

## Callogénesis en meliáceas exóticas (*Khaya nyasica* Stapf y *Toona ciliata*)

Marcos Daquinta\*, Yarianne Lezcano, Mariela Cid, Romelio Rodríguez, Danilo Pina, Maritza Escalona.

\*Autor para correspondencia.

Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Avila. Carretera a Morón Km 9. CP 69450. Cuba. e-mail: mdaquinta@bioplasmas.cu

### RESUMEN

Las Meliáceas son de gran importancia para los programas de construcción y de fabricación de muebles, entre otras aplicaciones. La *Khaya nyasica* es una Meliácea originaria de Africa por lo que en Cuba se le conoce como Caoba Africana y la *Toona ciliata* de la región del Himalaya, y en Cuba se le conoce como Cedro del Himalaya. La regeneración natural de estas especies ocurre estacionalmente por medio de semillas y asexual por injertos. Estas vías de propagación son limitadas, aún más cuando se desea introducir las especies a la producción. El objetivo del presente trabajo fue lograr la formación de callos en *Khaya nyasica* y *Toona ciliata* con vistas a establecer su propagación *in vitro*. Se utilizaron árboles adultos de 20 años de edad de *Khaya*, sin síntomas de necrosis cortical y en el caso de *Toona ciliata* se utilizaron plantas jóvenes. A partir de estas plantas se emplearon segmentos de hojas jóvenes y raquis de brotes formados en la base del tronco, se siguió el mismo protocolo de desinfección referido para otras Meliáceas y se implantaron en el medio de cultivo: MS + 0-1 mg.l<sup>-1</sup> Thidiazuron. Los callos obtenidos fueron nodulares con características morfogénicas, en los segmentos de hojas comenzó su formación por los extremos cortados al igual que en los extremos de los segmentos de raquis.

Palabras clave: callos, Caoba Africana, Cedro del Himalaya, regeneración de plantas, Thidiazuron

### ABSTRACT

Meliaceae are very important for the programs of construction and furniture production, among other applications. *Khaya nyasica* is a Meliaceae originally from Africa, as African Caoba. *Toona ciliata* is a Meliaceae originally from Himalayan Region, known in Cuba as Cedro of Himalayan. Natural regeneration in these species occur by seed and grafting. These sorts of propagation are limited, when it is wished to introduced these species in the production. The objective of this paper was to provide callus formation in *Toona ciliata* for *in vitro* propagation. Mature trees of 20 year in *Khaya nyasica* and of 2-3 years in *Toona ciliata* were used. In order to use rachis of young branchesthese these plants they were disinfected with same protocol reported for another Meliaceae and they were established in the tissue medium MS + 0-1 mg.l<sup>-1</sup> Thidiazuron. Nodular calli with good morphogenic characteristic were obtained, in the explants the calli formation began by cut ends. The shoots were achieved in darkness and plants regeneration in light in *Toona ciliata*.

Key words: callus, Caoba African, Cedro of Himalayan, plants regeneration, Thidiazuron

Abreviaturas: AIB- ácido indol-butírico, TDZ- Thidiazuron (N-1,2,3-thiadiazol-5-yl-N-phenylurea)

### INTRODUCCIÓN

Dentro de las Meliáceas y perteneciente al género *Khaya*, se pueden encontrar en diversas localidades de Cuba árboles aislados, pequeñas parcelas y plantaciones de *Khaya nyasica* Stapf., *Khaya senegalensis* A. Juss., y su híbrido natural. Llama poderosamente la atención en estas especies su vigoroso desarrollo, la excelente conformación fenotípica, así como la resistencia que presentan al ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller, ya que según estudios realizados en parcelas experimentales, las dos especies de caobas africanas y su híbrido natural, mostraron resistencia al ataque de esta plaga, lo que fue confirmado posteriormente por Manso (1974).

Las Meliáceas son de vital importancia para los programas de construcción y de fabricación de muebles, entre otras aplicaciones. La *Khaya nyasica* es originaria de Africa por lo que en Cuba se le conoce como caoba africana. Entre las características particulares de esta especie está la susceptibilidad a la necrosis cortical, por lo disponer de un método de propagación para clonar las plantas que muestren síntomas de resistencia a esta enfermedad es de mucha importancia para los programas de mejoramiento genético.

Entre las Meliáceas trabajadas por métodos biotecnológicos están la *Cedrela montana* (Carrizosa y Serrano, 1997), *Melia azedarach* (Mroginski y Scocchi, 1998; Handro y Floh, 2001),

*Azadirachta indica* (Murthy y Saxena, 1998; Soneji *et al.*, 2001), *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla* (Maruyama y Ishii, 1997; Valverde *et al.*, 1998). Por su parte las *Khayas* han sido poco estudiadas por estos métodos.

La regeneración natural de esta especie ocurre estacionalmente por medio de semillas y asexual por injertos. Estas vías de propagación son limitadas, aún más cuando se desea introducir la especie a la producción. El objetivo del presente trabajo fue lograr la formación de callos en *Khaya nyasica* (Caoba africana) y *Toona ciliata* (Cedro del Himalaya) con vistas a establecer su propagación *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Inducción de callos en segmentos de raquis de hojas inmaduras de *Khaya nyasica* y *Toona ciliata*

Se utilizaron árboles adultos de 20 años de edad, sin síntomas de necrosis cortical en *Khaya nyasica* y plantas jóvenes de *Toona ciliata*, de menos de

un año de edad. A partir de estas plantas se utilizaron segmentos de hojas jóvenes y raquis de brotes formados en la base del tronco, se siguió el mismo protocolo de desinfección referido para otras Meliáceas (Maruyama e Ishii, 1997) y se implantaron en el medio de cultivo semisólido propuesto por Murashige y Skoog (1962) al cual se le adicionó 0, 0.10, 0.25, 0.50 y 1.0 mg.l<sup>-1</sup> de Thidiazuron. Los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 1.2 kg/cm<sup>2</sup> durante 15 minutos. A las ocho semanas se evaluó el número de explantes que formaron callos y las características de los mismos. Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se observa el porcentaje de formación de callos en segmentos de raquis de *Toona ciliata* y *Khaya nyasica*, se encontró que los tratamientos con niveles intermedios de Thidiazuron fueron los de mejores resultados para la formación de callos en raquis en estas especies forestal.

Tabla 1. Comportamiento de la formación de callos en segmentos de raquis de *Toona ciliata* y *Khaya nyasica*.

Tratamientos (Thidiazuron mg.l <sup>-1</sup> )	Callos en Raquis de Toona (%)	Callos en Raquis de Khaya (%)
0	0 c	0 c
0.1	37.5 a	67 a
0.25	44.5 a	67 a
0.50	22.2 b	50 b
1.0	22.2 b	0 c
ES	0.22	0.28

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren para p = 5%.

Tanto en la Caoba africana como en el Cedro del Himalaya la mejor respuesta se obtuvo con concentraciones intermedias del regulador del crecimiento; es decir con 0.25mg.l<sup>-1</sup> de Thidiazuron (TDZ) se logró la mayor formación de callos tanto en raquis de *Toona* y *Khaya*. En *Toona* la multiplicación de los callos fue mayor (datos no publicados), esto se debe a que los explantes en este forestal provenían de plantas jóvenes de menos de un año de edad.

Barrueto *et al.* (1997, 1999) lograron los mayores porcentajes de formación de callos y regeneración de plantas a partir de segmentos de hojas y nudos de plántulas de *Miconia* sp y *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* con Thidiazuron (TDZ).

La aplicación de TDZ induce diversas formas de respuesta de los cultivos *in vitro* que van desde la inducción de callos hasta la formación de embriones. Un número de eventos fisiológicos y

bioquímicos en las células ocurren por la influencia del TDZ (Murthy *et al.*, 1998).

Los callos obtenidos son nodulares con buenas características morfogénicas (Figura 1). En los segmentos de hojas (datos no presentados) comenzó su formación por los extremos cortados al igual que en los extremos de los segmentos de raquis. Sin embargo, en los raquis se logró una mayor respuesta de los explantes a la formación de callos con estas características.

La mayor respuesta morfogénica puede ser atribuida a la mayor juvenilidad de las células del peciolo que las células de los segmentos distal (Pierik, 1990).

Sinha *et al.* (1999) encontraron que los segmentos de peciolos del cotiledón de *Albizia chinensis*, fueron más morfogénicos para diferenciar brotes que los segmentos distales del cotiledón, en presencia de TDZ.

La organogénesis de brotes en *Guazuma crinita* a partir de peciolos fue obtenida vía formación de yemas adventicias por Maruyama *et al.* (1997) cuando establecieron estos explantes en medio de cultivo enriquecido con citoquininas.

Se logró la regeneración de plantas en la *Toona ciliata*. En estos momentos se continúan los trabajos para lograr la regeneración de brotes a partir de los callos obtenidos de raquis de *Khaya nyasica*.

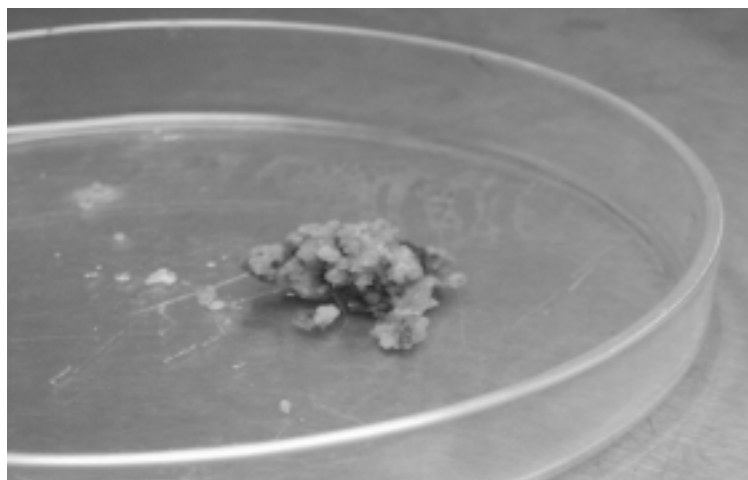


Figura 1. Callo nodular obtenido a partir de raquis de ramas jóvenes de *Toona ciliata*.

## REFERENCIAS

Barrueto, LP, ACM Gomes, SBR Da Costa y JB Teixeira (1997) Micropropagation of *Miconia* sp, a woody melastomaceae from Brazil, using thidiazurin as plant growth regulator. *Revista Brasileira de Fisiología Vegetal* 9(1): 21-25

Barrueto, LP, ACMG Machado, SBRC Carvalheira y ACM Brasileiro (1999) Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 56: 17-23

Carrizosa, MS y C Serrano (1997) Propagación de *Cedrela montana* por cultivo *in vitro*. *Memorias del IV Congreso. Tomo II, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia*, pp 255-260

Handro W y EIS Floh (2001) Neo-formation of flower buds and other morphogenetic responses in tissue cultures of *Melia azedarach*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 64: 73-76

Manso, DM (1974) Observaciones sobre el comportamiento y control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller) en Cuba. *Baracoa* 4(3-4)

Murashige, T y FA Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497

Murthy, BNS y PK Saxena (1998) Somatic embryogenesis and plant regeneration of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Plant Cell Reports* 17: 469-475

Murthy, BNS, SJ Murch y PK Saxena (1998) Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 34: 267-275

Maruyama, E y K Ishii (1997) Tissue culture studies on big-leaf mahogany *Swietenia macrophylla*. *Proc. Int. Workshop BIO-REFOR*, pp116-118, Australia

Maruyama, E, K Ishii, I Kinoshita, K Ohba y A Saito (1997) Micropropagation of *Guazuma crinita* Mart by root and petiole culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 33: 131-135

Mroginski, LA y AM Scocchi (1998) Conservación de germoplasma de Paraíso (*Melia azedarach*) mediante cultivo *in vitro* de meristemos. *Resúmenes III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal*, pp 214-215, La Habana

Pierik, RLM (1990) Rejuvenation and micropropagation. En Nijkamp, HJJ, LHW Pllasbender, J Vaan Aartrijk (eds). *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology*. pp 91-101 Kluwer Acad. Pub. Dordrech

Sinha, RK, K Majundar, S Sinha (2000) *In vitro* differentiation and plant regeneration of *Albizia chinensis* (Os) Merr. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 36: 370-373

Soneji JR, Rao PS y Marte M (2001) Enhanced regeneration of multiple shoots and plantlets in young cotyledons of Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 7(2): 175-180

Valverde, L, M Dufour, VM Villalobos (1998) *In vitro* organogenesis in *Albizia guachapele*, *Cedrela odorata* and *Swietenia macrophylla*. *Revista Biológica Tropical* 46(2): 225-228