

NOTA TÉCNICA: MICROPROPAGACIÓN ACELERADA DE *HELIANTHUS TUBEROSUS* L (TOPINAMBUR)

A.R. Mesa, G. Lalonchere y Marlenis Prieto

**Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Matanzas, Cuba**

Con el objetivo de buscar una tecnología para micropropagar aceleradamente la especie *Helianthus tuberosus* L. (Topinambur), se condujeron varios experimentos. El método más adecuado para la desinfección de las yemas axilares, consistió en lavar con detergente comercial las microestacas y posteriormente con oxiclورو de cobre al 1% durante 30 minutos, 3 minutos en etanol al 70%, 5 minutos con HgCl₂ al 0,05% y 10 minutos en hipoclorito de sodio al 2%. En cada paso se enjuagó con agua destilada y estéril. El medio de establecimiento y multiplicación fue el MS con 2% de sacarosa + 2 mg/l de 6-BAP. El mejor enraizamiento se logró con MS + 0,1 mg/l de AJA + 0,5 mg/l de ANA. La adaptación a suelo con un 100% de supervivencia se obtuvo en vasos desechables con una mezcla de suelo rojo, arena, materia orgánica y una adecuada humedad. El factor de multiplicación fue de 5.

Palabras claves: *Micropropagación, cultivo in vitro, Topinambur*

In order to obtain a rapid technology to micropropagate the *Helianthus tuberosus* L. (Topinambur) specie were carried out some experiments. The most adequate method for disinfection the axillaries bud consisted to wash the micropropagules with commercial detergent and subsequently with oxychlorid of copper at 1% about 30 minutes, 3 minutes in ethanol at 70%, 5 minutes with HgCl₂ at 0,05% and 10 minutes in hypochlorite of sodium at 2%. In every step was revised with sterile and distilled water. The establishment and multiplication medium was MS medium with 2% of saccharose + 2 mg/l of 6-BAP. The best rooting was obtained with MS + 0,1 mg/l of AJA + 0,5 mg/l of ANA. The soil adaptation with 100% of survival was obtained in pasteboard glasses with a mixture of red soil, sand, organic matter and a adequate moisture. The multiplication factor was 5.

Additional Index words: *Micropropagation, in vitro cultivate, Topinambur*

La micropropagación acelerada es una biotécnica en pleno desarrollo, ya que permite reproducir plantas genéticamente semejantes a la planta donante a través de la estimulación de las capacidades naturales de la parte vegetativa de la especie, o por la inducción de una nueva organogénesis de yemas y raíces. Esta técnica tiene gran repercusión en la producción de raíces que se reproducen agámicamente, en cuyo caso se encuentra el topinambur o Jerusalem artichake, como se conoce en los países de habla inglesa.

Esta especie fue introducida en nuestro país

en 1917 por la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas, hoy Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (Calvino, 1919), y en la actualidad ha cobrado importancia como una fuente alternativa de alimentación para el ganado porcino, aunque su forraje tiene gran valor para el ganado bovino. Sus tubérculos poseen un contenido rico en energía, fructosa, inulina y proteína bruta. La literatura informa que su agrotecnia es muy similar a la de la papa, por lo que el producto útil es la propia

vía de propagación. Por ello, se hace importante buscar un método para la multiplicación efectiva por vías biotecnológicas, lo cual constituye el objetivo del trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron microestacas de plantas adultas de *Helianthus tuberosus* L. (procedente de Argentina) sembradas en el campo, las cuales se encontraban en la fenofase de floración plena; las microestacas, que medían 1 cm y poseían yemas axilares y terminales, fueron lavadas con detergente comercial y enjuagadas con suficiente agua corriente; posteriormente fueron desinfectadas secuencialmente con oxiclورو de cobre al 1% durante 30 minutos, 3 minutos en etanol al 70%, 5 minutos en bicloruro de mercurio al 0,05% y 10 minutos en hipoclorito de sodio al 2%. Entre cada paso de la desinfección se enjuagaron los explantes con agua destilada estéril.

Una vez desinfectados, se plantaron en un medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962) con 2% de sacarosa y un pH de 5,8; el medio fue suplementado con las siguientes combinaciones hormonales:

- a) 2 mg/l de 6-bencilamino purina (6-BAP) + 1 mg/l de ácido Giberélico (GA₃).
- b) 2 mg/l de 6-BAP
- c) 1 mg/l de GA₃

Se emplearon 10 réplicas. Los subcultivos se realizaron cada 28 a 30 días para las yemas axilares y cada 15 a 21 días para las microestacas con las yemas terminales.

Enrollamiento. Para el enraizamiento se tomaron microestacas y se plantaron en el medio basal MS suplementado con los siguientes tratamientos:

- 1. MS + 0,5 mg/l de ALA (medio líquido estático)
- 2. MS + 0,1 mg/l de ALA (medio líquido estático)
- 3. MS + 0,1 mg/l de ALA + 0,5 mg/l de ANA (medio líquido estático)

- 4. MS + 0,5 mg/l ALA (medio sólido)
- 5. MS + 0,1 mg/l ALA (medio sólido)
- 6. MS + 0,1 mg/l ALA + 0,5 mg/l ANA (medio sólido)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La contaminación fundamentalmente por hongos fue de 40, 10 y 20% en los tratamientos de implantación (**a**, **b** y **c**, respectivamente). La presencia de estos microorganismos, a pesar del fuerte proceso de desinfección realizado, pudiera estar asociada a que las plantas madres estaban sembradas en pleno campo y no habían recibido ningún tratamiento fitosanitario, tal como lo recomienda Torres (1989).

Los nodos comenzaron a mostrar los primeros síntomas de multiplicación aproximadamente a los 15 días de sembrados y la variante **b** (2 mg/l de 6-BAP) solamente produjo múltiples brotes, cuya altura fue de 4 a 5 cm. Resultados similares informaron Alfonso, Capote y Rodríguez (1994), pero con un medio basal formulado con las sales del MS y las vitaminas del B5 (Gamborg, Miller y Ojima, 1968). La variante **a** produjo también múltiples brotes, pero en la base del explante hubo formación de callos; mientras que en el tratamiento **c** solamente ocurrió la germinación de la yema a una altura de 1 a 2 cm.

Para los subcultivos se tomó solamente un plantín de la variante **b** y este produjo 8 nodos. Los nodos apicales se sembraron aparte de los axilares por tener un crecimiento más rápido y los siguientes subcultivos permitieron solamente 5 nodos.

Se pudo observar que la proliferación de brotes axilares se logró con la adición de citoquinina al medio de cultivo, donde esta actúa en la ruptura de la dominancia apical, según lo informado por Tisserat (1985).

En el medio líquido estático los plantines no enraizaron y se produjo una callosidad alrededor de la microestaca plantada; mientras

que en el medio sólido el 90% de las microestacas enraizaron en el tratamiento con 0,5 mg/l de ALA. En los tratamientos 5 y 6 hubo un 100% de enraizamiento, pero en este último las vitroplantas fueron más vigorosas y tuvieron un mejor crecimiento foliar y raíces más fuertes.

La adaptación a tierra se produjo con un 100% de supervivencia y las vitroplantas se sembraron en vasos plásticos desechables que contenían una mezcla de suelo rojo, arena y materia orgánica y mantuvieron una adecuada humedad durante 7-15 días. En el campo se mantuvo el 100% de plantas sembradas.

Guzmán, Pozo y Rodríguez (1994) recomiendan sembrar con un marco de 0,70 cm entre surcos y 0,30 cm entre plantas. Además, según Portieles (citado por Alfonso *et al.*, 1994), una tonelada de tubérculo (material necesario para sembrar 1 ha) tiene un costo de \$1 200 USD.

Tomando en consideración lo anteriormente planteado, se concluye que con esta metodología se pueden obtener potencialmente, en menos de 1 año, más de 3 000 000 de vitroplantas, lo que permite sembrar alrededor de 63 ha y se obtiene un ahorro de \$975 USD/ha.

REFERENCIAS

- ALFONSO, A.; CAPOTE, AMALIA & RODRÍGUEZ, ARLENE. 1994. Aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos en especies de interés económico para Cuba. En: 90 años de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt". Ed. Academia, La Habana, p. 185
- CALVINO, H. 1919. El Topinambur. Informe de 1917-1918. Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas. La Habana, Cuba. p. 140
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A. & OJIMA, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50:151
- GUZMÁN, T.J.; POZO, J.L. & RODRÍGUEZ, J. 1994. Estudio del manejo agronómico del Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) bajo las condiciones de Cuba. Resúmenes VII Jornada Científica INIFAT-MINAG. Santiago de las Vegas. La Habana, Cuba. p. 58
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium of rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.* 15:473
- TISSERAT, B. 1985. Embryogenesis organogenesis and plant regeneration. In: Plant cell culture: a practical approach. (R.A. Dixon, Ed.). IRL Press. Oxford-Washington DC. p. 79
- TORRES, K.C. 1989. Stages of micropropagation. In: Tissue culture techniques for horticultural crops. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 52

Recibido el 20 octubre de 1994