

## Establecimiento *in vitro* de la especie ornamental *Aglaonema* spp.

Diana M Pérez-Rodríguez<sup>1\*</sup>, Laisyn Posada-Pérez<sup>1</sup>, Melisa Maria Hernández-Pérez<sup>1</sup>, Mayelin Rodríguez<sup>1</sup>, Yenni Padrón<sup>1</sup>, Mariana la O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>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 54830.

### RESUMEN

Existe un interés comercial sobre plantas del género *Aglaonema* como ornamental dadas sus características morfofisiológicas. Sin embargo, por las vías principales de propagación usadas no se supe la demanda. Por ello, se hace necesario desarrollar protocolos de propagación *in vitro*. El objetivo del presente trabajo fue establecer *in vitro* *Aglaonema* spp., a través de organogénesis directa. Se evaluaron tres tiempos de exposición (15, 20 y 25 min) de los segmentos nodales al hipoclorito de sodio (3.0%). Además, se determinó el efecto de dos concentraciones de 6-BAP en el medio de cultivo de establecimiento *in vitro*. El protocolo de desinfección redujo la contaminación microbiana visible dependiendo del tiempo de exposición al hipoclorito de sodio. Los mejores resultados se obtuvieron con 20 y 25 min, sin diferencias significativas entre ellos. A los 15 días de cultivo el porcentaje de supervivencia coincidió con el porcentaje de contaminación. En los tratamientos con las dos concentraciones de 6-BAP ensayadas se observó la brotación de yemas y el crecimiento del brote *in vitro* en el 100% de los explantes vivos con un crecimiento vigoroso, color verde intenso y presencia de hojas expandidas a los 35 días de cultivo. Los resultados indicaron que es posible el establecimiento *in vitro* de brotes de *Aglaonema* spp. a partir de yemas axilares de plantas adultas y el empleo de 6-BAP en el medio de cultivo. Este es el primer informe de establecimiento *in vitro* de esta especie en Cuba.

**Palabras clave:** *Araceae*, cultivo *in vitro*, desinfección, propagación

### *In vitro* establishment of the ornamental species *Aglaonema* spp.

#### ABSTRACT

There is commercial interest in plants of the genus *Aglaonema* as ornamentals given their morphophysiological characteristics. However, the demand is not met through the main propagation methods used. Therefore, it is necessary to develop *in vitro* propagation protocols. The objective of this study was to establish *Aglaonema* spp. *in vitro* through direct organogenesis. Three exposure times (15, 20, and 25 min) of the nodal segments to sodium hypochlorite (3.0%) were evaluated. In addition, the effect of two concentrations of 6-BAP in the *in vitro* establishment culture medium was determined. The disinfection protocol reduced visible microbial contamination depending on the exposure time to sodium hypochlorite. The best results were obtained with 20 and 25 min, with no significant differences between them. After 15 days of culture, the survival rate coincided with the percentage of contamination. In treatments with the two concentrations of 6-BAP tested, bud sprouting and *in vitro* shoot growth were observed in 100% of live explants, with vigorous growth, an intense green color, and the presence of expanded leaves after 35 days of cultivation. The results indicated that *in vitro*

#### Editora:

Yelenys Alvarado-Capó  
Instituto de  
Biotecnología de las  
Plantas, Universidad  
Central Marta Abreu de  
Las Villas.

#### \*Correspondencia:

e-mail:  
feemartin@uclv.cu

**Recibido:** 21-11-2022

**Aceptado:** 07-01-2023

#### Copyright:

Este es un artículo de  
acceso abierto  
distribuido bajo una  
Licencia Creative  
Commons Atribución-  
NoComercial 4.0  
Internacional (CC BY-NC  
4.0)  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.

shoot establishment of *Aglaonema* spp. from axillary buds of adult plants is possible using 6- BAP in the culture medium. This is the first report of *in vitro* establishment of this species in Cuba.

**Keywords:** *Araceae*, disinfection, *in vitro* culture, propagation

## INTRODUCCIÓN

El mercado de plantas ornamentales está experimentando una transformación global (Ferrante *et al.*, 2015). Las plantas y espacios ornamentales son un elemento de trascendental importancia en el desarrollo del proceso educativo, la humanidad y la vida del planeta. Al tratar este tema se observa que en todos los países existe una gran variedad de parques y jardines públicos y privados desde las ciudades más grandes hasta los caseríos más pequeños, con una infinidad de plantas con diversas características estéticas. Lo cual tiene mucha importancia e influencia para el desarrollo de la humanidad (Guamán, 2015).

Las plantas ornamentales se cultivan porque tienen un valor estético en las flores, las hojas o la totalidad de la planta. Su principal función es la decoración y embellecimiento del ambiente donde se encuentren, dentro o fuera de la estancia. Se conocen al menos 2000 géneros que incluyen plantas de floricultura, arbustos ornamentales, árboles, pastos, bambú y plantas acuáticas (Chen, 2021).

*Aglaonema* es un género de plantas monocotiledóneas que pertenece a la familia *Araceae*. Es uno de los géneros de plantas de follaje ornamental más importante debido a su atractiva variedad foliar, tolerancia a condiciones de poca luz y facilidad de crecimiento. Estas características, combinadas con la posibilidad de vivir en espacios con baja tolerancia a la humedad relativa, la han hecho una planta de alto valor comercial como ornamental para el cultivo de interiores. Todo ello hace que se convierta en tendencia y un campo de negocio para los amantes de las plantas ornamentales (Chen *et al.*, 2002). Está constituido por 21 especies estudiadas. Son plantas perennes con tallo erecto o decumbente que puede crecer a lo largo del suelo y enraizarse alrededor de los nudos. En sus hojas, se presentan vistosas combinaciones de colores entre verde, blanco, gama rojo-amarillo y otras y la mayoría de los cultivares que se comercializan son híbridos obtenidos por mejoramiento genético tradicional (Henny *et al.*, 2003; Mariani *et al.*, 2011).

Debido a que la floración no es simultánea y el ciclo de vida del polen es corto, se dificulta la reproducción sexual. La mayoría de las especies de *Aglaonema* se propagan principalmente mediante semillas y vegetativamente. Además, se ha propagado por cultivo *in vitro* (Chen y Yeh, 2007; Barakat y Gaber, 2018).

La propagación *in vitro* es un método de multiplicación que permite producir una gran cantidad de plantas sanas y uniformes en poco tiempo y espacio limitado (Razdán, 2003; George y de Klerk, 2008). Estas técnicas de propagación *in vitro* pueden permitir la producción de plantas fisiológicamente uniformes y una multiplicación potencialmente rápida en *Aglaonema* (Barakat y Gaber, 2018). Sin embargo, el éxito de la propagación *in vitro* de *Aglaonema* se ve obstaculizado debido a que se han realizado varios protocolos pero aún no cumplen los

propósitos requeridos, principalmente por la dificultad para mantener la condición de cultivo aséptico y por la baja tasa de multiplicación de brotes ya que presenta contaminación microbiana, en particular de origen bacteriano (Bakarat y Gaber, 2018; Zahara y Win, 2020). Además, para la estandarización de un protocolo de propagación *in vitro* en *Aglaonema* spp., existen insuficientes investigaciones que permitan una alta reproducibilidad (Zhang *et al.*, 2004; Chen y Yen, 2007). Por otra parte, hasta donde tenemos referencia en Cuba no se ha explotado esta vía de propagación para plantas de *Aglaonema*.

Tomando en consideración lo anteriormente expuesto, este trabajo se propuso como objetivo establecer *in vitro* brotes de *Aglaonema* spp.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La presente investigación se realizó en el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

### *Procedimientos generales*

Los medios y frascos de cultivo se esterilizaron en autoclave vertical a 121 °C y 1.2 kg cm<sup>-1</sup> de presión. Los platos metálicos para el trabajo en la cabina de flujo laminar, se esterilizaron en estufa a 180 °C durante 2 h. El instrumental (pinzas y bisturíes), se desinfectaron en un esterilizador eléctrico (DENT-EQ, Alemania) que permaneció dentro de la cámara de flujo laminar horizontal, donde se realizó el manejo del material vegetal en condiciones de asepsia.

### *Condiciones de cultivo in vitro*

Los tubos y frascos de cultivo, de todos los experimentos se colocaron en cámara de crecimiento climatizada a 27±2 °C con luz solar, con un fotoperiodo de 12.5/11.5 h de luz/oscuridad con un rango de densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos (DFFF) entre 47.1 a 64.6 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; medido con un luxómetro PCE-174 Instruments (España).

## **Establecimiento *in vitro* de *Aglaonema* spp.**

### *Material vegetal*

Se utilizaron segmentos de tallos de 10-15 cm con varias yemas axilares que se tomaron de plantas madre de *Aglaonema* spp. cultivadas en casa de cultivo (Figura 1 A y Figura 1 B). A estas se les suspendió el riego tres días previos a la colecta de los explantes.



**Figura 1.** Plantas madre de *Aglaonema* spp. de donde se tomaron los explantes para el establecimiento *in vitro* (A y B). Segmento de tallos con yemas axilares de *Aglaonema* spp. (C).

#### *Desinfección*

El material vegetal colectado (Figura 1 C), se llevó al laboratorio para el proceso de desinfección. Los segmentos de tallos fueron lavados con agua corriente y detergente comercial, además de un suave cepillado para eliminar restos de suelo y materias extrañas que le pudieran quedar y así no afectar las yemas, se realizaron tres enjuagues. A continuación fueron colocados bajo llave con agua corriente durante 90 min. Posteriormente, se procedió a dividir la sección del tallo en segmentos nodales con una yema axilar.

Después en la cabina de flujo laminar se realizó la desinfección con etanol al 70.0% durante 1 min. Se eliminó el etanol y se colocaron en un recipiente estéril con una solución de hipoclorito de sodio al 3.0% más 2-3 gotas de Tween 20 durante tres tiempos de exposición: 15, 20 y 25 min, en agitador orbital, a 68 rpm.

#### *Medios de cultivo*

Se utilizó un medio de cultivo basal compuesto por las sales propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS) al 100%, vitaminas MS, 30 g l<sup>-1</sup> de sacarosa, 2.0 mg l<sup>-1</sup> de 6-bencilaminopurina (6-BAP), 0.023 mg l<sup>-1</sup> de ácido indolbutírico (AIB). El pH fue ajustado a 5.7 con NaOH (1.0 N) y HCl (1.0 N) previo a la esterilización en autoclave.

Se emplearon 30 tubos de cultivo de vidrio (16 x 2 cm), con 10 ml de medio de cultivo por tratamiento. Se colocaron las yemas axilares sobre papel de filtro en forma de M, uno por tubo de cultivo.

A los 15 días de cultivo se cuantificó el número de explantes contaminados con bacterias y hongos, con oxidación fenólica y el número de explantes vivos con lo que se calculó el porcentaje de contaminación y de supervivencia, respectivamente. A los 30 días de cultivo se cuantificó el número de yemas vivas y se calculó el porcentaje de supervivencia.

## **Influencia de la concentración de 6-BAP en el medio de cultivo para el establecimiento *in vitro***

Con el objetivo de estimular el crecimiento de los ápices de las yemas axilares, para que en la menor brevedad de tiempo pudieran pasar a la fase de multiplicación, se evaluó la influencia de la concentración de 6-BAP (2.0 y 5.0 mg l<sup>-1</sup>) en el medio de cultivo en la fase de establecimiento.

Los segmentos nodales fueron desinfectados según la mejor variante obtenida en el experimento anterior. Se establecieron *in vitro* 25 ápices de las yemas axilares por cada tratamiento. Se colocó un explante por tubo de cultivo según el medio de cultivo líquido correspondiente. Se realizaron las mismas evaluaciones que el experimento anterior además, de la evaluación a los 30 días del número de yemas brotadas y con formación de nuevos brotes (más de 0.5 cm de longitud).

### *Análisis estadístico*

El diseño experimental para todos los experimentos fue completamente aleatorizado. En el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y la homogeneidad de varianza por la prueba de Levene. Se utilizó el Paquete Estadístico SPSS versión 23.0 y STATISTICA versión 12.0 para la variable expresada en porcentaje, la diferencia entre los valores se determinó mediante la prueba de comparación de proporciones para dos muestras. Para la comparación entre las medias se aplicó un Análisis de varianza (ANOVA simple) y la diferencia entre las medias se determinó por la prueba de Tukey. En todos los casos las diferencias significativas fueron establecidas para  $p < 0.05$ . Todos los experimentos se repitieron dos veces.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Establecimiento *in vitro* de *Aglaonema* spp.**

El protocolo de desinfección aplicado redujo la contaminación microbiana visible dependiendo del tiempo de exposición al hipoclorito de sodio al 3.0%. Los contaminantes observados pertenecieron a los grupos microbianos hongos filamentosos y bacterias, con predominio de estas últimas. Los mejores resultados se obtuvieron con 20 y 25 min de exposición, sin diferencias significativas entre ellos (Tabla 1). Los explantes sin contaminación microbiana no sufrieron daños por la acción del desinfectante en los diferentes tiempos de exposición. En correspondencia con lo anterior, a los 15 días de cultivo el porcentaje de supervivencia coincidió con el porcentaje de contaminación. A los 30 días se alcanzó 100% de supervivencia y no aparecieron nuevos contaminantes. Estos resultados concuerdan con lo expuesto otros autores relacionado con que la contaminación microbiana es una limitante para el establecimiento *in vitro* de plantas de *Aglaonema* spp. (Chen y Yeh, 2007; Bakarar y Gaber, 2018).

**Tabla 1.** Efecto del tiempo de exposición al Hipoclorito de Sodio en la desinfección de yemas axilares de *Aglaonema* spp. a los 15 días de cultivo.

Tiempo (min)	Contaminación (%)		
	Bacterias	Hongos	Total
15	50.0	33.3	83.3 a
20	36.6	23.3	59.9 b
25	30.0	23.3	53.3 b

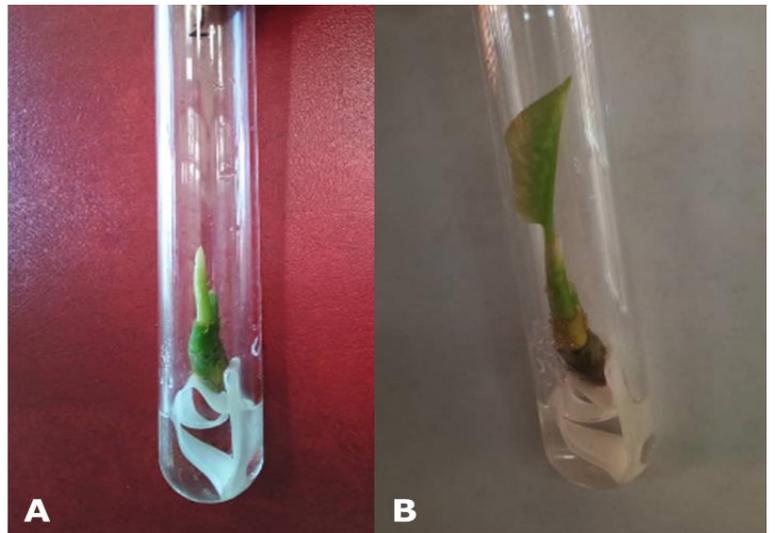
Porcentajes con letras distintas en una misma columna difieren significativamente para  $p < 0.05$  según la Prueba de proporciones. ( $n=60$ )

El hipoclorito de sodio ha sido usado tradicionalmente solo o en combinación con otros desinfectantes en la desinfección de los materiales vegetales a establecer *in vitro*, por su alto potencial redox (Calvo *et al.*, 2007). Sin embargo en cada protocolo para el establecimiento *in vitro* de especies vegetal es necesario ajustar la concentración y el tiempo de exposición. Por lo general se han usado concentraciones desde 1.0 a 6.0% en dependencia de las características morfológicas e higiénica del material vegetal a establecer (Janse, 2007). En este estudio se pudo corroborar que determinar el tiempo adecuado de exposición y concentración del mismo fue crucial para disminuir la contaminación microbiana en la fase de establecimiento *in vitro*.

Aunque se establecieron *in vitro* plantas de *Aglaonema* spp. a partir de yemas axilares de plantas adultas, se requieren otros estudios que conduzcan a la reducción de los porcentajes de contaminantes por microorganismos en aras de mejorar la eficiencia de esta fase. Al respecto, varios autores han ensayado diferentes estrategias ya que incuestionablemente la mayor fuente de contaminación primaria en los cultivos *in vitro* proviene de la planta madre (Cassells, 1991). Por ejemplo, se han intentado enfoques con la reducción del suministro de agua a las plantas madre antes de la toma del explante y la terapia con antibióticos (Chen y Yeh, 2007; Fang *et al.*, 2013), pero la efectividad de tales tratamientos ha sido impredecible.

### **Influencia de la concentración de 6-BAP en el medio de cultivo para el establecimiento *in vitro***

En los tratamientos con las dos concentraciones de 6-BAP ensayadas se observó la brotación de yemas y el crecimiento del brote *in vitro* en el 100% de los explantes vivos. Estos brotes tuvieron un crecimiento vigoroso, color verde intenso, con presencia de hojas expandidas a los 35 días de cultivo (Figura 3).



**Figura 3.** Brotes *in vitro* de *Aglaonema* spp. en el medio de cultivo con 2.0 mg l<sup>-1</sup> de 6-BAP a los 25 (A) y 35 (B) días de cultivo.

Varios autores han referido el uso de la citoquinina 6-BAP en los medios de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Aglaonema*. En este estudio se obtuvo un 100% de brotación de yemas al emplear concentraciones de 2.0 y 5.0 mg l<sup>-1</sup> de 6-BAP en el medio de cultivo sin diferencias significativas entre estas, lo cual indicó puede utilizarse para dicho fin. Resultados similares informaron Zhang *et al.* (2004) en *A. commutatum*, quienes lograron el mayor crecimiento de las yemas axilares con 2.5 mg l<sup>-1</sup> de 6-BAP. De igual manera, Fang *et al.* (2013) notificaron buenos resultados con el uso de 1.0; 5.0 y 10 mg l<sup>-1</sup> de este regulador de crecimiento. Sin embargo, El-Mahrouk *et al.* (2016) no utilizaron reguladores del crecimiento en el medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Aglaonema* spp. y la formación de los brotes demoró dos meses, lo cual corroboró la importancia del uso de 6-BAP para este propósito.

### CONCLUSIONES

Es posible el establecimiento *in vitro* de brotes de *Aglaonema* spp. a partir de yemas axilares de plantas adultas y el empleo de 6-BAP en el medio de cultivo. Este es el primer informe de establecimiento *in vitro* de esta especie en Cuba.

### REFERENCIAS

Barakat AA, Gaber MK (2018) Micropropagation and *ex vitro* acclimatization of *Aglaonema* plants. *Sciences* 8(4): 1425-1436

Cassells AC (1991) Problems in tissue culture: culture contamination. En: Debergh PC, Zimmerman RH (Eds). *Micropropagation*, pp. 31-44. Springer Netherlands, Dordrecht; doi: 10.1007/978-94-009-2075-0\_3

Calvo J, Calvente V, de Orellano ME, Benuzzi D, de Tosetti MIS (2007) Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis*

*cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. International Journal of Food Microbiology 113(3): 251-257

Chen J, Henny RJ, McConnell DB (2002) Desarrollo de nuevos cultivares de plantas de follaje. En: Janick J, Whipkey A (eds). Trends in new crops and new uses, pp. 466-472. ASHS Press, Alexandria

Chen WL, Yeh DM (2007) Elimination of *in vitro* contamination, shoot multiplication, and *ex vitro* rooting of *Aglaonema*. HortScience 42(3): 629-632

Chen J (2021) Ornamental Plant Research Inaugural Editorial. Ornamental Plant Research 1(1): 1-2; doi: 10.48130/OPR-2021-0001

El-Mahrouk ME, Dewir YH, Naidoo Y (2016) Micropropagation and genetic fidelity of the regenerants of *Aglaonema* valentine using randomly amplified polymorphic DNA. HortScience 51(4): 398-402

Fang JY, Hsu YR, Chen FC (2013) Development of an efficient micropropagation procedure for *Aglaonema* 'Lady Valentine' through adventitious shoot induction and proliferation. Plant Biotechnology 30(5): 423-431

Ferrante A, Trivellini A, Scuderi D, Romano D, Vernieri P (2015) Post production physiology and handling of ornamental potted plants. Postharvest Biology and Technology 100: 99-108; doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.09.005

George EF, de Klerk GJ (2008) The components of Plant Tissue Culture Media Macro and Micro-Nutrients. En: George EF, Hall MA, de Klerk GJ (eds). Plant Propagation by Tissue Culture 3<sup>rd</sup> Edition, pp. 65-114. Springer, The Netherlands; ISBN: 978-1-4020-5005-3

Guamán J (2015) Análisis de la influencia de las plantas ornamentales como estrategia para mejorar el entorno ecológico de la Escuela "Santa Catalina" de la Parroquia San Lucas. Universidad Tecnológica Equinoccial Quito. Disponible en: [http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/15598/63595\\_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/15598/63595_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y) Consultado 13/10/2022

Henny RJ, Norman DJ, Chen J (2003) Progress in ornamental aroid breeding research. Ann Missouri Bot Gard 91(3): 465-473

Janse JD (2007) Phytobacteriology: Principles and Practice. CABI Publishing, Wallingford; ISBN-13:978-1-84593-025-7

Mariani TS, Fitriani A, Wicaksono A, Chia TF (2011) NMU-induced mutation in *Aglaonema* by particle bombardment. International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS 11(3): 59-67

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. Physiologia plantarum 15: 473-497

Razdán MK (2003) Introducción al cultivo de tejidos vegetales. Dakota del Norte Ed., Science Publishers, Inc.

Zhang S, Jiang R, Zhou H (2004) Study on rapid propagation of *Aglaonema commutatum* cv. 'Golden Jewelry'. Chin Agr Sci Bull 20: 39-40

Zahara M, Win CC (2020) A Review: The Effect of Plant Growth Regulators on Micropropagation of *Aglaonema* sp. Journal of Tropical Horticulture 3(2): 96-100

**Financiamiento:** Este trabajo fue financiado a través del proyecto Mejora genética y propagación *in vitro* de especies ornamentales de interés comercial financiado por el Fondo Financiero de Ciencia e Innovación (FONCI) de la República de Cuba. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos. La decisión de publicar o la preparación del manuscrito, es de la institución y el colectivo de autores del proyecto.

**Conflicto de interés:** Los autores no declaran conflictos de intereses.

**Contribución de los autores:** Conceptualización DMPR Y LPP, Análisis formal DMPR Y LPP, Investigación DMPR, LPP, MMHP, MR, YP, MO, Metodología DMPR y LPP, Escritura: Primera redacción DMPR, Escritura: Revisión y Edición LPP y MMHP.

**Disponibilidad de datos:** Los datos del estudio se presentan en el artículo. Para otras consultas dirigirse a la autora en correspondencia.

Diana M Pérez-Rodríguez, <https://orcid.org/0009-0004-4896-0083>

Laisyn Posada-Pérez, <https://orcid.org/0000-0001-5154-5965>

Melisa María Hernández-Pérez, <https://orcid.org/0000-0002-2574-3754>

Mayelin Rodríguez Urquiza, <https://orcid.org/0000-0003-0088-8305>

Yenni Padrón Montesino, <https://orcid.org/0000-0002-2413-7672>

Mariana La O, <https://orcid.org/0000-0003-2300-2458>

**Como citar:**

Pérez-Rodríguez DM, Posada-Pérez L, Hernández-Pérez MM, Rodríguez M, Padrón Y, la O M (2023) Establecimiento *in vitro* de la especie ornamental *Aglaonema* spp. Biotecnología vegetal 23: 230309