

Efecto de la aplicación de AIA y sacarosa en el enraizamiento *in vitro* de las variedades Sonate y Lambada de *Anthurium andraeanum* Lind.

Nydia del Rivero Bautista^{1,2*}, Daniel Agramonte Peñalver¹, Raúl Barbón Rodríguez¹, Wilder Camacho Chiu² y Felipe Jiménez Terry¹. Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830.

²Dirección General Tecnológica Agropecuaria. Carretera Cumuapa, Cunduacán, Tabasco, México. e-mail: delriverobautista@yahoo.com.mx

RESUMEN

En este estudio se determinó el efecto de diferentes concentraciones de ácido indolacético (AIA) y sacarosa sobre el enraizamiento en *Anthurium andraeanum* en las variedades 'Lambada' y 'Sonate' cultivadas *in vitro*. Explantes nodales provenientes de plántulas obtenidas *in vitro* se cultivaron en un medio de cultivo MS modificado en estado líquido, suplementado con 2.89 y 5.71 μM de AIA y 30 y 40 g.l^{-1} (p/v) de sacarosa. Las variables evaluadas fueron la altura de las plantas (cm), el número de raíces y la longitud de las raíces (cm). En la fase de enraizamiento la mejor concentración de sacarosa en el medio de cultivo fue de 40 g.l^{-1} , observándose que el incremento en su concentración mejoró la altura de las plantas, así como el número y longitud de las raíces para las dos variedades. En ambas variedades se encontraron diferencias en el requerimiento de AIA en las variables evaluadas.

Palabras clave: *Araceae*, cultivo *in vitro*, micropropagación

Abreviaturas: ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA), ácido indolbutírico (IBA), 6-furfurilaminopurina (kin)

ABSTRACT

The effect of different concentrations of indole-3-acetic acid (AIA) and sucrose *Anthurium andraeanum* in the varieties 'Lambada' and 'Sonate' in the enraizamiento phase during the micropropagation of this species was determined in this study. Nodal explants, coming from plantlets obtained *in vitro*, were cultivated in a liquid culture medium MS modified, supplemented with 2.89 and 5.71 μM AIA and 30 and 40 g.l^{-1} (w/v) of sucrose. The length of the buds (cm), the number of roots and the length of the roots (cm) were the evaluated variables. In the rooting phase the best sucrose concentration in the cultivation medium was of 40 g.l^{-1} , being observed that the increment in its concentration improved the length of the plants, as well as the number and length of the roots for the two varieties. There were differences in the requirement of AIA in the evaluated variables in both varieties.

Key words: *Araceae*, *in vitro* culture, micropropagation

Abbreviations: IAA (Indole-3-acetic acid), NAA (naphthalenacetic acid), IBA (Indole-3-butyric acid), Kin (6-furfurylaminopurine)

INTRODUCCIÓN

Las especies dentro del género *Anthurium*, familia de las *Araceae* son apreciadas por sus flores exóticas, el follaje y la alta demanda de nuevos cultivares y de material vegetal para la propagación. Convencionalmente se propagan por semillas pero su progenie es heterocigótica. La micropropagación es una alternativa atractiva para la multiplicación masiva de cultivares al incrementar los coeficientes de multiplicación y la obtención de material vegetal sano (Martin *et al.*, 2003; Puchoa, 2005).

La micropropagación ha sido utilizada extensivamente para la multiplicación rápida de

muchas especies. Sin embargo, a menudo su uso es restringido por el alto porcentaje de plantas que se pierden o dañan cuando son transferidas a condiciones *ex vitro* (Pospisilova *et al.*, 1999; Seelve *et al.*, 2003).

Para el enraizamiento de brotes de plantas ornamentales obtenidos *in vitro* se han utilizado dos procedimientos: enraizamiento *in vivo* y enraizamiento *in vitro*. La ventaja del primero radica en que a la vez que se está llevando a cabo el enraizamiento, los brotes se adaptan a las condiciones ambientales en las cuales crecerán y se desarrollarán las plantas; sin embargo, con este método existe una

probabilidad muy alta de que el número de plántulas sobrevivientes sea bajo, ya que aún no han desarrollado raíces para realizar sus funciones de absorción y transporte nutrimental. Con el segundo método se induce el enraizamiento *in vitro* y posteriormente los brotes son establecidos en las condiciones de aclimatización con una humedad relativa alta durante este período, la cual se va reduciendo gradualmente hasta alcanzar el nivel normal en casa de cultivo o campo (Pierik, 1990). En el enraizamiento *in vitro*, en general se ha observado que la iniciación de raíz y la posibilidad de enraizamiento pueden aumentar de manera significativa al disminuir los niveles de sales minerales en el medio de cultivo nutritivo e incrementar la concentración de sacarosa del 2 al 5 %, lo cual mejora el enraizamiento y la aclimatización (Pierik *et al.*, 1975; Díaz-Pérez *et al.*, 1995; Soukup *et al.*, 2004). Se ha observado que las auxinas son inductores universales de raíces adventicias. Varios estudios han indicado una correlación positiva entre niveles endógenos de ácido indolacético (AIA) en plántulas y el número de raíces adventicias producidas por plántula (Weigel *et al.*, 1984; Alvarez *et al.*, 1989).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del AIA y la sacarosa en el enraizamiento *in vitro* de dos variedades de *A. andraeanum* Lind.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal utilizado como fuente de explantes para el enraizamiento fueron brotes nodales de *Anthurium andraeanum* de dos variedades: 'Sonate' y 'Lambada' procedentes de la fase de multiplicación de plantas obtenidas *in vitro* según la metodología propuesta por Pierik (1976) y que fue aplicada en el Laboratorio

de Propagación Masiva del Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

Condiciones de cultivo

Para el enraizamiento *in vitro* se empleó el medio de cultivo en estado líquido. Las sales utilizadas fueron las propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS) modificadas con los macronutrientes al 50%, micronutrientes completos, 100 mg.l⁻¹ mio-inositol y vitaminas MS. El pH del medio de cultivo fue ajustado a 5.8 con KOH y HCl. El medio de cultivo fue esterilizado durante 20 minutos a 1.2 kgf.cm⁻² y se distribuyeron 25 ml por frascos de cultivo de vidrio con una capacidad de 250ml. Los tratamientos se colocaron en una cámara de crecimiento con luz solar a una temperatura de 26±2°C y con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) de aproximadamente 48-62.5 μmol.m⁻².s⁻¹.

Efecto del AIA y las concentraciones de sacarosa sobre el enraizamiento *in vitro* de dos variedades de *A. andraeanum*

El objetivo de este experimento fue comparar el efecto del ácido indolacético (AIA) y dos concentraciones de sacarosa. Los tratamientos utilizados se muestran en la tabla 1.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Cada tratamiento consistió en diez repeticiones y cada repetición estuvo integrada por cuatro explantes. Las variables evaluadas fueron altura de las plantas (cm), número de raíces y longitud de las raíces (cm). A los 30 días después de iniciado el cultivo se realizó la evaluación.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó un ANOVA factorial, empleando el software Statgraphics Plus versión 5.1 para 'Windows'.

Tabla 1. Concentraciones de AIA y sacarosa empleados para el enraizamiento de plántulas obtenidos *in vitro* de *A. andraeanum*, var. 'Lambada' y 'Sonate'.

Tratamientos	AIA (μM)	Concentración de sacarosa (g.l ⁻¹)
1	0.00	30
2	0.00	40
3	2.89	30
4	2.89	40
5	5.71	30
6	5.71	40

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del AIA y las concentraciones de sacarosa sobre el enraizamiento *in vitro* de dos variedades de *A. andraeanum*

Los resultados obtenidos para la variedad 'Sonate' se muestran en la figura 1. Se encontró que las concentraciones de AIA y sacarosa estudiadas produjeron diferente respuesta en las variables. Se observó que el incremento en las concentraciones de AIA y sacarosa mejoraron el enraizamiento.

Para la variable altura con una concentración de AIA de 2.89 μM y una concentración de sacarosa de 40 g.l^{-1} se alcanzó el mayor valor, sin embargo, cuando se aumentó la concentración de AIA la altura de las plantas disminuyó (Figura 1.a,b).

El número promedio de raíces por planta fue mayor cuando la concentración de AIA se aumentó a 5.71

μM y la concentración de sacarosa a 40 g.l^{-1} (Figura 1.c,d). Para la longitud promedio de raíces por planta la interacción entre reguladores de crecimiento y sacarosa produjo diferencias significativas entre ellos. El valor más alto en la longitud de las raíces por planta se obtuvo con una concentración de 5.71 μM de AIA y 40 g.l^{-1} de sacarosa (Figura 1.e, f).

En la variedad 'Lambada' los resultados obtenidos mostraron una interacción significativa entre reguladores de crecimiento y sacarosa para la variable altura de planta; no siendo así para las variables número promedio de raíces y longitud promedio de raíces (Figura 2). Además, se observó que las concentraciones de AIA y sacarosa promovieron diferente respuesta en las variables en estudio; un incremento en la concentración de AIA y sacarosa aumentó la longitud de las plantas y la longitud de las raíces.

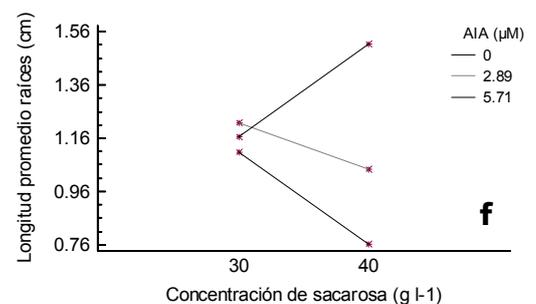
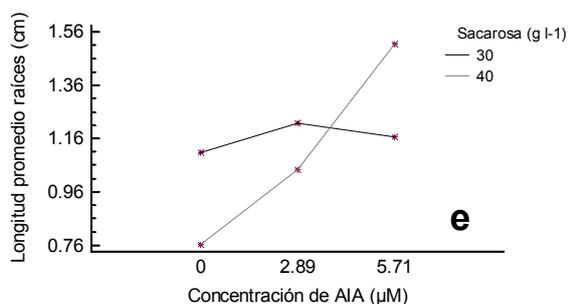
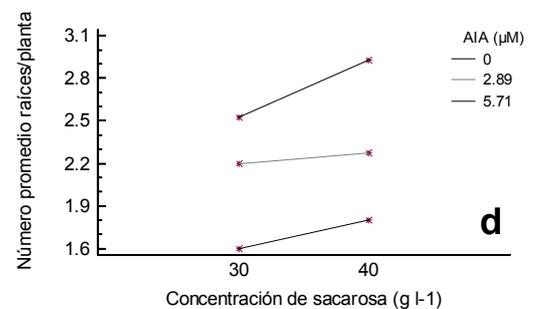
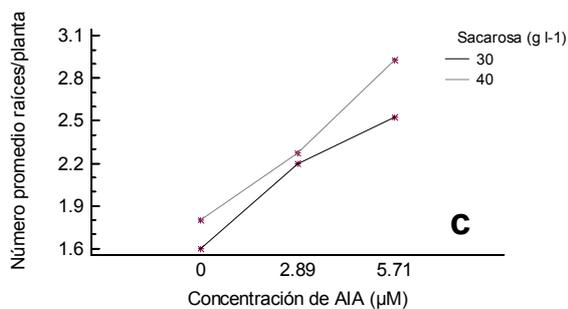
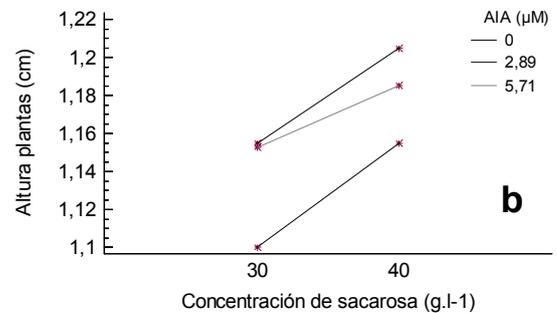
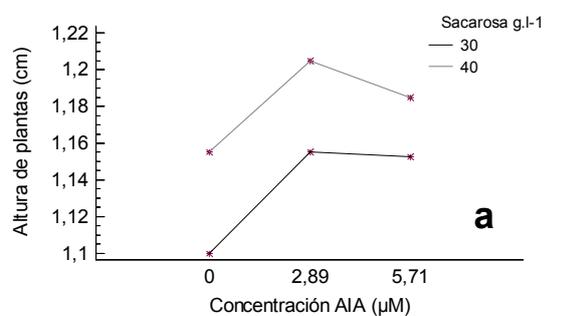


Figura 1. Influencia de las concentraciones de AIA y sacarosa en el enraizamiento *in vitro* de la variedad 'Sonate' en las variables altura de las planta (a, b), número promedio de raíces (c, d) y longitud promedio de raíces (e, f), después de 30 días de cultivo.

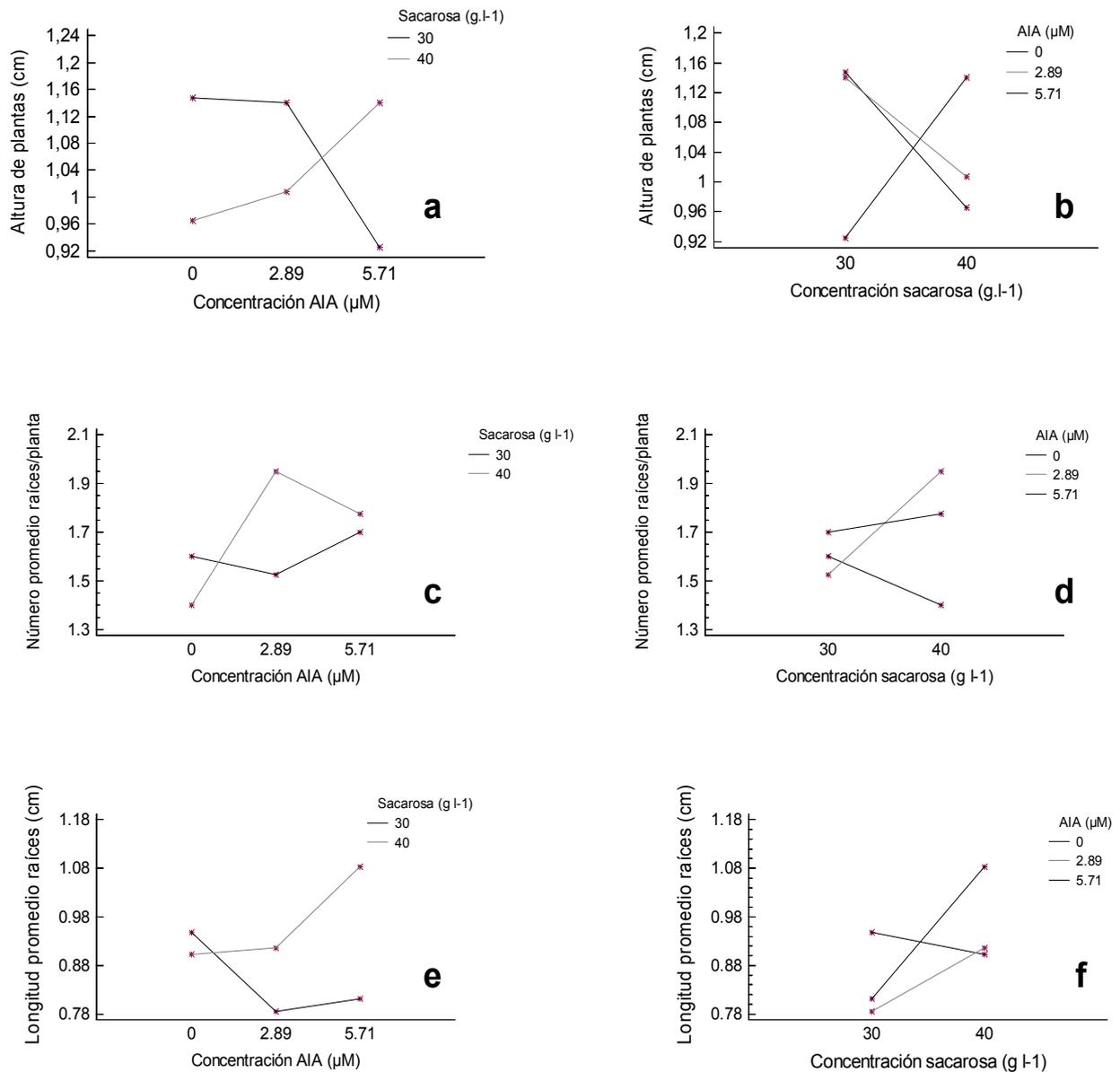


Figura 2. Influencia de las concentraciones de AIA y sacarosa en el enraizamiento *in vitro* en la variedad 'Lambada' en las variables altura de las plantas (a, b), número promedio de raíces (c, d) y longitud promedio de raíces (e, f), después de 30 días de cultivo.

El valor más alto en la altura de las plantas se alcanzó con una concentración de 5.71 μM de AIA y una concentración de sacarosa de 40 g.l⁻¹, también se observó que con 30g.l⁻¹ de sacarosa cuando se incrementó el AIA la longitud de las plantas disminuyó (Figura 2.a,b). El número promedio de raíces fue mayor con una concentración de AIA de 2.89 μM y una concentración de sacarosa de 40 g.l⁻¹ (Figura 2. c,d). Para longitud promedio de raíces por planta los mejores resultados se hallaron con una concentración de AIA de 5.71 μM y una concentración de sacarosa de 40 g.l⁻¹ (Figura 2. e,f).

Con respecto a los reguladores de crecimiento en el enraizamiento *in vitro* los resultados obtenidos

no concuerdan con los alcanzados por otros autores en *Anthurium*; ya que ellos utilizaron 1.2 μM IBA (Atta-Alla *et al.*, 1998), 0.54 μM ANA y 0.93 μM kin (Martin *et al.*, 2003), 0.54 mM ANA (Joseph *et al.* (2003) 4.92 μM IBA y carbón activado 0.04% (Puchooa, 2005). Por otra parte existen otros estudios sobre esta misma familia y género donde los brotes presentaron un enraizamiento espontáneo siguiendo la eliminación o disminución de los reguladores de crecimiento sobre todo las citoquininas (Pierik, 1976; Matsumoto y Kuehnle, 1997; Blanco y Valverde, 2004 y Vargas *et al.*, 2004).

Otros autores se refieren a que la formación de raíces adventicias en yemas nodales o adventicias

es una etapa crítica en la propagación vegetativa de muchas especies vegetales, con cualquier método clásico de multiplicación o micropropagación. El re-establecimiento del sistema radicular de tejidos sin meristemas pre-existentes es a menudo estrictamente dependiente de la aplicación de auxina exógena. Sin embargo, las raíces formadas por tratamientos con auxina pueden ser malformadas o retardar su crecimiento y la pérdida de muchas plántulas durante la siguiente fase de aclimatización (de Klerk *et al.*, 1999). Para evitar estas desventajas, muchos autores han combinado auxina con diferentes compuestos como aminoácidos (Orlikowska 1992) o carbohidratos (Cheng *et al.* 1992; Pawlicki y Welander 1995).

Con respecto a la concentración de sacarosa en *Anthurium* no existen estudios sobre la utilización de diferentes concentraciones de sacarosa para el enraizamiento *in vitro*. Sin embargo, los resultados alcanzados tienen relación con lo observado por Koroch *et al.* (1997), quienes mencionan que al incrementar la concentración de sacarosa en el medio de cultivo de 0 a 45 g.l⁻¹ aumentó el número de raíces en la especie ornamental *Hedeoma multiflorum*. Asimismo, estos resultados coinciden con lo encontrado por Andrade y López (1994) y Olivera *et al.* (2000) quienes señalan que el incremento en la concentración de sacarosa causó un aumento en el número y longitud de raíces en otras especies ornamentales como la gerbera (*Gerbera jamesonii*).

Galiba y Erdei (1986) mencionan que la concentración de sacarosa en el medio de cultivo es de suma importancia, ya que influye no sólo en el crecimiento de las plantas, sino en la formación de cloroplastos y en la inducción de brotes, así como que se ha observado que los cambios en la concentración de sacarosa producen alteraciones en el desarrollo de las plantas, los cuales afectan tanto su metabolismo como las condiciones osmóticas del medio.

CONCLUSIONES

Se comprobó que la presencia de sacarosa en el medio de cultivo favoreció el enraizamiento *in vitro* en las variedades 'Sonate' y 'Lambada'. La mejor concentración fue de 40 g.l⁻¹. Se observó que el incremento en la concentración mejoró la altura de las plantas, así como el número y longitud de las raíces para las dos variedades. Además, se encontraron diferencias en el requerimiento de AIA en las variables evaluadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES) y al Colegio de Postgraduados - Campus-Tabasco por su apoyo financiero para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- Alvarez, R, Nissen SJ y Sutter EG (1989) Relationship between indole-3-acetic acid levels in apple (*Mulus pumila* Mill) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in the presence of indole-3-butyric acid. *Plant Physiol* 89: 439-443
- Andrade, RM y López PMC (1994) Propagación *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii*). En: Memorias del 11º Congreso Latinoamericano de Genética y XV Congreso de Fitogenética. Monterrey Nuevo León.
- Atta-Alla, H, McAlister BG y van Staden J (1998) *In vitro* culture and establishment of *Anthurium parvispathum*. *S. Afr. J. Bot* 64(5):296-298
- Blanco, M y Valverde R (2004) Micropropagación de *Philodendron* sp. (posiblemente *P. corcovadense*). *Agronomía Costarricense* 28(1): 39-46
- Cheng, B, Peterson CM y Mitchell RJ (1992) The role of sucrose, auxin and explant source on *in vitro* rooting of seedling explants of *Eucalyptus sideroxylon*. *Plant Sci.* 87:207-214
- de Klerk, GJ, vd Krieken W y de Jong JC (1999) The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 35:189-199
- Díaz-Pérez, JC, Shakel KA y Sutter EG (1995) Effects of *in vitro* formed roots and acclimatization on water status and gas exchange of tissue cultured apple shoots. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:435-440
- Galiba, G y Erdei L (1986) Dependence of wheat callus growth, differentiation and mineral content on carbohydrate supply. *Plant Sci.* 45:65-70
- Joseph, D, Martin KP, Madassery J y Phillips VJ (2003) *In vitro* propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *Indian J. Exp. Biol.* 41:154-159
- Koroch, A R, Juliani R, Juliani RH Jr y Trippi V (1997) Micropropagation and acclimatization of *Hedeoma multiflorum*. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 48:213-217
- Martin, KP, Dominic J, Madassery J y Phillip VJ (2003) Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 39(5): 500-504
- Matsumoto, TK y Kuehnle AR (1997) Micropropagation of *Anthurium*. En: Bajaj, YPS (eds.). *Biotechnology in agriculture and forestry. High Tech and Micropropagation VI*, pp.15-29 Springer-Verlag. New York
- Murashige, T y Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15:473-497
- Olivera, OVZ, Gutiérrez EMA, Gutiérrez EJA y Andrade RM (2000) Cultivo *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. *Bioagro* 12(3):75-80
- Orlikowska, T (1992) Influence of arginine on *in vitro* rooting of dwarf apple rootstocks. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 31:9-14
- Pawlicki, N y Welander M (1995) Influence of carbohydrate source, auxin concentration and time of exposure on adventitious rooting. *Plant Sci.* 106:167-176
- Pierik, RLM, Jansen JL, Maasdam A y Binnendijk CM (1975) Optimization of gerbera plantlet production from excised capitulum explants. *Sci. Hort.* 3: 351-357
- Pierik, RLM (1976) *Anthurium andraeanum* plantlets produced from *in vitro* cultivated callus tissues. *Physiol. Plant.* 37:80-82

- Pierik, RLM (1990) Preparación y composición del medio de cultivo. En: Cultivo *in vitro* de las Plantas Superiores, pp. 45-86. 3a. ed. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Pospíšilová, J, Tichá I, Kadlec P, Haisel D y Plzákova S (1999) Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42(4):481-497
- Puchooa, D (2005) *In vitro* mutation breeding of *Anthurium* by *Gamma* radiation. *International Journal of Agriculture and Biology* 7(1):11-20
- Seelye, FJ, Burge KG y Morgan RE (2003) Acclimatizing tissue culture plants: Reducing the shock. *Combined Proceedings International Plant Propagators Society, New Zealand* 53:85-90
- Soukup, A, Malá J, Hrubcova M, Kalal J, Votrubova O y Cvikrova M (2004) Differences in anatomical structure and lignin content of roots of pedunculate oak and wild cherry tree plantlets during acclimation. *Biologia Plantarum* 48(4):481-489
- Vargas, ET, Mejias A, Oropeza M y de García E (2004) Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* cv Rubrun. *Electronic Journal of Biotechnology* 7(3):282-286
- Weigel, U, Horn W, y Hock B (1984) Endogenous auxin levels in terminal stem cuttings of *Chrysanthemum morifolium* during adventitious rooting. *Physiol. Plant.* 61:422-428