

Efecto de 6-BAP en la multiplicación *in vitro* de *Spathiphyllum wallisii* Regel

Lourdes R. García*, Marta Pérez, Dámaris Torres. *Autora para correspondencia

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: lourdes@ibp.co.cu

RESUMEN

Spathiphyllum ocupa un lugar primordial dentro de las plantas ornamentales por la belleza tanto de su follaje como de la inflorescencia que emite. El presente trabajo se realizó con el objetivo determinar el efecto del 6-BAP en el incremento del número de brotes *in vitro*. Los resultados mostraron que el mayor número de brotes por explante se logró cuando se utilizaron 4 mg l⁻¹ de 6-BAP en el medio de cultivo en los tres subcultivos de multiplicación que se realizaron.

Palabras clave: citoquinina, micropropagación, yemas adventicias

Effect of 6-BAP on *in vitro* multiplication of *Spathiphyllum wallisii* Regel

ABSTRACT

Spathiphyllum occupies a central place within ornamental plants both for the beauty of its foliage and the inflorescence issued. The present study was conducted to determine the effect of 6-BAP in the increased number of *in vitro* shoots. The results showed that the greatest number of shoots per explant was achieved when used 4 mg l⁻¹ 6-BAP in the culture medium in the three multiplication subcultures performed.

Keywords: adventitious buds citoquinine, micropropagation

INTRODUCCIÓN

En Cuba, durante el transcurso de los años, se han experimentado numerosos cambios en el comercio de semillas de plantas ornamentales y en la estructura y sentido de los grandes jardines públicos y privados. Ello ha influido notablemente en la reducción de las especies ornamentales en uso (Álvarez, 2008).

La producción de plantas ornamentales y flores está limitada, principalmente, por la falta de protocolos eficientes para su propagación en gran escala, lo que condiciona la falta de material vegetal de calidad y la poca diversidad existente en el país. Esta es una de las causas de la necesidad de la importación de varias especies para poder satisfacer la demanda creciente de estas plantas en el mercado (Hernández *et al.*, 2009).

Spathiphyllum es un género de plantas con flores pertenecientes a la familia *Araceae*. La

especie *S. wallisii* Regel (2n=2x=30) está compuesta por plantas monocotiledóneas perennes, herbáceas con hojas grandes, ovaladas de color verde oscuro, brillantes, con ápice muy destacado, que nacen directamente del suelo. La inflorescencia consiste en un espádice cerrado por una espata, son muy atractivas y persistentes y se emiten en primavera y verano. Es una de las pocas plantas de interior que conjuga el atractivo de sus hojas con elegantes flores. Son muy utilizadas en hogares y oficinas, no sólo por su belleza y adaptación a bajas intensidades luminosas, sino que es una de las plantas que más purifica el aire (Jietang *et al.*, 2012; Lakshmanan *et al.*, 2013).

El uso comercial del espatifilo es diverso desde plantas en macetas, decoración de peceras como planta acuática, y arreglos florales por la persistencia de la flor. La propagación de estas especies principalmente es vegetativa, por separación de los vástagos que se desarrollan. La propagación por semillas es muy difícil y limitada.

Los métodos de propagación *in vitro* son usados para la propagación a gran escala de plantas ornamentales. En este género se han desarrollado numerosas investigaciones que han abarcado diferentes campos dentro del cultivo de tejidos: organogénesis (Teixeira *et al.*, 2006; Hasson *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2009), cultivo de óvulos y anteras, (Lakshmanan *et al.*, 2013), cultivo de protoplastos (Duquenne *et al.*, 2007), propagación utilizando bioreactores (Bewir *et al.*, 2006; Hasson *et al.*, 2007), florecimiento *in vitro* (Hassan *et al.*, 2007), inducción de poliploidía (Vanstechelman *et al.*, 2010, Katrijn *et al.*, 2011), efecto del magnetismo en la propagación *in vitro* (Thanh *et al.*, 2012), embriogénesis somática (Jietang, *et al.*, 2012) y el efecto de aplicaciones foliares de reguladores del crecimiento sobre las plantas (Rahbarian *et al.*, 2014).

Sin embargo, en la mayoría de los artículos científicos consultados sobre la propagación *in vitro* de esta especie, se han utilizado medios de cultivo con bajas concentraciones de 6-BAP, lo que se traduce en limitados coeficientes de multiplicación o en subcultivos alargados para obtener el material vegetal necesario.

En Cuba, a pesar del incremento de la demanda comercial de esta planta todavía se hace insuficiente la oferta por la carencia de material vegetal de calidad para abastecer el mercado. En este trabajo se persiguió el objetivo de determinar la influencia del 6-BAP en la multiplicación *in vitro* de *Spathiphyllum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal fue obtenido a partir de plantas madre mantenidas en macetas en casas de cultivo libres de plagas y enfermedades.

A estas plantas se le eliminaron las hojas. La parte basal de aproximadamente 7 cm que contenía el meristemo apical fue lavada con agua corriente y detergente. Estos segmentos fueron sumergidos durante 20 minutos en frascos estériles que contenían una solución compuesta por agua estéril e Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 3% y se

enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Luego el material vegetal fue cortado nuevamente hasta aproximadamente 3 cm. El proceso de desinfección se repitió nuevamente como se explicó anteriormente.

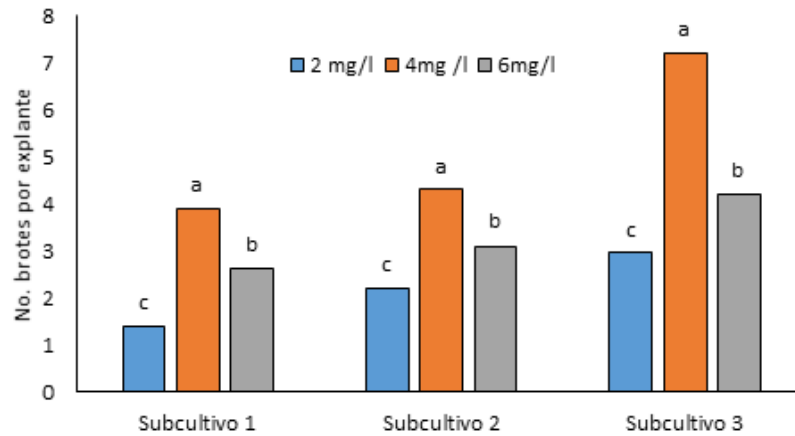
Ya en la cabina de flujo laminar se procedió al establecimiento de los ápices meristemáticos. Nuevamente se redujo el tamaño hasta 1 cm de longitud. Luego, se procedió a colocarlos en tubos de cultivo que contenían 10 ml de medio de cultivo líquido compuesto por las sales y vitaminas MS (Murashige y Skoog, 1962) con 6-Bencilaminopurina (6-BAP) (2.0 mg l⁻¹) y AIB (0.02 mg l⁻¹). Este material vegetal fue ubicado en cámara de crecimiento de luz solar a 27± 2°C y un fotoperíodo de 13/11h de luz/oscuridad con un rango de intensidad luminosa aproximada entre 23.2 y 44.5 μmol m⁻² s⁻¹ durante 21 días.

Posteriormente, con el objetivo de multiplicar los brotes se desarrolló un experimento con diferentes concentraciones de 6-BAP (2.0, 4.0, 6.0 mg l⁻¹). El medio de cultivo estaba compuesto por las sales y vitaminas MS, 0.05 mg l⁻¹ de ácido indolacético (AIA) y 30 g l⁻¹ de sacarosa. Se emplearon recipientes de cultivo de 500 ml de capacidad con 70 ml de medio de cultivo y 20 explantes en cada uno. Los recipientes se colocaron en cámara de crecimiento de luz solar a 27± 2°C y un fotoperíodo de 13/11h de luz/oscuridad con un rango de intensidad luminosa aproximada entre 23.2 y 44.5 μmol m⁻² s⁻¹ durante 21 días.

A los 21 días de cultivo se cuantificó el número de brotes por explante, momento en el cual el material vegetal fue subcultivado por separación de los brotes individualmente. Estos fueron colocados en el mismo medio de cultivo del cual procedían. Se realizaron tres subcultivos en las mismas condiciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que el 6-BAP influyó en la formación de nuevos brotes en esta especie. En los tres subcultivos evaluados el mayor número de brotes se obtuvo cuando se añadió al medio de cultivo 4.0 mg l⁻¹ de 6-BAP con diferencias significativas con las demás concentraciones estudiadas (Figura 1).



Barras con letras desiguales en un mismo subcultivo indican diferencias según la prueba de Kruskal-Wallis/Mann-Whitney, $p < 0.05$

Figura 1. Influencia de la concentración de 6- BAP en la formación de brotes de *S. wallisii* a los 21 días de cultivo.

En este experimento se hizo evidente la influencia que ejerce el regulador del crecimiento en el número de brotes obtenidos en cada subcultivo y a medida que aumenta el número de subcultivos. En el tercer subcultivo se obtuvieron 7.2 brotes por explante tan solo a los 21 días de cultivo. Das *et al.* (2000) emplearon en el medio de cultivo concentraciones de 6-BAP inferiores (1 mg l^{-1}) y obtuvieron siete brotes por explante pero en el transcurso de 45 días.

La disminución del tiempo y la obtención de alto coeficiente de multiplicación es un factor muy importante a la hora de programar un proceso de producción para la propagación *in vitro* en esta especie.

En cada subcultivo a los 21 días de cultivo la mayoría de los brotes obtenidos alcanzaron 2.0 cm de longitud.

Bewir *et al.* (2006) estudiaron el efecto de varias citoquininas y concentraciones en la obtención de brotes en la fase de multiplicación en *Spathiphyllum cannifolium* y encontraron que los mejores resultados fueron con el empleo del 6-BAP, con diferencias significativamente con las restantes citoquininas estudiadas en concentraciones de 3 mg l^{-1} .

REFERENCIAS

Álvarez A Z (2008) Plantas ornamentales en Cuba: usos, diversidad y amenazas. Revista del Jardín Botánico Nacional 29: 83-100

Bewir YH, Chakrabarty D, Hahn, EJ, K Y Paek (2006) A simple Method for mass propagation of *Spathiphyllum cannifolium* using an airlift bioreactor. *In vitro Cell Dev. Biol.-Plant* 42:291-297

Das A, Paul A K, Chaudhuri S (2000) Micropropagation of *Spathiphyllum wallisii* - an important ornamental plant. *Horticultural Journal* 13 (2): 71-75

Duquenne B, Eeckhaut T, S Werbrouck (2007) Effect of enzyme concentrations on protoplast isolation and protoplast culture of *Spathiphyllum* and *Anthurium*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 91:165-173

Hassan YD, Chakrabarty D, Babar MA, Singh NE, Hahn J, Yowp KP (2007) Influence of GA_3 , sucrose and solid medium/bioreactor culture on *in vitro* flowering of *Spathiphyllum* and association of glutathione metabolism. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 90: 225-235

Hernández MM, Suarez LS, M Valcárcel (2009) Empleo del Pectimorf en la micropropagación de *Spathiphyllum* sp. *Cultivos Tropicales* 30 (3): 56-58

Jietang Zhao, Jin Cui, Juanxu Liu-Feixiong Liao, Richard J Henny, Jianjun Chen (2012) Direct somatic embryogenesis from leaf and petiole explants of *Spathiphyllum* 'Supreme' and analysis of regenerants using flow cytometry. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 110: 239-249.

Katrijn Van Laere, Soraya C Franga, Hein Vansteenkiste, Johan Van Huylenbroeck, Kathy Steppe, Marie C Van Labeke (2011) Influence of ploidy level on morphology growth and drought susceptibility in *Spathiphyllum wallisii*. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 1149-1156

- Lakshmanan PS, Eeckhaut TJ, Van Huylenbroeck E, Van Bockstaele (2013) Micronucleation by mitosis inhibitors in developing microspores of *Spathiphyllum wallisii* Regel. Plant Cell Rep. 32(3): 379-388
- Murashige, T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497
- Rahbarian Parviz, Ali Salehi Sardoei, Afshar Fallah Imani (2014) Stimulatory effect of benzyladenine and gibberellic acid on growth and photosynthetic pigments of *Spathiphyllum wallisii* Regel plants. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2 (1): 230-237
- Teixeira JA Da Silva, Giang DDT, M Tamaka (2006) Photoautotrophic micropropagation of *Spathiphyllum*. Photosynthetica 44 (1): 53-61
- Thanh P Van Jaime, Teixeira JA Da Silva, Le Huy Ham, Michio Tanaka. (2012) Effects of permanent magnetic fields on *in vitro* growth of *Cymbidium* and *Spathiphyllum* shoots. *In vitro* Cell Dev. Biol-Plant 48: 225-232
- Vanstechelman I, Eeckhaut T, J. Van Huylenbroeck (2010) Histogenic analysis of chemically induced mixoploids in *Spathiphyllum wallisii*. Euphytica 174 (1): 61-72
- Recibido: 11-06-2014
Aceptado: 07-10-2014