

Efecto del tipo de sustrato en la aclimatización de plantas cultivadas *in vitro* de *Bambusa vulgaris*

Ortelio Hurtado*, Marisol Freire-Seijo, Michel Leiva-Mora, Yudith García-Ramírez. *Autor 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: ortelio@ibp.co.cu

RESUMEN

Bambusa vulgaris tiene diversos usos. La propagación por técnicas biotecnológicas puede ser una alternativa para cubrir la demanda de material de plantación. Con el objetivo de definir la influencia del tipo de sustrato en la aclimatización de las plantas cultivadas *in vitro* se realizó este trabajo. Se utilizaron dos componentes para elaborar el sustrato: humus de lombriz (HL) y zeolita (Z) que se combinaron (HL 70% y Z 30%, HL 60% y Z 40%, HL 50% y Z 50%, HL 80% y Z 20%). Como control se empleó humus de lombriz y zeolita. Las plantas *in vitro* procedentes de la fase de enraizamiento se aclimatizaron durante 90 días. Cada 10 días, se evaluó el número de raíces por planta, longitud de las raíces, número de brotes por planta, altura de la planta y número de hojas. A los 30 días de plantadas se determinó la supervivencia. Posteriormente, a los 90 días de cultivadas las plantas se determinó la masa fresca (g) y la masa seca. Se encontró que el tipo de sustrato influyó en la aclimatización de las plantas de *B. vulgaris* en casa de cultivo. Los mayores valores de supervivencia (%), número y longitud de las raíces, así como, número de brotes por planta y masa seca y fresca de las raíces y la zona caulinar se lograron cuando se combinaron el humus de lombriz con zeolita y a medida que la proporción de esta última fue mayor.

Palabras clave: bambú, humus de lombriz, zeolita.

Effect of substrate type on the acclimatization of *in vitro* plants of *Bambusa vulgaris*

ABSTRACT

Bambusa vulgaris var. *vulgaris* has several uses. The biotechnological propagation can be an alternative to reach the demand of planting material. This investigation was aimed to determine the influence of substrate type on the acclimatization of *in vitro* plants. Two main components (worm humus (HL) and zeolite (Z)) were used to produce the substrate. These were combined (HL 70% and 30% Z, HL 60% and 40% Z, HL 50% and 50% Z, HL 80% and 20% Z). Worm compost and zeolite substrate was used as control. *In vitro* plants from rooting phase were acclimatized for 90 days. The number of roots per plant was assessed every 10 days (root length, number of shoots per plant, plant height and leave number). Survival was determined after 30 days of planting. Plant fresh and dry mass (g) were determined, subsequently, after 90 days of culture. Results demonstrated that the type of substrate influenced on the acclimatization of plants of *B. vulgaris* in greenhouse. The highest survival (%), number and length of roots as well as number of shoots per plant, fresh and dry mass of roots and cauline area, were achieved when the zeolite and worm humus were combined and by increasing the proportion of this last product.

Keywords: bamboo, worm humus, zeolite.

INTRODUCCIÓN

Bambusa vulgaris tiene diversos usos tanto en la artesanía como en la industria y la construcción, además se utiliza para controlar la erosión y puede tolerar heladas no tan severas. Teniendo en cuenta la alta demanda que han alcanzado estas especies se desarrollaron técnicas biotecnológicas, para lograr una propagación más eficiente a escala productiva (Freire-Seijo *et al.*, 2011).

La propagación de plantas *in vitro* consta de cuatro fases dentro de las cuales se destaca la fase IV (aclimatización), de esta depende la calidad de las plantas que serán llevadas a campo.

Entre los factores que influyen en la aclimatización de plantas *in vitro* se destaca el sustrato; la eficiencia de esta fase depende de una adecuada selección de ellos (Morales *et al.*, 2008).

En la mayor parte de las casas de cultivo se trabaja con sustratos apropiados para lograr la aclimatación con calidad de las plantas. Para la aclimatación de plantas en condiciones *ex vitro*, se emplean sustratos que garanticen una adecuada aereación y drenaje (Agramonte *et al.*, 1998).

En la literatura científica consultada sobre la propagación *in vitro* de *Bambusa vulgaris*, no se encontraron estudios sobre la aclimatación de esta especie.

Por lo anteriormente señalado el objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia de diferentes sustratos en la aclimatación de plantas de *Bambusa vulgaris* obtenidas *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Plantas de *Bambusa vulgaris* propagadas *in vitro*, vía organogénesis, según el protocolo propuesto por García-Ramírez *et al.* (2009), con una altura mayor de 3.0 cm.

Los experimentos se realizaron en la casa de cultivo del IBP donde la temperatura media durante el día fue de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ y la humedad relativa del $84 \pm 5\%$. El flujo de los fotones fotosintéticos osciló entre 280 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (medido con un luxómetro EXTECH Light meter 401025).

Componentes de los sustratos

Zeolita: procedente de la Planta de Tazajera en Villa Clara, alta capacidad de intercambio catiónico (CIC), superior a 200 meq/100g de zeolita, cede lentamente los elementos a la planta en dependencia de las necesidades del cultivo para su crecimiento. pH: 7.8 Composición química: Si O₂ 66.2, Al₂O₃ 11.2, Ti O₂ 0.5, Fe₂O₃ 2.2, FeO 0.3, MgO 0.6, CaO 4.5, K₂O 1.3, P₂O₅ 0.07, H₂O 4.7; con una granulometría de 1.0-3.0 mm.

Humus de lombriz: procedente de la Biofábrica de Malezas. Se elaboró con el empleo de la lombriz californiana. Para la alimentación se utilizó cachaza con 4 meses en descomposición y pH estable en la neutralidad (7.1). Composición química: %N

1.16, %P 0.48, %K 0.14, % Ca 4.71, % Mg 0.35, Cu 0.52 ppm, Zn 155 ppm, Mn 503 ppm, % M.O. 25.4

Efecto del tipo de sustrato

Se prepararon combinaciones de sustrato a base de humus de lombriz (HL) y zeolita (Z) y se establecieron los siguientes tratamientos:

- HL 70% y 30% Z
- HL 60% y 40% Z
- HL 50% y 50% Z
- HL 80% y 20 % Z

Como controles se emplearon 100% de humus de lombriz y 100% de zeolita.

En los tratamientos que lo requerían se realizó una mezcla manual de los componentes. El sustrato se colocó en bandejas de polipropileno negra de 28 alvéolos con una capacidad de 200 cm³ cada uno.

Se utilizaron 15 plantas de *B. vulgaris* por cada tratamiento. El riego se aplicó por microaspersión con una frecuencia de cinco minutos cada seis horas.

Las plantas *in vitro* se aclimatizaron durante 90 días. Durante este periodo, cada 10 días, las variables evaluadas fueron: número de raíces por planta, longitud de las raíces (cm), número de brotes por planta (se cuantificaron los brotes mayores de 0.1 cm), altura de la planta (cm) medida desde la unión tallo-raíz hasta la inserción de la última hoja desarrollada y número de hojas.

A los 30 días de plantadas se determinó la supervivencia. Posteriormente, los 90 días de cultivo las plantas se extrajeron del sustrato y se lavaron las raíces con abundante agua para eliminar los restos de sustrato. Seguidamente se cortó la zona caulinar y radicular y se determinó la masa fresca (g) y la masa seca de cada sección. Para determinar la masa seca las secciones se mantuvieron a 60°C durante 27 h.

La comparación de los valores de número de raíces por planta, longitud de las raíces (cm), número de brotes por planta, altura de la planta (cm), número de hojas, masa seca

(g) y fresca (g) de la parte caulinar y de las raíces se realizó mediante la prueba de *Kruskal Wallis* previa comprobación de los supuestos de normalidad y heterogeneidad de varianza. Se utilizó el paquete estadístico *PASW Statistics* versión 18.0 sobre Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del tipo de sustrato

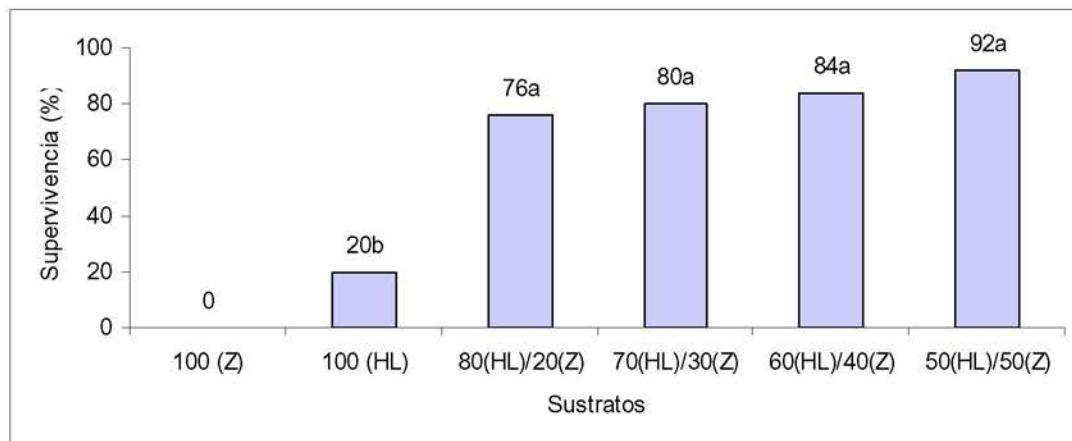
Se encontró que el tipo de sustrato influyó en la aclimatización de las plantas de *B. vulgaris* en casa de cultivo. Se hallaron diferencias significativas en cuanto a los porcentajes de supervivencia de las plantas en dependencia del sustrato que se utilizó. Los mayores porcentajes se lograron cuando se combinaron el humus de lombriz y la zeolita (Figura 1). Según Mohan y Häggman (2007), la mayoría de los sustratos utilizados para la aclimatización de especies de bambú están compuestos por una combinación de dos o más componentes.

Por otro lado se observó que el tipo de sustrato influyó en el desarrollo de las raíces. A partir de los 30 días se apreció una respuesta diferencial entre las plantas en cuanto al número de raíces de acuerdo con el tipo de sustrato empleado. Los mayores

valores en el número de raíces se obtuvieron cuando se empleó un sustrato con 50 % de humus de lombriz y 50% de zeolita a los 90 días de cultivo (Figura 2A y Figura 3e). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para la variable longitud de las raíces entre los tratamientos donde se empleó un sustrato compuesto por humus de lombriz y zeolita en diferentes proporciones (Figura 2B) y (Figura 3b-e).

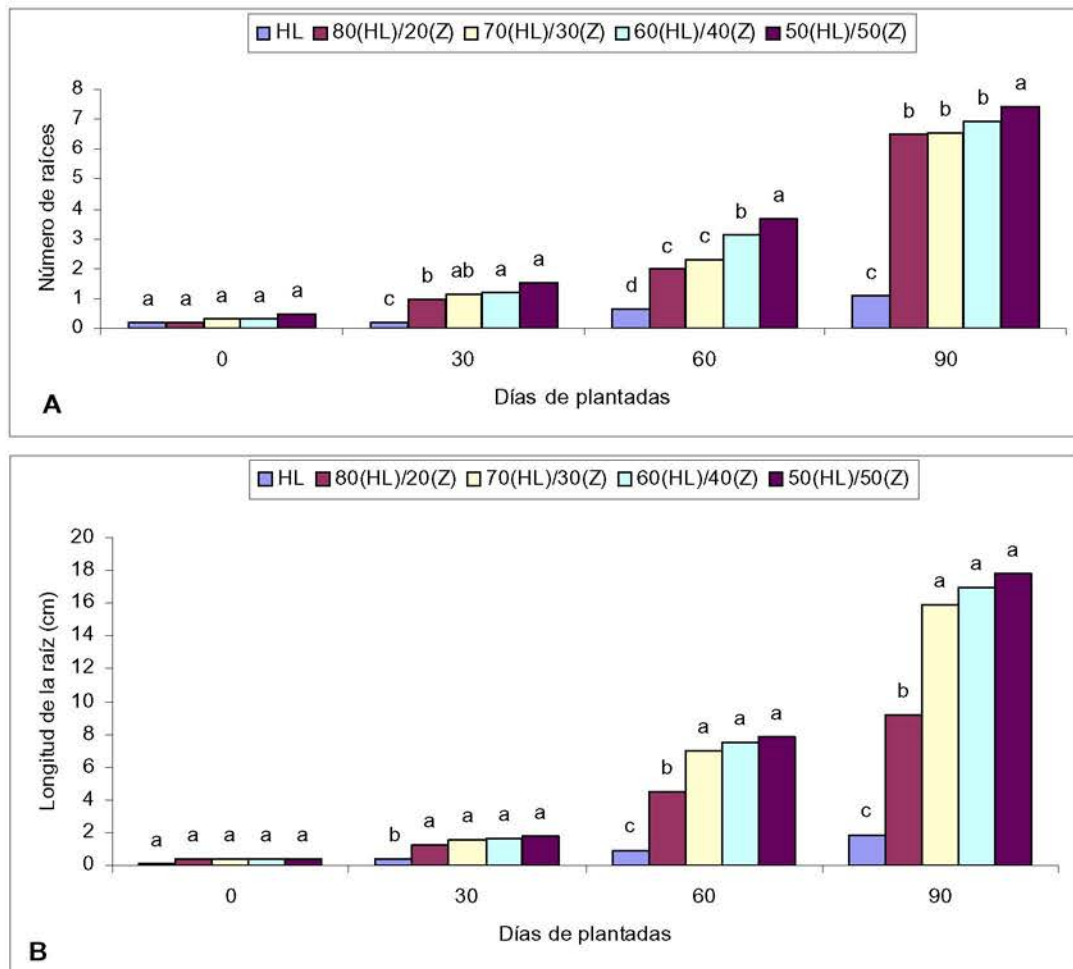
En relación con el número de brotes por planta a los 50 días de cultivo no se hallaron diferencias significativas entre las plantas aclimatizadas en los diferentes tipos de sustrato. Sin embargo, a partir de los 60 días de cultivo se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de brotes por planta en dependencia del tipo de sustrato que fue utilizado. Los mayores valores los alcanzaron las plantas cultivadas sobre el sustrato compuesto por 50% de humus de lombriz y 50% de zeolita (Figura 4 y 5).

En cuanto al contenido de masa fresca y seca de la raíz y de la zona caulinar de las plantas se comprobó que a medida que en la mezcla de componentes del sustrato la proporción de zeolita fue mayor, los resultados de esta variable también se incrementaron (Figura 6 A y B).



Valores medios sobre barras con letras distintas difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de *Kruskal Wallis* ($n=45$)

Figura 1. Supervivencia de plantas de *B. vulgaris* en diferentes sustratos durante la fase de aclimatización.



Barras con letras distintas difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Kruskal Wallis ($n=45$)

Figura 2. Influencia del tipo de sustrato en el desarrollo radicular en plantas de *B. vulgaris* durante la fase de aclimatización; A) número de raíces, B) longitud de la raíz (cm).

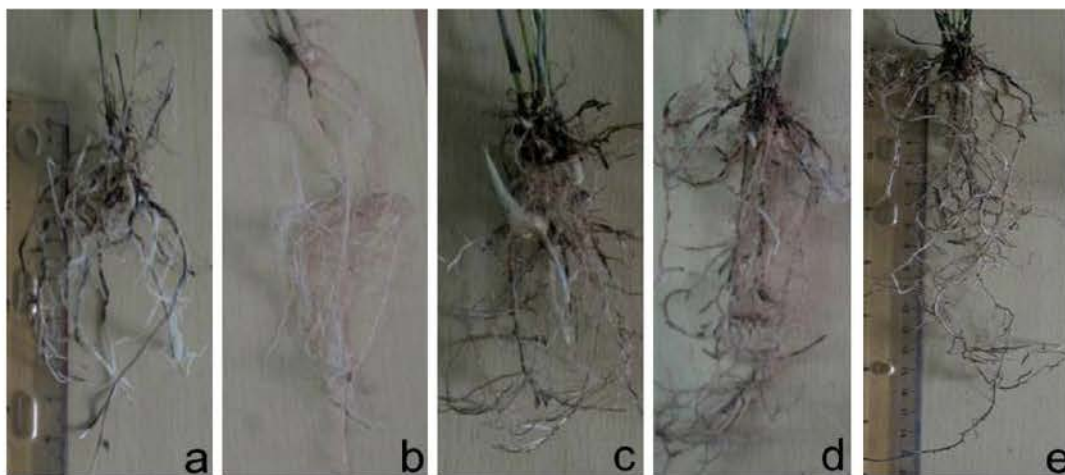
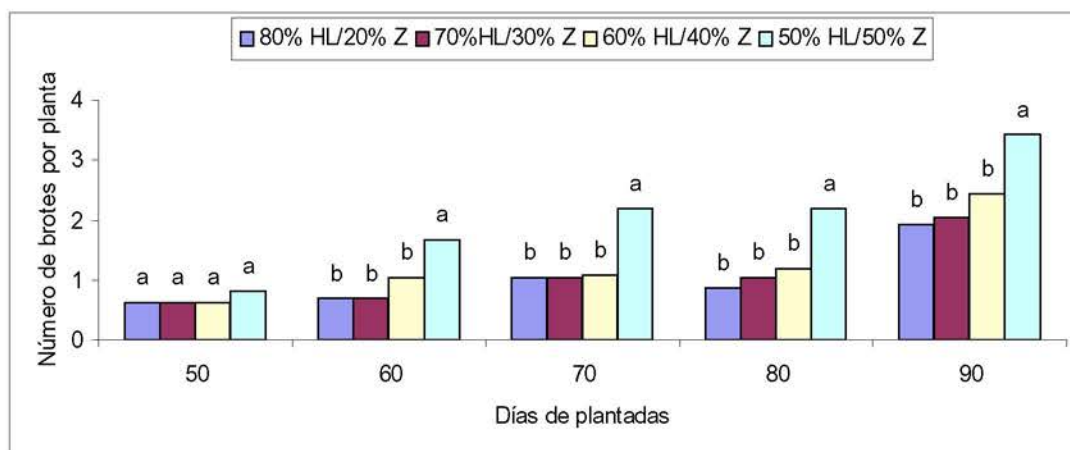


Figura 3. Influencia del tipo de sustrato en el desarrollo radicular de plantas de *B. vulgaris* en casa de cultivo. a humus de lombriz (HL), b) 80% HL – 20% Z, c) 60% HL - 40% Z, d) 70% HL – 30% Z y e) 50% HL – 50% Z.



Barras con letras distintas indican diferencias significativas de las medias para $p < 0.05$ según la prueba de Kruskal Wallis ($n=45$)

Figura 4. Influencia del tipo de sustrato en la formación de brotes por planta de *B. vulgaris* en fase de aclimatización.

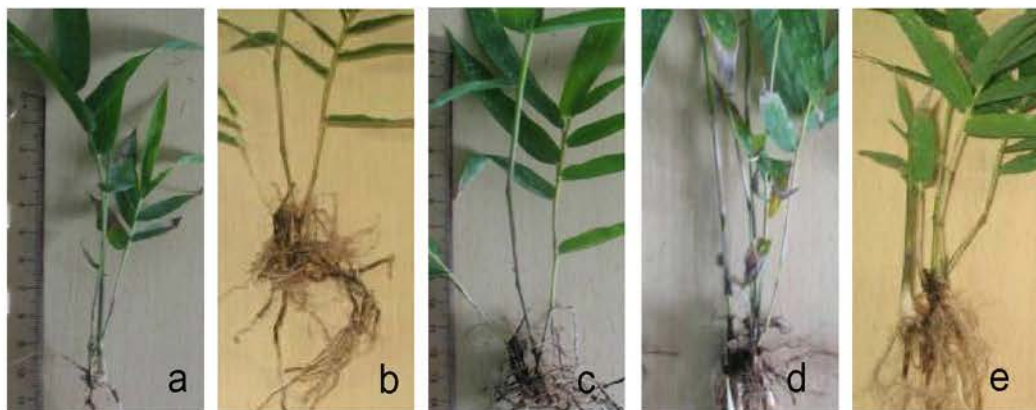
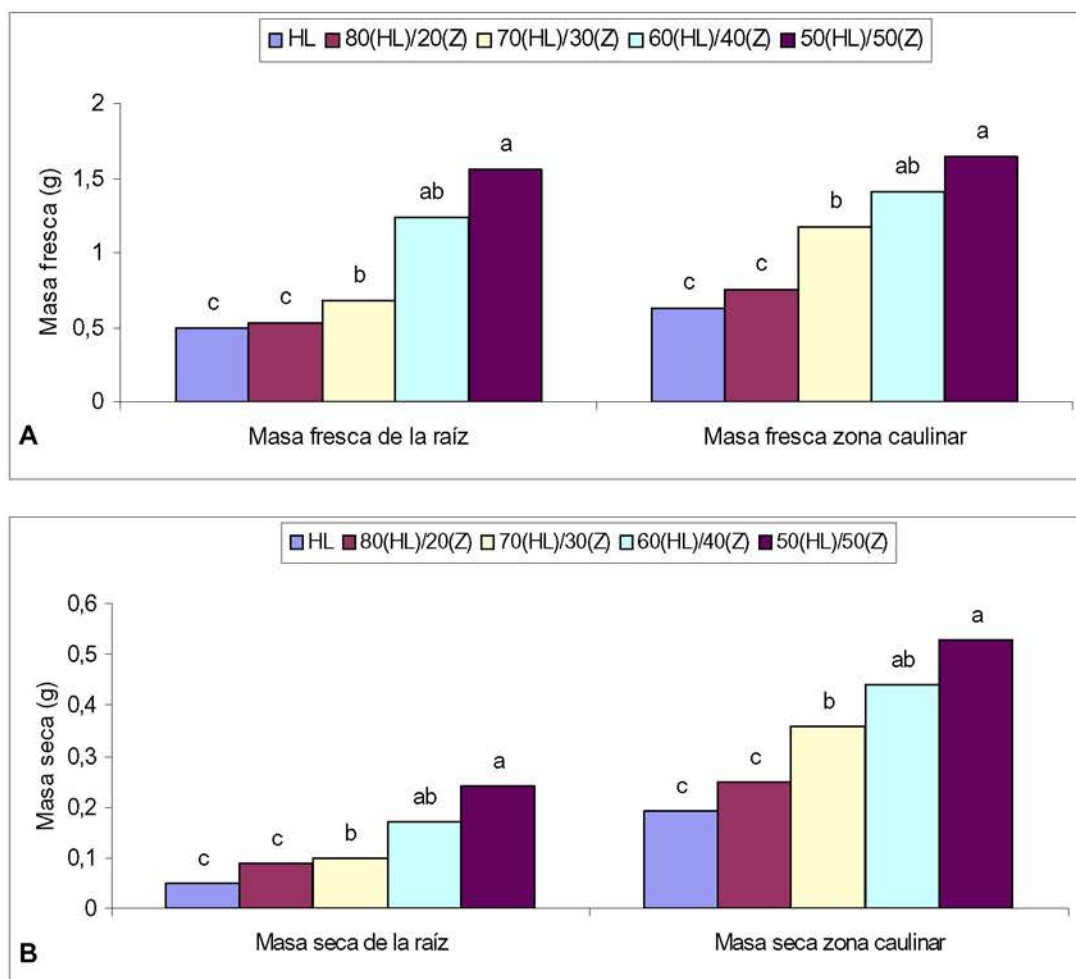


Figura 5. Influencia del tipo de sustrato en el número de brotes por planta de *B. vulgaris* en casa de cultivo. a) humus de lombriz (HL), b) 80% HL – 20% Z, c) 60% HL – 40% Z, d) 70% HL – 30% Z y e) 50% HL – 50% Z a los 90 días de plantadas.

Los resultados descritos en el presente trabajo pudieran estar relacionados con las características que le confiere la zeolita a la mezcla de sustrato. Según Flores *et al.* (2006) la zeolita, reduce drásticamente la lixiviación de los cationes potasio (K^+) y amonio (NH_4^+), también facilita la solubilización de los fosfatos haciendo el fósforo más asimilable a las plantas y, en consecuencia, estimula el desarrollo radicular.

La zeolita es un aluminosilicato hidratado cristalino con estructuras tridimensionales, caracterizados por la habilidad de retener y liberar agua e intercambiar iones sin modificar su estructura atómica, intercambian cationes como Ca^+ , Mg^+ , K^+ y NH_4^+ , así como diversos compuestos de fosfatos, amonio y

componentes de la materia orgánica. Posee una estructura tridimensional rígida (similar a un panal de abejas) conformada por una red de túneles interconectados que crea un amplia área superficial para realizar el intercambio catiónico y la adsorción de humedad. Estas características redundan en que no todos los objetivos de los tratamientos pretendidos con zeolitas resultan adecuados si no se conoce el tipo de material a utilizar para cada actividad en particular. La retención de agua por parte de las zeolitas coadyuva a disminuir la concentración de nitratos presentes en la lixiviación del suelo. La zeolita, al ser altamente hidrofílica, facilita la absorción de nutrientes por las plantas, ya que éstos son tomados por las raíces disueltos en agua (Chica *et al.*, 2006).



Barras con letras distintas indican diferencias significativas de las medidas para $p < 0.05$ según la prueba de Kruskal Wallis ($n=45$)

Figura 6. Influencia del tipo de sustrato sobre la masa seca y fresca de la zona caulinar y radicular de plantas de *B. vulgaris*. A) masa fresca, B) masa seca.

En este sentido, Rivas *et al.* (2005) emplearon para la aclimatación de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) diferentes tipos de sustrato y los mejores resultados los obtuvieron cuando combinaron humus de lombriz con zeolita en las proporciones de 50:50 y 75:25. Sin embargo, estos autores no lograron la supervivencia de las plantas cuando emplearon como sustrato solo zeolita. Estos resultados coinciden con los descritos en el presente trabajo donde con la siembra en zeolita sin humus de lombriz se obtuvieron los menores porcentajes de supervivencia.

En otros bambúes, autores como Marulanda *et al.* (2005), aclimatizaron plantas de *Guadua angustifolia* Kunth en bandejas plásticas sobre un sustrato compuesto por una mezcla de

suelo y arena (3:1). Durante los primeros ocho días las mantuvieron en cámara húmeda, transcurrido este tiempo retiraron la cubierta y evaluaron la supervivencia alcanzando un 95%, después fueron transplantadas a bolsas. Por otra parte, en *Drepanostachyum falcatum*, Arya *et al.* (2008) cuando se emplearon una mezcla de suelo, arena y estiércol de granja en relación (1:1:1), obtuvieron entre 10-20 porcentaje de supervivencia sin endurecer (*in vitro*) las plantas y un 90% a 95% de supervivencia endureciendo las plantas y luego se aclimatizaron.

Hasta el momento no se habían realizado estudios en especie de bambúes con el empleo de sustratos compuestos por una mezcla de humus de lombriz y zeolita.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados el tipo de sustrato influyó en la aclimatización de plantas de *B. vulgaris*. Los mayores valores de supervivencia (%), número y longitud de las raíces, así como, número de brotes por planta y masa seca y fresca de las raíces y la zona caulinar se lograron cuando se combinaron el humus de lombriz con zeolita y a medida que la proporción de esta última fue mayor.

REFERENCIAS

- Agramonte, D, Jiménez, F, Dita, MA, (1998) Aclimatización. En: Pérez Ponce, J. N. (Ed.). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología, pp.193-206. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa. Clara.
- Arya, ID, Sharma R, Arya S (2008) Micropropagation of ringal bamboo *Drepanostachyum falcatum* (Nees) Keng F through nodal segments. En: Kumar. A. (ed.) Recent Advances in plant biotechnology and its applications, pp. 198-204. I K International Pub, New Delhi
- Chica, F, Londoño LM, Álvarez MI (2006) La zeolita en la mitigación ambiental. Revista Lasallista de Investigación 3 (001): 30-34
- Freire-Seijo, M, García-Ramírez Y, Hurtado O, León M, Fajardo Rosabal L, Cruz-Martín M, Sánchez-García C, Alvarado-Capó Y, Acosta-Suárez M, Tejeda M, Roque B, Leiva-Mora M (2011) Combinación de técnicas biotecnológicas y tradicionales para la propagación de diferentes especies de bambú. Biotecnología Vegetal 11(3): 163 - 168
- García-Ramírez Y, Freire-Seijo M, Pérez B, Hurtado O (2009) Efecto de BAP y ANA en la multiplicación *in vitro* de *Bambusa vulgaris* var. *vulgaris* Schrad. ex Wendl. Biotecnología Vegetal 9 (3):189 - 192
- Kessel, A (2008) Aplicación de técnicas biotecnológicas en frutales, una vía valiosa para el rescate y la conservación de estas especies. Cultivos Tropicales 29 (3): 27-37
- Marulanda, L, M, Gutiérrez, G, L, Márquez, M (2005) Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunth. Actual Biol 27 (82): 5-15
- Mohan, S, Häggman, H (2007) Protocols for micropropagation of woody trees and fruits. A.C.I.P. Springer. Dordrecht
- Morales, C, Corbera J, Paneque V, M, Calaña JM (2008) Efecto del sustrato en la aclimatización del cultivo de Anturio (*Anthurium andreaeanum*). Cultivos Tropicales 29 (3): 75-79
- Morales, C, Corbera, J, Paneque, VM, Calaña, JM (2008) Efecto del sustrato en la aclimatización del cultivo de anturio (*Anthurium andreaeanum*). Cultivos Tropicales 29 (3): 75-79
- Rivas, F, Ruz R, Batista E, Santiago R, Leyva H (2005) Evaluación de sustratos para la producción de posturas de tabaco en condiciones de casa de cultivo. Centro Agrícola 32 (4): 33-36

Recibido: 27-1-2012

Aceptado: 23-3-2012