB) no se detectaron diferencias por efecto de los tratamientos probados, en tanto que la longitud de brote promedio por tubo (LB), sólo presentó diferencias a los 31 y 59 días después de la siembra.

CUADRO 1. Estadístico T de Kruskal Wallis² para efecto de tratamientos en tres caracteres de *O. tuberosa* Mol. evaluados en cinco fechas.

Variable	Días después del establecimiento				
	31	38	45	52	59
TC	2.90	13.8*	10.15*	11.11*	6.42*
NB	4.33	2.15	1.40	2.14	2.0
LB	11.72*	4.22	2.44	0.58	17.7*

²H₀: $\tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_j$, $i \neq j$
*Significativo a una $P \leq 0.05$; (χ^2_{α})

Los promedios de los caracteres evaluados en los cinco registros realizados y los resultados de la comparación múltiple de rangos de acuerdo a Hollander y Wolfe (1973), se muestran en los Cuadros 2, 3 y 4; aparece, además, la frecuencia de repeticiones en cada uno de los registros. En el caso del número de brotes (NB) y de la longitud de brotes (LB) por tubo, debido a la contaminación de unidades experimentales, las cuales fueron eliminadas inmediatamente, la frecuencia es variable; así, en los tratamientos con 0 y 0.1 mg·litro⁻¹ de ANA, las reducciones por contaminación fueron considerables, del orden del 65 y 54 %, respectivamente, en la última evaluación; en contraste, el T3 de (1.0 mg·litro⁻¹ de ANA) sólo tuvo reducción del 17 % por efecto de la contaminación.

La tasa de multiplicación osciló entre 1.4 y 12.0 brotes por explante; pero sólo se mostró diferencias significativas a los 59 días (Cuadro 2), donde el T1 (sin ANA) tuvo el mayor número de brotes por tubo (12.0) siendo igual al T3 (1.0 mg·litro⁻¹ de ANA) (9.0) (Figura 1A y 1B).

Moreira *et al.* (1999), determinaron en diferentes especies que la presencia de altas concentraciones de ANA inhiben la brotación de yemas, respuesta que es afectada, además por las condiciones de incubación y la presencia de BA, la que a su vez afecta la brotación de yemas, de ahí que la ausencia de ANA pudo provocar una tendencia a producir mayor número de brotes. En contraposición, la adición de esta auxina (T2 y T3) causó menor emisión de brotes en los explantes sobrevivientes. También se observó un incremento de tipo exponencial en cuanto al NB lo que es característico de estos trabajos.

La concentración de BA aplicada en los tratamientos evaluados, fue suficiente para garantizar la brotación y multiplicación adecuada de *O. tuberosa*; esto implica, en parte, que los niveles endógenos de la yema son suficientes para actuar sinérgicamente con la BA. De acuerdo con Skoog y Miller (1957), la combinación de auxinas y citocininas juega un papel importante en los procesos de desarrollo de brotes. Concentraciones similares de BA, entre 0.5 y 1.0 mg·litro⁻¹, solos y en combinación de las auxinas ANA o AIA, son adecuados para garantizar la multiplicación a partir de yemas de plantas como clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) y crisantemo (*Chrysanthemum x morifolium*

CUADRO 2. Comparaciones múltiples de rangos entre tratamientos en número de brotes *in vitro* de *O. tuberosa*.

Trat	Días después del establecimiento									
	31		38		45		52		59	
	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec
T1	2.1 a ²	100	3.6 a	92	7.0 a	78	7.8 a	78	12.0 a	35
T2	1.4 a	100	2.4 a	93	4.4 a	93	6.9 a	73	7.2 b	46
T3	2.3 a	100	3.3 a	100	6.0 a	88	6.3 a	88	9.0 ab	83

²Valores con la misma letra son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de rangos a una $P \leq 0.05$.

Ramat) (Cervantes, 1996).

En el caso de la longitud del brote (LB) se detectaron diferencias estadísticas en la última semana, del estudio (Cuadro 3), cuando los tratamientos adicionados con ANA, tuvieron efecto favorable. En este caso, la adición con 1.0 mg-litro⁻¹ de ANA (T3), tuvo mayor efecto al alcanzar longitud promedio de 2.5 cm, con brotes de coloración verde intenso, mayor grosor y, en general, más vigorosos y de apariencia más uniforme con respecto a los otros tratamientos (Figura 1A y 1B).

Lo anterior coincide con los resultados de Stace-Smith y Mellor (1968), quienes observaron que el medio MS favoreció la supervivencia y tasa de desarrollo de inóculos de especies de papa, debido a altas concentraciones de iones de potasio, amonio e inositol, junto con altas cantidades de ANA. Es decir, tanto los componentes del medio de cultivo como el tipo de regulador de crecimientos empleado, repercuten directamente en el abastecimiento de nutrientes y sustancias necesarias para el desarrollo de células, tejidos u órganos (Roca *et al.*, 1978), de ahí que ésta sea la causa de la respuesta obtenida en el T3, con la mayor concentración de la auxina (Cuadro 3).

En cuanto al tamaño de callo (TC), la frecuencia de unidades experimentales varió como consecuencia de la eliminación de explantes contaminados. Nuevamente, el tratamiento de 1.0 mg-litro⁻¹ de ANA mantuvo la mayor frecuencia al finalizar la prueba, con 77 % de explantes viables (Cuadro 4); además, en este tratamiento el tamaño de callo tuvo ligero aumento en el tercer registro (45 dde), aunque no significativo; sin embargo, a los 52 y 59 dde superó estadísticamente a los otros tratamientos. Lo anterior implica que la dosis alta de ANA tiene efecto favorable en el desarrollo del callo, aunque las ventajas son expresadas posterior a

los 45 días después de la siembra (Figura 1B y 1C).

El desarrollo relativamente bajo de callo en el T1, sin auxinas, refleja un contenido basal endógeno de éstas. La adición de 0.1 mg-litro⁻¹ de ANA; (T2), aunque expresó incremento apreciable en el tamaño de callo por explante, éste fue similar al observado en el T1 por lo que no se observan diferencias estadísticas; finalmente, el T3, con 1.0 mg-litro⁻¹ de ANA, mostró el máximo tamaño (5.35), que corresponde a un tamaño medio en la escala de medición empleada.

Hasta el día 85 en el cual se realizó el trasplante al medio de enraizamiento, no se observó morfogénesis radical ni foliar en los callos desarrollados.

A partir del día 31 se observó la presencia de callos en 88 y 66 % de los explantes, en los dos tratamientos complementados con ANA, en tanto el T1, sólo presentó el 7 % (Cuadro 5).

CUADRO 5. Comparaciones de frecuencias de presencia de callos en explantes de *Oxalis tuberosa* Mol. para tratamientos evaluados.

Trat.	31 dde	38 dde	45 dde	52 dde	57 dde
0	0.07 b ^z	0.15 b	0.18 b	0.21 b	—
0.1	0.66 a	0.80 a	0.85 a	0.73 a	0.71 a
1.0	0.88 a	0.94 a	0.83 a	0.93 a	0.93 a

^zValores con la misma letra dentro de cada columna indica proporciones estadísticamente iguales de acuerdo (pruebas de hipótesis sobre parámetros p de la distribución binomial).

La falta de ANA en el medio redujo el desarrollo de callos, lo que permitió una frecuencia del 21 % a los 52 días después de la siembra de inóculos, con un tamaño mínimo.

CUADRO 3. Comparaciones múltiples de rangos en longitud de brotes de *O. tuberosa* Mol. para tratamientos evaluados.

Trat.	31 dde		38 dde		45 dde		52 dde		59 dde	
	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec
T1	0.5 a ^z	100	0.7 a	92	0.8 a	78	1.1 a	78	1.1 b	35
T2	0.3 a	100	0.4 a	93	0.7 a	93	1.0 a	77	1.8 b	46
T3	0.4 a	100	0.7 a	100	1.2 a	88	1.6 a	88	2.5 a	83

^zValores dentro de cada columna con la misma letra son iguales estadísticamente, de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de rangos, $P \leq 0.05$.

CUADRO 4. Comparaciones múltiples de rangos en tamaño de callo de *O. Tuberosa* Mol. para tratamientos evaluados.

Trat.	31 dde		38 dde		45 dde		52 dde		59 dde	
	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec.	Prom	Frec
0	1.00 a ^z	7	1.5 a	14	2.5 a	14	1.5 ab	14	0.00 c	0
0.1	2.30 a	66	2.0 a	80	2.3 a	80	1.8 b	53	2.20 b	33
1.0	3.06 a	88	3.8 a	94	5.0 a	83	4.9 a	83	5.35 a	77

^zValores dentro de cada columna con la misma letra son iguales, de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de rangos, $P \leq 0.05$.

Así, la concentración endógena de esta auxina no fue suficiente para garantizar el desarrollo de estas estructuras; sin embargo, siete días después en todos ellos ocurrió contaminación, por lo que al final del estudio en este tratamiento no se informa la formación de callos.

Al aplicar ANA al medio de cultivo (0.1 y 1.0 mg·litro⁻¹) la respuesta anterior fue superada estadísticamente, y aunque no hubo efectos significativos entre estas concentraciones, numéricamente se favoreció la formación de callos al aumentar la concentración, con resultados finales del 93 % de frecuencia en las unidades experimentales.

No obstante que el tratamiento adicionado con 1.0 mg·litro⁻¹ de ANA (T3), promovió mayor longitud de brote y tamaño de callo, la ausencia de ANA, mostró mayor número de brotes por explante (aunque no en forma significativa), con desarrollo pobre de estos. Lo anterior implica, debido al número de brotes producidos, que el T1 puede ser útil para promover el proceso morfogénico.

Moreira *et al.* (1999), determinaron en otra especie que la presencia de BA inhibe la formación de callos, por lo cual en el presente estudio se esperaba que en presencia de BA (1 mg·litro⁻¹) y ausencia de ANA, no hubiese desarrollo de callos; sin embargo, hubo formación de éstos, lo cual podría ser atribuido a niveles endógenos del explante, aunque no suficientes para el adecuado desarrollo de callos.

Con respecto al resto de las variables, un aumento en el TC estuvo asociado con un menor número de brotes y una mayor longitud de éstos, mientras que un tamaño de callo pequeño se asoció con un número mayor de brotes de menor tamaño, situación reflejada en los tratamientos evaluados.

En cuanto a la apariencia de los callos se observaron tonalidades que varían desde rosado hasta blanquecino y combinaciones de éstas; incluso, en el periodo inicial de desarrollo del callo hubo tonalidades rosadas como consecuencia del color rojo intenso del tubérculo, yema o brote antes de ser inoculados; algunos brotes desarrollados *in vitro* mantuvieron estos colores.

Se pudieron detectar dos tipos de callos: friables y compactos (Cuadro 6). El primero de ellos con células más blanquecinas y disgregadas, con menores posibilidades de regeneración de raíces y brotes, el cuerpo de los callos compactos fue más sólido, de color generalmente verdoso y con mayor capacidad morfogénica; sólo en el segundo registro no se observaron diferencias estadísticas en la textura de callo. El tratamiento sin ANA (T1), al final del experimento produjo únicamente callos compactos, por lo que, desde el punto de vista de diferenciación de órganos, ventajas al tener mayor probabilidad de obtención de brotes; sin embargo, la producción de explantes con callo es reducida.

Los tratamientos T2 y T3 presentaron tanto callos compactos como friables hasta el tercer registro; en el cuarto (52 dde) y quinto registro (59 dde), el tratamiento con 0.1 mg·litro⁻¹ de ANA (T2) produjo únicamente callos compactos, en tanto que el T3, con una mayor proporción de esto (1.0 mg·litro⁻¹), tuvo mayor porcentaje de callos friables, lo cual reflejó claramente el efecto sinérgico de la auxina junto con la BA.

La fase de enraizamiento se realizó a los 145 días del ensayo y se aplicó a los tres tratamientos, el resultado de este proceso fue exitoso ya que aproximadamente, a los 15 días, el 80 % de todos los explantes sembrados había enraizado; éstas fueron abundantes y con longitud promedio de 1.0 cm, muy vigorosas y numerosas como para transplantar las plántulas a condición de invernadero en esta etapa de desarrollo (Figura 1E).

CONCLUSIONES

El mejor esquema de multiplicación para *Oxalis tuberosa* Mol. incluye el medio de Murashige y Skoog (1962) adicionado con 1.0 mg·litro⁻¹ de BA y 1.0 mg·litro⁻¹ de ANA en la etapa de multiplicación.

La mayor tasa de multiplicación fue de 12 brotes por explante, con producción de callos compactos, lo cual ocurrió en el medio MS adicionado solamente con 1.0 mg·litro⁻¹ de BA.

CUADRO 6. Comparaciones de frecuencias de tipo de callos (friables y compactos) en explantes de *Oxalis tuberosa* Mol. para los tratamientos evaluados.

Trat	31 días		38 días		45 días		52 días		59 días	
	COM	FRI	COM	FRI	COM	FRI	COM	FRI	COM	FRI
1	1.0 a ²	0.0 b	0.84 a	0.16 a	1.0 a	0.0 b	1.0 a	0.0 b	1.0 a	—
2	0.41 b	0.59 a	0.5 a	0.5 a	0.75 a	0.25 b	1.0 a	0.0 b	1.0 a	0.0 b
3	0.4 b	0.6 a	0.9 a	0.1 a	0.14 b	0.86 a	0.14 b	0.86 a	0.22 b	0.78 a

²Valores con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de rangos a una $P \leq 0.05$

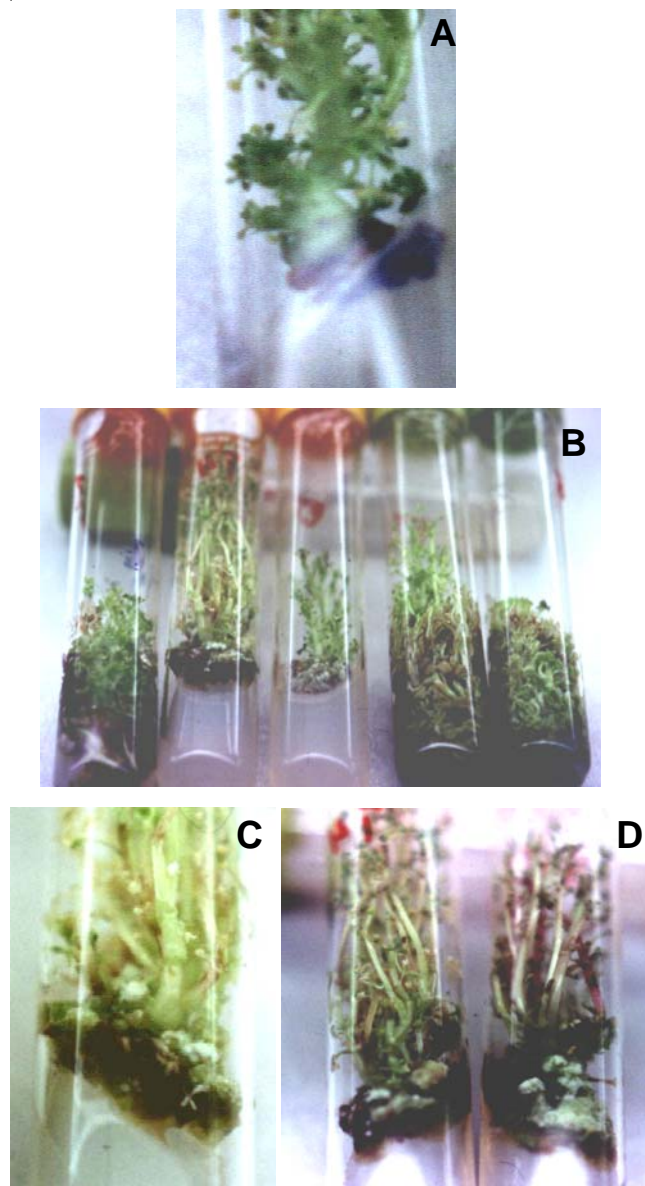


FIGURA 1. Morfogénesis de papa ratona (*Oxalis tuberosa* Mol.). A y B, formación de brotes a partir de ápices y yemas axilares; C y D, formación de callo en la base de los brotes desarrollados.

El enraizamiento de brotes ocurrió en el medio MS con $0.5 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de AIB y en un periodo de 15 días.

El esquema de multiplicación y enraizamiento ocurrió en un período de 155 días.

LITERATURA CITADA

- BAIS, H. P.; VEPACHEDU, R.; VIVANCO, J. M. 2003. Root specific elicitation and exudation of fluorescent of B-carbolines in transformed root cultures of *Oxalis tuberosa*. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 345-353.
- CERVANTES C., F. 1996. Regeneración *in vitro* de yemas adventicias a partir de estructuras de aster, crisantemo y clavel. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia, Chapingo, México. 47 p.
- ESTRADA R.; TOVAR P.; DODDS, H. 1986. Induction of *in vitro* tubers in a range of potato genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 7:3-10.
- FLETCHER, P. J.; FLETCHER, J. D. 2001. *In vitro* virus elimination in three andean root crops: oca (*Oxalis tuberosa*), ulluco (*Ullucus tuberosus*), and arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). *New Zealand Journal of Crop Horticultural Science* 29: 23-28.
- FLORES E., H.; WALKER, T. S.; GUIMARAES, R. L.; BAIS, H. P.; VIVANCO, J. M. 2002. Andean root and tuber crops: underground rainbows. *HortScience* 38: 161 – 167.
- HOLLANDER, M.; WOLFE, D. A. 1973. Nonparametric statistical methods. Jhon Wiley & Sons. USA, 503 p.
- INFANTE G., S.; ZÁRATE, DE L., G. P. 1984. Métodos Estadísticos. Editorial Trillas. México. 643 p.

- KHAN, M. R. I.; HEYES J. K.; COHEN, D. 1988. Plant generation from oca (*Oxalis tuberosa* M.): The effect of explant type and culture media. *Plan Cell, Tissue and Organ Culture* 14:41-50.
- MELLOR, F. C.; STACE, S. R. 1977. Eradication of potato virus X by thermotherapy. *Phytopathology* 57: 674-678.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- ROCA, W. M.; ESPINOZA, N. O.; ROCA, M. R.; BRYAN, J. E. 1978. A tissue culture method of the rapid propagation of potatoes. *Am. Potato J.* 58:181-189.
- SKOOG, F.; MILLER, T. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11: 118-130.
- STACE, S. R.; MELLOR, F. 1968. Eradication of potato virus X and S by thermotherapy and axillary bud-culture. *Phytopathology* 58: 199-203.
- WANG, P.; HUANG, L. 1974. Studies on the shoot meristem culture of *Allium sativum* L. *J. Chin. Soc. Hortic. Sci.* 20:79-87.