

COMUNICACION

Micropropagación de *Actinidia chinensis* Pl. (kiwi). Comportamiento en vivero de plantas micropropagadas y su comparación con estacas enraizadas

Radice S y Caso O H

RESUMEN

La rusticación de plantas de *Actinidia chinensis* Pl. obtenidas a partir del cultivo in vitro de ápices caulinares fue posible cuando se utilizaron plantas de 5 cm de altura, 2 hojas expandidas y con 2 ó 3 raíces principales como mínimo. Las mismas se cultivaron en terrinas con tierra, turba y perlita (1:1:1 v/v) bajo túnel de polietileno y en condiciones de invernáculo. Durante todo un año, mes a mes, se rusticaron más de 1000 plantas, observándose que sólo se obtenían resultados positivos entre los meses de setiembre y diciembre. En los meses de noviembre y diciembre, la recuperación de plantas fue muy favorable, obteniéndose una sobrevivencia del 70,8 y 81,5% respectivamente.

Paralelamente, estacas leñosas provenientes de la poda invernal, fueron tratadas con solución acuosa de IBA (1.000 ppm durante 24 h), para facilitar su enraizamiento. Luego del período de brotación activa, las mismas se utilizaron para comparar su crecimiento con plantas micropropagadas de igual edad.

Después de 11 meses de crecimiento en condiciones de vivero se evaluó, por peso fresco y peso seco de tallo y raíz, las diferencias existentes entre plantas propagadas por estacas y por cultivo in vitro. Los valores obtenidos para estas últimas, fueron entre 11 y 14 veces superiores en peso seco.

Abreviaturas: IBA: ácido indol-3- y1-butírico

Palabras clave: *Actinidia chinensis* - kiwi - micropropagación - rusticación - enraizamiento - vivero.

ABSTRACT

Micropropagated plants of *Actinidia chinensis* Pl with a height of about 5 cm, 2 expanded leaves and 2-3 roots were successfully hardened by using a polyethylene tunnel in a glasshouse. The hardening was possible from September to January. Best results were obtained in November and December, with a recovery of 70,8 and 81,5% respectively.

The rooting of woody cuttings was obtained by treating them with a solution of IBA (1000 ppm for 24 h) and were planted in the same conditions in order to compare their growth with the micropropagated ones. Fresh and dry weights of roots and shoots were evaluated after 11 months of growth in nurse conditions.

Micropropagated plants were between 11 to 14 times larger than those produced by the rooted cuttings.

S. Radice y O.H. Caso, Centro de Ecofisiología Vegetal, Serrano 665, 1414, Buenos Aires, Argentina.

Trabajos de distintos autores han demostrado la posibilidad de la multiplicación clonal de kiwi (*Actinidia chinensis*) por medio del cultivo in vitro de meristemas y/o segmentos nodales (Harada, 1975; Bini, 1979; Standardi, 1981; 1982; 1983; Standardi and Catalano, 1985; Monette, 1986; Huang and Tan, 1988; Radice y Caso, 1991). Sólo en el trabajo de Huang and Tan (1988), se hacen referencias a las mejores condiciones de rusticación y transplante. Sin embargo, en ninguno de los trabajos citados se compara el comportamiento posterior de este tipo de plantas en condiciones de vivero o de plantación definitiva, con plantas multiplicadas por las técnicas tradicionales de enraizamiento de estacas o injerto.

La evaluación de la rusticación y el posterior comportamiento de las plantitas micropropagadas en las condiciones de vivero y de plantación definitiva son esenciales para demostrar a los productores las bondades de una técnica de micropropagación. En el caso de especies frutales es fundamental, ya que los beneficios o perjuicios que el empleo del cultivo "in vitro" provoquen, sólo se determinarán varios años después que se haya hecho la inversión. Existen trabajos donde se realiza esta evaluación en otras especies frutícolas (Loreti and Morini, 1982; Martin *et al.*, 1983; Rosati and Gaggioli, 1986; Rosati *et al.*, 1986; Webster *et al.*, 1985).

El presente trabajo estudia los resultados del análisis comparativo del comportamiento de plantas provenientes de estacas con otras micropropagadas del cv Hayward de *A. chinensis* Pl., al cabo de una temporada de crecimiento en condiciones de vivero.

Material vegetal: Se emplearon estacas leñosas de plantas de kiwi de un año de edad provenientes de la poda invernal que se realiza a fines del mes de julio. Las estacas de 15 cm de longitud se trataron con una solución acuosa de IBA de 1.000 ppm durante 24 h (Sim and Lawes, 1981).

Paralelamente, se obtuvieron plantas por cultivo in vitro de ápices de la misma especie siguiendo la técnica ya descrita (Radice y Caso, 1991).

Rusticación: Las plantas crecidas in vitro se rusticaron con un tamaño mínimo de 5 cm de altura y 2 hojas expandidas, con 2 ó 3 raíces principales de

longitud mínima de 3 cm. El proceso se cumplió en un invernáculo con una temperatura promedio de $20 \pm 5^\circ\text{C}$ y fotoperíodo de 16 h, prolongando el día natural mediante lámparas de vapores de Na de alta presión tipo Lucalox. En los meses de verano, la intensidad lumínica se disminuyó un 40% con malla de saram.

Las terrinas utilizadas fueron de 60 x 40 cm en las cuales se plantaron 50 plantas por terrina probándose diferentes mezclas: tierra, turba y perlita (1:1:1 v/v); tierra y turba (1:1 v/v) y turba y perlita (1:1 v/v). La esterilización del sustrato se hizo por vapor de agua a alta presión.

Para evitar la desecación de las plantas durante los primeros días, se probaron dos condiciones ambientales diferentes: riego intermitente por micro-aspersión o la protección con película de polietileno a modo de túnel. En este último caso, a partir del decimoquinto día se retiró la cubierta durante un cierto número de horas diarias en forma progresiva.

Los controles fitosanitarios de las plantas se realizaron con fungicidas y bactericidas de amplio espectro. Los pasajes a las terrinas de las plantas crecidas en las condiciones in vitro se hicieron periódicamente desde enero de 1988 hasta el mismo mes de 1989.

Transplante a macetas: Una vez concluida la rusticación, las plantas micropropagadas fueron mantenidas en las condiciones de invernáculo normales hasta la expansión de 2-4 nuevas hojas, alcanzando un tamaño variable entre 10 y 20 cm de altura. Para el transplante se utilizaron macetas de polietileno de 8 cm de diámetro y bolsas de polietileno negro de 7 L de capacidad con una mezcla de tierra: turba: perlita (1:2:1 v/v). Estas últimas se mantuvieron en invernáculo hasta noviembre y luego en umbráculo durante los meses de verano.

Enraizamiento de estacas: Después del tratamiento con la solución acuosa de IBA, las estacas se plantaron en bolsas de polietileno negro y se trataron de la misma manera que las plantas micropropagadas.

Después de 11 meses de iniciado el tratamiento de las estacas y de completada la rusticación de las plantas provenientes del cultivo in vitro, se cosecharon al azar 5 plantas de cada grupo para determinar peso

fresco y peso seco de la parte aérea y raíz.

Rusticación: De las distintas mezclas de sustratos utilizados la que permitió un mejor crecimiento y rápida recuperación de las plantas fue la de tierra, turba y perlita en proporción de 1:1:1 (v/v). Respecto a las condiciones ambientales probadas se observó que a pesar de las ventajas que puede ofrecer el uso de la micro-aspersión ("mist"), tan utilizado para otras especies (Snir, 1988), en este caso su uso fue totalmente negativo. Una posible explicación es que la hoja de Kíwi posee un gran número de pelos superficiales, que provocan una mayor retención de agua que la detectada por el sensor automático del equipo de riego. De esta manera la provisión de agua es excesiva, favoreciéndose el desarrollo de parásitos externos que causan la caída de las hojas y la posterior muerte de las plantas. Debido a esto, los resultados obtenidos están expresados siempre para plantas rusticadas bajo túnel de polietileno.

Independientemente del sustrato utilizado, de la calidad de plantas obtenidas por cultivo *in vitro* y de las condiciones ambientales para la rusticación, la época del año posee gran influencia en el éxito o fracaso de la rusticación. Así se observó que, durante los meses de verano con días de temperatura máxima diaria mayor a 30°C, no es conveniente el transplante dado

que es muy difícil bajar la temperatura del invernáculo, sobre todo dentro del túnel de polietileno.

Durante los meses de marzo y abril, los días son más frescos pero de menor duración. Las plantas transplantadas en esta época no sufren el estrés por temperatura, pero dada la menor duración del día el crecimiento es menor. Por ello, a pesar del suplemento lumínico, no se pudo evitar que las plantas entraran en reposo.

En los meses invernales (mayo, junio, julio y agosto), es muy difícil rusticar plantas, dado que para esto se necesitaría calefaccionar en forma continua y suplementar con luz a un costo muy alto lo cual hace que la técnica se descalifique económicamente.

A partir de setiembre, las condiciones para el transplante comienzan a ser favorables. Tal como se demuestra en la Tabla 1, los meses en los cuales se obtuvieron mayores porcentajes de supervivencia fueron noviembre y diciembre con 70,8 y 81,5 %, respectivamente. Estos resultados se consideran muy favorables, coincidiendo con los obtenidos por Huang and Tan, 1988. Por otro lado, en estos meses el tiempo de permanencia de las plantas en las terrinas se reduce a la mitad, si comparamos con el tiempo necesario para los transplantes del mes de setiembre.

Si bien en enero, con registros de temperaturas de 30°C o superiores, se obtienen valores bajos de per-

Tabla 1: Tiempos de permanencia en terrinas, de los transplantes y supervivencia de las plantas rusticadas, según el mes de transplante.

Inicio terrina	Número plantas	Días perman.	Transplante A maceta	bolsa	totales*	%super
Seti.	342	40-60	130	46	225	51,5
Octubre	312	40-55	114	36	198	48,1
Noviemb.	353	25-30	40	210	277	70,8
Diciemb.	276	30-33	—	225	257	81,5
Enero	120	25-30	—	30	62	25,0

* En el cómputo de los totales de días se ha considerado un valor promedio de los períodos de permanencia en terrina, hasta que las plantas alcanzaron un tamaño adecuado para su transplante a maceta o bolsa.

Tabla 2: Pesos fresco y seco, en g, de plantas micropropagadas (Micro) y por enraizamiento de estacas (estacas), al cabo de 11 meses de cultivo en macetas. Promedios de 5 plantas.

	Tallo		Raíz		R/T
	PF	PS	PF	PS	
MICRO	134,12	48,20	383,45	131,12	2,73
ESTACA	17,09	7,08	38,45	14,33	2,07

* Las plantas micropropagadas corresponden al grupo que fue transplantado a bolsa en el mes de setiembre; las plantas formadas por estacas enraizadas lo fueron en el mes de agosto.

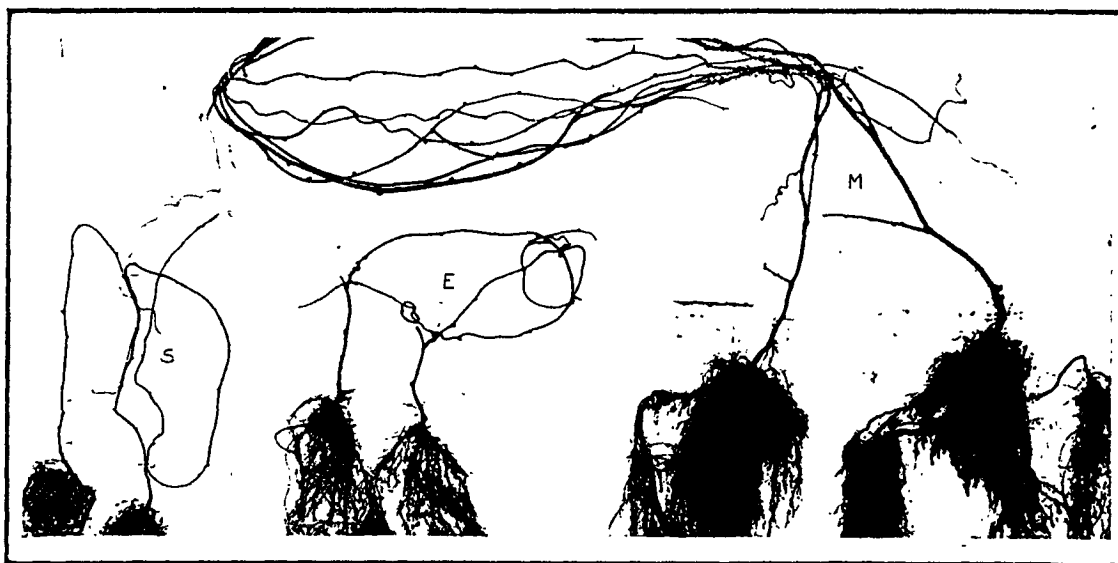


Figura 1: Aspecto de plantas micropropagadas (M), obtenidas por enraizamiento de estacas (E) y de semilla (S), al cabo de 11 meses de crecimiento en condiciones de vivero. La marca corresponde a una longitud de 15 cm.

manencia en terrina y no se requiere un trasplante previo a maceta, el porcentaje de supervivencia es el menor de todos los obtenidos durante el ensayo. Lograr mejores resultados requeriría condiciones especiales de control de la temperatura, no adecuadas para una explotación comercial. Todos estos resultados coinciden con lo expresado por Huang and Tan, 1988, quienes consideran que las temperaturas óptimas para el trasplante de esta especie oscilan entre 20° y 30°C.

Con respecto al crecimiento de ambos tipos de plantas, los resultados de la Tabla 2 y el aspecto de las plantas de la Figura 1 expresan claramente el mejor comportamiento de aquellas micropropagadas. Tanto el peso seco de los tallos como de las raíces, el crecimiento de las plantas micropropagadas fue 14 y 11 veces superior, respectivamente. En el caso de las plantas obtenidas por enraizamiento de estacas, sólo se consideró el peso de los tallos producidos durante el período de vivero, no computando el peso de la estaca. La relación tallo/raíz de ambos grupos de plantas no mostró diferencias significativas (Tabla 2).

El mejor crecimiento de las plantas micropropagadas posiblemente se debió a una mayor formación del sistema radical (Tabla 2 y Figura 1), lo cual aseguró un buen abastecimiento de nutrientes y agua a la parte aérea. Dicho mayor crecimiento radical puede ser una consecuencia del rejuvenecimiento que se obtiene por el cultivo *in vitro* (Hackett, 1985; ; Jones and Hadlow, 1989). En especies frutales tan diferentes como manzano y blackberry (*Rubus* sp.) se ha deter-

minado un mayor vigor en las plantas micropropagadas con relación a las obtenidas por estacas o por injerto (Swartz *et al.*, 1983; Jones and Hadlow, 1989).

En conclusión, los resultados presentados indican que es posible producir plantas de kiwi por micropropagación, las que en condiciones de vivero tienen un crecimiento superior a aquellas originadas por técnicas convencionales. Debido al posible rejuvenecimiento que provoca el cultivo "in vitro" (Hackett, 1985; Franclet, 1983) restaría determinar con nuevos ensayos, si ello puede significar un retraso en la floración o una menor producción en frutos.

Villalobos (com. pers.), en Chile, comprobó resultados similares a los que aquí se presentan. Además, observó que, en algunos casos, las plantas micropropagadas comenzaron a fructificar antes que las multiplicadas por enraizamiento de estacas, posiblemente debido a su crecimiento vegetativo acelerado, que permitió el crecimiento anticipado del tallo principal.

Resultados con otras especies opuestos a los observados en Kiwi, podrían deberse a diferencias en el manejo de las plantas. Esto indica la necesidad de profundizar estudios sobre el comportamiento ulterior de las plantas micropropagadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de la Sra. María Ester Bressan y el Sr. Hipólito Dellín Roynoso, de la empresa Frutillares Patagónicos.

BIBLIOGRAFIA

- Bini, G., 1979. Moltiplicazione in vitro di *Actinidia chinensis* Pl. Comunicazione presentata all Incontro su: "Tecniche di colture in vitro per la propagazione su vasta scala delle specie ortoflorofrutticole", Pistoia. 211-218.
- Hackett, W.T., 1985. Juvenility, maturation, and rejuvenation in woody plants. Hort Rev. (7). 109-155.
- Harada, H., 1975. Research note in vitro organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technique for vegetative multiplication. J Hort. Sci 50: 81-83.
- Huang, Z.G. and C.Y. Tan, 1988. Chinese gooseberry, Kiwifruit (*Actinidia* spp.) In: Biotechnology in Agriculture and Forestry 6 Crops II. Ed by Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1988. Germany. 166-180.
- Jones, O.P. and W.C.C. Hadlow, 1989. Juvenile-like character of apple trees produced by grafting scions and rootstocks produced by micropropagation. J. Hort. Sci 64 (4): 395-401.
- Loreti, F. and S. Morini, 1982. Mass propagation of fruit trees in Italy by tissue culture: present status and perspectives. Comb. Proc Intl Plant Prop. Soc. 32: 283-291.
- Martin, C., M. Carre and R. Vernoy, 1983. La multiplication vegetative in vitro des vegetaux ligneux cultives. cas de arbres fruitiers et discussion generale. Rev. Agron. 3: 303-306.
- Monette, P.L., 1986. Micropropagation of Kiwifruit using non-axenic shoot tips. Plant Cell Tissue and Org. Cult. 8: 73-82.
- Radice, S. y O.H. Caso, 1991. Micropropagación de *Actinidia Chinensis* Planch (Kiwi) - Optimización del medio de cultivo para la propagación clonal en gran escala Agriscientia, VIII: 55-60.
- Rosati, P. D. Gaggioli and L. Giunchi, 1986. Genetic stability of micropropagated loganberry plants. J. Hort. Sci. 61 (1): 33-41.
- Rosati, P. and D. Gaggioli, 1987. Field performance of micropropagated peach rootstocks and scion cultivars of sour cherry and apple. Acta Hort. (212): 379-390.
- Sim, B.L. and S.G. Lawes, 1981. Propagation of Kiwifruit from stem cuttings. Gartenbauwissenschaft 46 (2) 65-68.
- Standardi, A. 1981. Micropropagazione dell' *Actinidia chinensis* Pl. mediante coltura in vitro di apici meristemati. Frutticoltura 43 (1): 23-27.
- Standardi, A., 1982. Effects of repeated subculture in shoots of *Actinidia chinensis* Pl. Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue & Cell Cult.: 739-740.
- Standardi, A., 1983. La micropropagazione nella moltiplicazione dell' actinidia Frutticoltura 45 (2): 17-22.
- Standardi, A. and F. Catalano, 1985. Tissue culture propagation of Kiwifruit. The International Plant Propagators' Society Combined Proceedings (1984): 236-243.
- Swartz, H.J.; G.J. Galleta and R.H. Zimmerman, 1983. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated thornless blackberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108. 285-290.
- Webster, A.D., V.D. Oehl, J.E. Jackson and O.P. Jones, 1985. The orchard establishment, growth and precocity of four micropropagated apple scion cultivars. J. Hort. Sci. 60: 169-180.
- Wainwright, H. and W. Flögmann, 1985. The micropropagation of gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.). II In vitro proliferation and in vivo establishment. J Hort. Sci. 60(4): 485-491