





EFFECTO DEL ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXYACETICO EN LA INDUCCIÓN DE CALLOS DE *SOLANUM TUBEROSUM* L. VAR "COCHACINA", DE PULPA DE COLOR

EFFECT OF 2,4-DICHLOROPHOXYACETIC ACID ON THE INDUCTION OF CALLUSES OF *SOLANUM TUBEROSUM* L. VAR "COCHACINA", WITH COLORED PULP

Angélica López Zavaleta¹  Segundo Eloy López Medina¹ 
Armando Gil Rivero¹  Villena Zapata Luigi² 

¹Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

²Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua, Bagua, Perú.

Correspondencia:

Dr. Eloy Medina López
slopezm@unitru.edu.pe

Como citar este artículo: Medina, E., López, A., Gil, A., & Villena, L. (2024). Efecto del ácido 2,4-diclorofenoxyacetico en la inducción de callos de *Solanum tuberosum* L. var "Cochacina", de pulpa de color. *Revista de Investigación Hatun Yachay Wasi*, 3(2), 37 - 45. <https://doi.org/10.57107/hyw.v3i2.71>

RESUMEN

El Perú como centro de origen y diversidad de la papa, cuenta con un innumerable acervo genético, el cual debe ser resguardado y mejorado mediante la aplicación de procesos biotecnológicos. La biotecnología vegetal una herramienta de alta aplicabilidad para cultivos andinos, pues numerosas investigaciones concluyen en mejorar aspectos sanitarios y productivos. La inducción de la generación de callos resulta fundamental para la obtención de metabolitos secundarios, ya que maximiza la producción de antocianinas y flavonoides de importancia industrial y medicinal. En esta investigación se propuso como objetivo determinar el efecto del ácido 2,4-Diclorofenoxyacetico en la inducción de callos de *Solanum tuberosum* L. Var "Cochacina", de pulpa de color. La fase experimental se realizó en laboratorio, donde se sembró entrenudos de *S. tuberosum* L. Var "Cochacina", en medio de cultivo Murashige y Skoog suplementado con sales minerales, sacarosa al 3%, agar al 0.8 %, y diferentes concentraciones de 2,4 diclorofenoxyacetico. Se concluyó que al término de los 45 días el ácido 2,4-Diclorofenoxyacetico a la concentración de 1,00 ppm, induce la generación de callos de *Solanum tuberosum* L. Var "Cochacina", de pulpa de color.

Palabras clave: efecto del ácido 2,4-Diclorofenoxyacetico, inducción de la generación de callos, *Solanum tuberosum* L. Var "Cochacina" pulpa de color.

ABSTRACT

Peru, as the center of origin and diversity of the potato, has an innumerable genetic pool, which must be protected and improved through the application of biotechnological processes. Plant biotechnology is a tool with high applicability for Andean crops, since numerous investigations conclude in improving health and production aspects. The induction of callus generation is essential for obtaining secondary metabolites, since it maximizes the production of anthocyanins and flavonoids of industrial and medicinal importance. The objective of this research was to determine the effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on the induction of callus of *Solanum tuberosum*



L. Var “Cochacina”, with colored pulp. The experimental phase was carried out in the laboratory, where internodes of *S. tuberosum* L. Var “Cochacina” were sown in Murashige and Skoog culture medium supplemented with mineral salts, 3% sucrose, 0.8% agar, and different concentrations of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. It was concluded that at the end of 45 days, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid at a concentration of 1.00 ppm induces the generation of calluses of *Solanum tuberosum* L. Var “Cochacina”, with colored pulp.

Keywords: effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, induction of callus generation, *Solanum tuberosum* L. Var “Cochacina” colored pulp.

INTRODUCCIÓN

La accidentada geografía del Perú, ha contribuido con la generación de diferentes pisos ecológicos, donde han prosperado una gran diversidad de recursos florísticos y faunísticos, conllevando a ser uno de los países más megadiversos del mundo (Seminario, et al., 2017). Entre la diversidad de especies con que cuenta el país, *Solanum tuberosum* L. “papa” se encuentra entre las 128 especies peruanas actualmente cultivables (Tirado et al., 2018; Tirado & Tirado, 2018).

Esta especie, perteneciente a las Solanaceae, se caracteriza por formar los tubérculos; adoptar diversas formas, tamaños y colores según sea la variedad; resultar muy agradable al paladar humano y ser de alto valor nutritivo (Mostacero et al., 2009). Cabe mencionar que, a consecuencia del proceso de domesticación, se reportan más de 5000 variedades, destacando las variedades nativas de pulpa de color, debido a la presencia de antioxidantes como las antocianinas y flavonoides, los que han contribuido a la denominación de alimento nutracéutico o funcionales ya que tiene la facultad de nutrir y evitar enfermedades cardiovasculares y cáncer (Gil et al., 2019).

Existen diferentes vías de propagación de *S. tuberosum*, siendo la más empleada por el agricultor andino el uso de tubérculo semilla, pese a que constituye la vía que menos rentabilidad garantiza debido a la alta carga viral, bacteriana y microbiana que lleva consigo (López et al., 2017).

La propagación vegetativa empleando la técnica de cultivo de tejidos celulares *in vitro*, entretanto, permite garantizar la obtención de plántulas libres de virus, bacterias y hongos, optimizándose la producción y la rentabilidad (Arias & Aristizábal, 2021; Barrueto, 2014). Actualmente esta técnica ha tenido éxito en diferentes cultivares y consiste en cultivar un explante bajo condiciones controladas y en un medio enriquecido con sales minerales y hormonas que permitan monitorear los procesos fisiológicos para la generación de plántulas, embriones somáticos y callos celulares (González & Chavarría, 2016; Hernández, 2019; López et al., 2017).

Dentro de los fitorreguladores empleados en la inducción de callos celulares destaca el 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) el cual, a altas concentraciones, se comporta como un herbicida, mientras que cuando son bajas induce la generación de raíces adventicias y callos celulares (Araque et al., 2018; Gil et al., 2019; Peterson et al., 2016).

La generación de callos celulares y su posterior cultivo en suspensiones celulares resulta elemental para la producción masiva de metabolitos secundarios, muchos de ellos de importancia medicinal, industrial o alimentaria (Borjas et al., 2020; Barcia, 2020; Morillo et al., 2018).

Ante la evidente importancia de las variedades nativas de pulpa de color, por resultar estas un recurso con grandes potencialidades para la producción de antocianinas y flavonoides, así como de generación de callos celulares para su posterior cultivo en suspensiones celulares (Tacoronte et al., 2017), se propuso como objetivo de investigación determinar el efecto del ácido 2,4-Diclorofenoxiacético en la inducción de callos de *Solanum tuberosum* L. Var "Cochacina", de pulpa de color.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó un diseño descriptivo, con cuatro tratamientos y 40 unidades experimentales por tratamiento.

Los resultados fueron analizados con el software libre R Studio versión 4.0.3. empleándose la prueba de Kruskal Wallis.

Preparación del medio

La fase experimental se desarrolló en el Laboratorio del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, de donde procedió el material *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var "Cochacina", de pulpa de color.

Se empleó el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS), suplementado con sales minerales, sacarosa al 3%, agar al 0.8 %, y diferentes concentraciones de 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) (0; 0,5 ;1 y 1,5 ppm). Una vez preparado el medio de cultivo, este fue dispensado y autoclavado por 25 minutos a 121 °C y 1 atmósfera de presión.

Siembra, diseño experimental y análisis de datos

La siembra se realizó en cámara de flujo laminar, donde se procedió a cortar entrenudos de 5 mm de *S. tuberosum* L. Var "Cochacina". Posteriormente estos fueron sembrados en sus respectivos recipientes con medio para su inducción de callos. Una vez terminada esta actividad, el material *in vitro* fue trasladado en un cuarto de incubación a una temperatura de 18°C ± 2 °C, una humedad relativa de 80% y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, de acuerdo a López et al., (2019^a), López et al., (2019^b) y López et al., (2020). A los 45 días de la siembra, se procedió a evaluar la formación de callos *in vitro*, según la escala de Santana (1982) (Tabla 1).

TABLA 1

Escala de Santana para evaluar la formación de callos in vitro

Grado	DESCRIPCIÓN
0	No hay presencia de callos
1	Insignificante formación del callo (se observa una ligera proliferación de células).
2	Presencia del callo (se evidencia proliferación de células sin embargo no hay presencia de masas voluminosas).
3	Abundante formación del callo (presencia de masas voluminosas de callos).

Fuente: Santana (1982)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1, ilustra los callos obtenidos de *Solanum tuberosum* L. Var "Cochacina", de pulpa de color, a los 45 días de su tratamiento con 2,4-Diclorofenoxiacetico a la concentración de 1,00 ppm. Mientras, en la Tabla 2 aparecen los resultados de la prueba de Kruskal Wallis, donde se evidencia un p-valor de significancia menor

que 0.05 ($p=0.0001184 < 0.05$), por lo que existe suficiente evidencia estadística (95% de confianza) para afirmar que, según escala de Santana, a los 45 días de realizada la siembra los grados de formación de callos *in vitro* bajo tratamiento, difieren significativamente según la concentración de 2,4-Diclorofenoxiacetico.

TABLA 2

Prueba de Kruskal Wallis para el estudio, efecto del ácido 2,4- Diclorofenoxiacetico en la inducción de callos de Solanum tuberosum L. Var "Cochacina", de pulpa de color.

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Grado and Tratamiento

Kruskal-Wallis chi-squared = 20.755, df = 3, p-value = 0.0001184

Fuente: Resultados obtenidos del software R Studio versión 4.1.1.

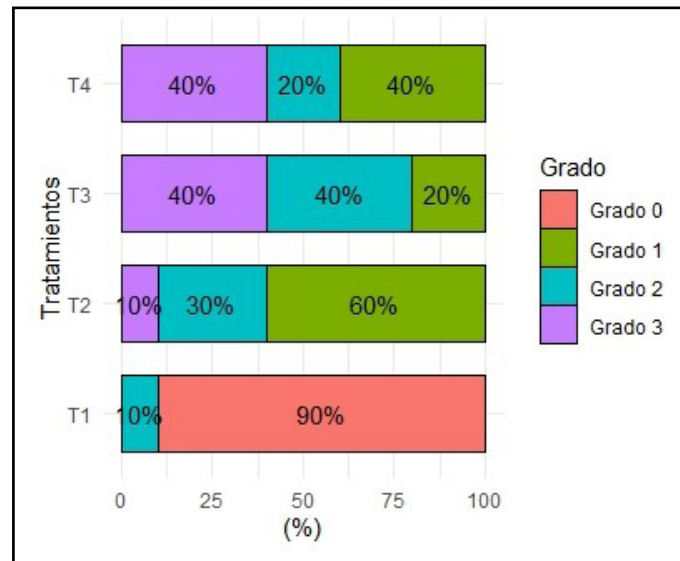
FIGURA 1

Callos de Solanum tuberosum L. Var "Cochacina", de pulpa de color, empleando la concentración de la concentración de 1,00 ppm de 2,4-Diclorofenoxiacetico.



FIGURA 2

Barras apiladas de los porcentajes de callos obtenidos según la escala de Santana (grado de formación) por efecto de los tratamientos con 2,4-D a los 45 días de realizada la siembra.



La Figura 2, por su parte, muestra que los mayores grados de formación de callos, se obtuvieron en los tratamientos T3 y T4, resultando T3 el que mostró un 40% de callos formados con grado 3, así como el mayor porcentaje comparando con los resultados de los demás tratamientos.

De los resultados obtenidos se infiere que el tratamiento 3, empleando 1 ppm de 2,4-Diclorofenoxiacético, indujo a una mayor formación de callos celulares, comparado con los demás tratamientos.

Esto se debió a que la concentración de 1 ppm es capaz de expresar aquellos genes que codifican enzimas que generan un crecimiento desordenado de masas celulares, que al ser del tipo friables, son óptimos para procesos biotecnológicos como las suspensiones celulares (García et al., 2019; Peterson et al., 2016).

Investigaciones de Peterson et al. (2016) y Kusuma et al., (2017), defienden la eficiencia del

2,4-Diclorofenoxiacético, en la generación de callos en diversas especies vegetales. Estudios de López & López (2017) corroboraron esta afirmación al demostrar que el 2,4-Diclorofenoxiacético aumenta la actividad de las células encargadas de estimular el crecimiento y división celular, tal y como habían planteado Budisantoso, Amalia, & Kamsinah (2017).

Cabe resaltar que investigaciones de Hernández & Díaz (2019), sostienen que el empleo del 2,4-Diclorofenoxiacético con una citoquinina, estimula aún más la formación de callos celulares, por ser de efecto sinérgico.

De la misma manera las investigaciones de Domínguez et al. (2021) y Hernández-Villalobos & Chico-Ruiz (2020), sostienen que el empleo de la 6-bencilaminopurina (BAP), a la concentración de 1,0 mg/L, es crucial en el proceso de inducción de callos embriogénicos.

Por otra parte, Eras et al. (2020) apuntaron que el empleo del 2,4-Diclorofenoxiacético+Kinetina (KIN)

potencia en un 73,30% la formación de callos con potencial embriogénico debido a que esta hormona es de naturaleza una citoquinina que promueve la división celular, obteniéndose resultados similares a cuando se emplea 6-bencilaminopurina (BAP) (Ángeles-Espino et al., 2018; Orantes & López, 2019).

Resulta también un factor determinante en la formación de callos la variedad empleada, las condiciones ambientales y el estado de desarrollo del explante (Albarrán, Pacheco, & Rache, 2019; Ticona & Triguero, 2020).

Sin embargo, con fines productivos, de caracterización y de estudio de la biosíntesis de compuestos antioxidantes, el cultivo de callos en suspensiones celulares en medio líquido y bajo condiciones estacionarias o en agitación, resulta fundamental para la optimización de la producción (Delgado et al., 2016; Gätjens et al., 2018).

CONCLUSIONES

Se concluye que el ácido 2,4-Diclorofenoxiacético a la concentración de 1,00 ppm, induce a la generación de callos de *Solanum tuberosum* L. Var “Cochacina”, de pulpa de color.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ángeles-Espino, A., Sánchez-Mendoza, L., Dimas-Estrada, H., Ramírez-Alvarado, D., & Gómez-Estrada, J. (2018). Evaluación de dos auxinas en la inducción de callo embriogénico en vitroplántulas de *Agave tequilana* Weber variedad azul. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 21, 225 – 234. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/download/2342/1142>

Araque, E., Bohórquez, M., Pacheco, J., Correa, L., Urquijo, J., Castañeda, S., & Pacheco, J. (2018). Propagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21 – 31. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-74882018000100021&script=sci_arttext

www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-74882018000100021&script=sci_arttext

Arias-García, J., & Aristizábal-Loaiza, M. (2021). Efectos de paclobutrazol y cloruro de mepiquat sobre el crecimiento y desarrollo del plátano Dominico Hartón (*Musa AAB*). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 15(1), e11537. <https://doi.org/10.17584/rcch.2021v15n1a11537>

Albarrán, Y., Pacheco, J., & Rache, L. (2019). Organogénesis a partir de ápices meristemáticos y discos caulinares de *Aloe vera* L. *Ciencia en Desarrollo*, 10(2), 9 – 21. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-74882019000200009&script=sci_arttext

Barcia, B. (2020). *Evaluación de diferentes dosis de la citocinina BAP en la propagación in vitro de Vainilla tahitensis*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. <https://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50326>

Borjas, R., Julca, A., & Alvarado, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 150 – 164. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2308-38592020000200007&script=sci_arttext

Budisantoso, I., Amalia, N., & Kamsinah, K. (2017). In vitro callus induction from leaf explants of *Vanda* sp stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*, 9(3), 492 – 497. <https://journal.unnes.ac.id/nju/biosaintifika/article/viewFile/11018/7157>

Delgado, G., Rojas, C., & Kato, M. (2018). Propagación clonal, inducción de callos y biotransformación de precursores en suspensiones celulares de *Piper aduncum* L. *Revista Ciencia, Tecnología y Humanidades*, 7(1), 39 – 66. http://revistas.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-74882018000100021&script=sci_arttext

- unprg.edu.pe/openjournal/index.php/revistacientifica/article/viewFile/32/18
- Domínguez, A., Nah, J., García, I., Nahuat, S., Giorgana, J., Escalante, E., Ramírez, J., & Gamba, A. (2021). Efecto de 6-bencilaminopurina y ácido 2,4-diclorofenoxiacético en la callogénesis de *Brosimum alicastrum*. *Agrociencia*, 55, 133 – 144. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7851028>
- Eras, V., Moreno, J., Yaguana, M., Poma, R., & Guartanza, J. (2020). Inducción in vitro de estructuras callogénicas en *Cinchona officinalis* L. *Bosques Latitud Cero*, 10(1), 14 – 28. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/view/714>
- García, J., Azofeifa, J., Solano, F., & Orosco, R. (2019). Effect of two cytokinins and a growth inhibitor on the in vitro tuberization of two genotypes of *Solanum tuberosum* L.cvs. Atlantic and Alpha. *Uniciencia*, 33(2), 1 – 12. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S2215-34702019000200001&script=sci_arttext
- Gätjens, O., Acuña, C., Montero, W., Díaz, C., & Torres, S. (2018). Propagación masiva y formación de callos protocórmicos de vainilla a partir de ápices radicales. *Polibotánica*, (45), 157 – 180. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682018000100157&script=sci_arttext_plus&tlng=es
- Gil, A., López, E., Mostacero, J., & De la Cruz, J. (2019). Papas nativas con potencial antioxidante, cultivadas en el norte del Perú. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 18(3), 289 – 324. <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.19>
- González, D., & Chavarría, M. (2016). *Microtuberización del cultivar de papa (Solanum tuberosum L.) Banba en biorreactores económicos de inmersión temporal*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/3396/1/tnf01g643mc.pdf>
- Hernández, A., & Díaz, H. (2019). Inducción in vitro de callo embriogénico a partir del cultivo de anteras en “papa amarilla” *Solanum goniocalyx* Juz. & Bukasov (Solanaceae). *Arnaldoa*, 26(1), 277 – 286. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992019000100011
- Hernández-Villalobos, K., & Chico-Ruíz, J. (2020). Inducción de brotes y raíces en hipocotilos y cotiledones de *Physalis peruviana* L. utilizando 6-bencilaminopurina y 2,4-diclorofenoxiacético. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(1), 86 – 94. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572020000100087&script=sci_arttext
- Kusuma, D., Andriani, P., Muhammad, A. N., Setiti, E., & Utami, W. (2017). Callus induction of *Gendarussa (Justicia gendarussa)* by various concentration of 2,4-D, IBA, and BAP. *Biosaintifika*, 9(3), 402 – 408. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11347>
- López, E., & López, A. (2017). Efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético y el Bencilaminopurina en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* (Euphorbiaceae). *Rebiol*, 37(2), 22 – 26. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/2118>
- López, S., Mostacero, J., Gil, E., López, A., & De la Cruz, J. (2019a). Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. María Reich. *Rebiol*, 39(1), 1 – 6. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/2472>

- López, S., Mostacero, J., Gil, E., López, A., De la Cruz, J., & Villena, L. (2019b). Efecto sinérgico del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. María Reich. *Ciencia e Investigación*, 39(2), 67 – 73. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/2345>
- López, S., Mostacero, J., Gil, E., López, A., De la Cruz, J., & Villena, L. (2020). Concentraciones de 6-bencilaminopurina en la propagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. Cochacina, en sistemas líquidos estacionario y en agitación. *Manglar*, 17(4), 337 – 340. <https://revistas.untumbes.edu.pe/index.php/manglar/article/view/200>
- Morillo, A., González, J., & Morillo, Y. (2018). Characterization of genetic diversity *uchuva* (*Physalis peruviana* L.) in Boyacá. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 26 – 33. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.631>
- Morshed, N. (2019). In vitro callus induction of aromatic rice depends on the concentration of 2, 4-D. *Malaysian Journal of Halal Research*, 2, 9 – 13. <https://doi.org/10.2478/mjhr-2019-0007>
- Mostacero, J., Mejía, F., & Gamarra, O. (2009). *Fanerógamas del Perú: Taxonomía, utilidad y ecogeografía*. Editorial CONCYTEC. https://books.google.com/cu/books/about/Faner%C3%B3gamas_del_Per%C3%BA.html?id=rrBqtwAACAAJ&redir_esc=y
- Orantes, H., & López, Y. (2019). Evaluación de medios de inducción in vitro a callo vegetal en explantes foliares de *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae). *Revista Minerva*, 2(1), 22 – 30. <https://doi.org/10.5377/revminerva.v2i1.12522>
- Peterson, M., McMaster, S., Riechers, J., Skelton, J., & Stahlman, P. (2016). 2,4-D past, present, and future: A review. *Weed Technology*, 30, 303 – 345. DOI:10.1614/WT-D-15-00131.1
- Santana, B. N. (1982). Determinación de un medio adecuado para la obtención de callos en variedades de caña de azúcar (*Saccharum* species). *Cultivos Tropicales*, 4(3), 567 – 575. <https://ediciones.inca.edu.cu/files/antecedentes/1982/3/CT04319.pdf>
- Seminario, J., Seminario, A., Domínguez, A., & Escalante, B. (2017). Rendimiento de cosecha de diecisiete cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) del grupo Phureja. *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 181 – 191. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.01>
- Tacoronte, M., Vielma, M., & Auxiliadora, O. (2017). Efectos de nitratos y sacarosa en la propagación in vitro de tres variedades de papa nativa. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 63 – 73. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.70160>
- Ticona, J., & Triguero, M. (2020). Evaluación del comportamiento in vitro de dos variedades de papaya (*Carica papaya* L.) mediante embriogénesis somática en la Estación Experimental Sapecho. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 7(1), 55 – 61. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182020000100008
- Tirado, R., Tirado, R., & Mendoza, J. (2018). Interacción genotipo x ambiente en rendimiento de papa (*Solanum tuberosum* L.) con pulpa pigmentada en Cutervo, Perú. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 34(3), 191 – 198. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902018005000502>

Tirado, R., & Tirado, R. (2018). Comportamiento de parámetros biométricos de clones para la obtención de papa baby con pulpa pigmentada. *Scientia Agropecuaria*, 9(3), 401 – 410. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.03.11>