

CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS

CONSERVACIÓN DE ESPECIES ENDÉMICAS DE LA FAMILIA CACTACEAE. III: *MAMMILLARIA PROLIFERA* L.

Yamila Rosales Simonot*, Argelio Pifferrer Escalona, Luis Enrique Rodríguez de Francisco, Rayma Cantillo Ardeból, Yerina Santiago Bardón, Janet Igarza Castro. *Autor para correspondencia.

Laboratorio Provincial de Biotecnología Vegetal. Centro de Investigaciones y Servicios Ambientales y Tecnológicos. CITMA. Jardín Botánico en Carretera a Mayabe. Holguín.
e-mail: yamila@cbv.holguin.inf.cu

RESUMEN

La familia de las cactáceas está catalogada como una de las más seriamente amenazadas con la extinción. Cuba cuenta con varias especies incluidas en esta categoría. *Mammillaria prolifera* L., es la única especie endémica de este género, categorizada como estado crítico por la colecta desmedida de los coleccionistas. En el presente trabajo se describen los riesgos que amenazan a la especie en nuestra provincia, así como la metodología desarrollada para la conservación de semillas. Se realizaron diferentes estudios para conservar las semillas y evaluar su comportamiento durante la conservación respecto a la desinfección, a la capacidad germinativa de las semillas, a la ruptura de la dormancia o latencia y estudios sobre la longevidad de las semillas conservadas, comparando la germinación entre semillas conservadas y sin conservar, así como la adaptación de las plantas germinadas *in vitro* y su posterior reincorporación a la colección de plantas vivas del Jardín Botánico de Holguín.

Palabras clave: cactáceas, conservación de semillas, desinfección, dormancia, germinación

SEEDS CONSERVATION OF AN ENDEMIC SPECIE OF CACTACEAE. III: *MAMMILLARIA PROLIFERA* L.

ABSTRACT

The *Cactaceae* family is catalogued as one of the most seriously threatened of extinction. Cuba has some species included in this category. *Mammillaria prolifera* L. is the only endemic specie of this genera in Cuba, and is categorized in critical stage in danger of extinction because of the excessive collecting of the collectionists people. In this work we describe the risk which endangered the specie in our province, and the developed methodology for seeds conservation. We realized different studies for seeds conservation and their behaviour during conservation process, such as disinfection, seeds germinative capacity, dormancy breakdown and conserved seeds longevity, comparing the conserved and not conserved seeds germination power, and the acclimatization of *in vitro* seeds germinated and their introduction in the alive plants collection in the Botanical Garden of Holguín.

Key words: *Cactaceae*, disinfection, dormancy, germination, seeds conservation

CONSERVACIÓN DE ESPECIES ENDÉMICAS DE LA FAMILIA CACTACEAE. IV: *OPUNTIA MILITARIS* BRITT

Yamila Rosales Simonot*, Argelio Pifferrer Escalona, Luis Enrique Rodríguez de Francisco, Rayma Cantillo Ardeból, Yerina Santiago Bardón, Janet Igarza Castro. *Autor para correspondencia.

Laboratorio Provincial de Biotecnología Vegetal. Centro de Investigaciones y Servicios Ambientales y Tecnológicos. CITMA. Jardín Botánico en Carretera a Mayabe. Holguín. e-mail: yamila@cbv.holguin.inf.cu

RESUMEN

La familia de las cactáceas está catalogada como una de las más seriamente amenazadas con la extinción. Cuba cuenta con varias especies incluidas en esta categoría. *Opuntia militaris* Britt. es una especie endémica oriental, actualmente amenazada por la acción antropogénica en su hábitat natural. En el presente trabajo

se describen los riesgos que amenazan a la especie en la provincia Holguín, así como la metodología desarrollada para la conservación de semillas. Se realizaron diferentes estudios para conservar las semillas y evaluar su comportamiento durante la conservación respecto a la desinfección, a la capacidad germinativa, a la ruptura de la dormancia o latencia y estudios sobre la longevidad de las semillas conservadas, comparando la germinación entre semillas conservadas y sin conservar, así como la adaptación de las plantas germinadas *in vitro* y su posterior reincorporación a la colección de plantas vivas del Jardín Botánico de Holguín.

Palabras clave: cactáceas, conservación de semillas, desinfección, dormancia, germinación

SEEDS CONSERVATION OF AN ENDEMIC SPECIE OF CACTACEAE. IV: OPUNTIA MILITARIS BRITT

ABSTRACT

The *Cactaceae* family is catalogued as one of the most seriously threatened of extinction. Cuba has some species included in this category. *Opuntia militaris* Britt. Is an oriental endemic specie, actually threatened of extinction due to the anthropogenic action in its natural habits. In this work we describe the risk which endangered the specie in our province, and the developed methodology for seeds conservation. We realized different studies for seeds conservation and their behaviour during conservation process, such as disinfection, seeds germinative capacity, dormancy breakdown and conservated seeds longevity, comparing the conserved and not conserved seeds germination power, and the acclimatization of *in vitro* seeds germinated and their introduction in the alive plants collection in the Botanical Garden of Holguín.

Key words: *Cactaceae*, disinfection, dormancy, germination, seeds conservation

CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE ESPECIES ENDÉMICAS DE LA FAMILIA CACTACEAE. I: HARRISIA ERIOPHORA PFEIFFER

Yamila Rosales Simonot*, Argelio Pifferrer Escalona, Luis Enrique Rodríguez de Francisco, Rayma Cantillo Ardeból, Yerina Santiago Bardón, Janet Igarza Castro. *Autor para correspondencia.

Laboratorio Provincial de Biotecnología Vegetal. Centro de Investigaciones y Servicios Ambientales y Tecnológicos. CITMA. Jardín Botánico en Carretera a Mayabe. Holguín.
e-mail. yamila@cbv.holguin.inf.cu

RESUMEN

La familia de las cactáceas está catalogada como una de las más seriamente amenazadas con la extinción. Cuba cuenta con varias especies incluidas en esta categoría. *Harrisia eriophora* (L.) Pfeiffer es una especie endémica representantes de su género en Cuba, la presencia de esta, unidas a otros endemismos dentro del Área protegida de Güirito-Punta de Mangle, es uno de los factores que hacen tan particular esta zona dentro de la Reserva Ecológica de Caletones, sin embargo, se pudo determinar, que las poblaciones de esta especie dentro de esta área poseen escasos individuos, los cuales se están perdiendo a causa de diversos factores bióticos y abióticos. En el presente trabajo se describen los riesgos que amenazan a la especie en la provincia de Holguín, así como la metodología desarrollada para la conservación de semillas. Se realizaron diferentes estudios para conservar las semillas y evaluar su comportamiento durante la conservación respecto a la desinfección, a la capacidad germinativa de las semillas, a la ruptura de la dormancia o latencia, y estudios sobre la longevidad de las semillas conservadas, comparando la germinación entre semillas conservadas y sin conservar, así como la adaptación de las plantas germinadas *in vitro* y su posterior reincorporación a la colección de plantas vivas del Jardín Botánico de Holguín.

Palabras clave: cactáceas, conservación de semillas, desinfección, dormancia, germinación

SEEDS CONSERVATION OF AN ENDEMIC SPECIE OF CACTACEAE. I: HARRISIA ERIOPHORA PFEIFFER

ABSTRACT

The *Cactaceae* family is catalogued as one of the most seriously threatened of extinction. Cuba has some species included in this category. *Harrisia eriophora* Pfeiffer is an endemic specie of this genera in Cuba. Its presence joined to the others endemisms in the Güirito-Punta de Mangle Protected Area is one of the factors which make this zone so particular in the Caletones Ecological Reserve, nevertheless, it is determinated that the population of this specie in these area has very scared plants which are losing because of some biotics and abiotics factors. In this work we describe the risk which

endangered the specie in our province, and the developed methodology for seeds conservation. We realized different studies for seeds conservation and their behaviour during conservation process, such as disinfection, seeds germinative capacity, dormancy breakdown and conserved seeds longevity, comparing the conserved and not conserved seeds germination power, and the acclimatization of *in vitro* seeds germinated and their introduction in the alive plants collection in the Botanical Garden of Holguín.

Key words: *Cactaceae*, disinfection, dormancy, germination, seeds conservation

CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE ESPECIES ENDÉMICAS DE LA FAMILIA CACTACEAE. II: MELOCACTUS HOLGUINENSIS ARECES

Yamila Rosales Simonot;* Argelio Pifferrer Escalona; Luis Enrique Rodríguez de Francisco; Rayma Cantillo Ardeból; Yerina Santiago Bardón; Janet Igarza Castro. *Autor para correspondencia.

Laboratorio Provincial de Biotecnología Vegetal. Centro de Investigaciones y Servicios Ambientales y Tecnológicos. CITMA. Jardín Botánico en Carretera a Mayabe. Holguín.
e- mail: yamila@cbv.holguin.inf.cu

RESUMEN

La familia de las cactáceas está catalogada como una de las más seriamente amenazadas con la extinción. Cuba cuenta con varias especies incluidas en esta categoría. *Melocactus holguinensis* Areces, presenta una situación bastante dramática. Según un informe presentado en el Tercer Taller para la conservación, Análisis y Manejo planificado de Plantas Silvestres Cubanas CAMP III, refieren esta especie como incluida dentro del Libro Rojo Nacional con categoría P (peligro de extinción), en CITES categoría II, y se le ha asignado la categoría de estado crítico, por poseer poblaciones muy localizadas y reducidas, planteándose que sólo existen aproximadamente 118 individuos maduros. También se informa de la pérdida de sus ecosistemas naturales por la antropización y factores naturales como el fuego. Esta especie no cuenta con planes de manejo *ex situ*, que incluyan el cultivo *ex situ*, la recuperación del taxón, la introducción o reintroducción de individuos, el desarrollo de métodos para propagar el taxón, en fin, no existen medidas que contribuyan en el más mínimo grado a la conservación actual de estas especies en sus localidades de origen. En el presente trabajo se describen los riesgos que amenazan a la especie en la provincia de Holguín, así como la metodología desarrollada para la conservación de semillas. Se realizaron diferentes estudios para conservar las semillas y evaluar su comportamiento durante la conservación respecto a la desinfección, a la capacidad germinativa de las semillas, a la ruptura de la dormancia o latencia, y estudios sobre la longevidad de las semillas conservadas, comparando la germinación entre semillas conservadas y sin conservar, así como la adaptación de las plantas germinadas *in vitro* y su posterior reincorporación a la colección de plantas vivas del Jardín Botánico de Holguín.

Palabras clave: cactáceas, conservación de semillas, desinfección, dormancia, germinación

SEEDS CONSERVATION OF AN ENDEMIC SPECIE OF CACTACEAE. II: MELOCACTUS HOLGUINENSIS ARECES

ABSTRACT

The *Cactaceae* family is catalogued as one of the most seriously threatened of extinction. Cuba have some species included in this category. *Melocactus holguinensis* Areces, presents a very dramatic situation. In The third Workshop for Conservation, Analysis and planified management of Cuban Wild plants CAMP III, report this specie included in the National Red Book as a critical stage in danger of extinction, in CITES II, and it posses very localized and reduced populations , with only 118 adults approximately. As where as they support the lose cause associated with the lost of its ecosystems because of the antropization and natural factors as fire. This specie have not *ex situ* management plans, which include the *ex situ* culture, the taxon rescued the introduction or reintroduction of individuals, the development of the taxon propagation methods, and do not exist alternatives which contributes at least grade of the actual conservation in their original localities. In this work we describe the risk which endangered the specie in our province, and the developed methodology for seeds conservation. We realized different studies for seeds conservation and their behaviour during conservation process, such as disinfection, seeds germinative capacity, dormancy breakdown and conserved seeds longevity, comparing the conserved and not conserved seeds germination power, and the acclimatization of *in vitro* seeds germinated and their introduction in the alive plants collection in the Botanical Garden of Holguín.

Key words: *Cactaceae*, disinfection, dormancy, germination, seeds conservation

EFFECTO DE LAS ULTRA-BAJAS TEMPERATURAS EN LAS MEMBRANAS CELULARES DEL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM* SPP.)

Marcos Edel Martínez-Montero*; Julia Martínez Rodríguez. *Autor para correspondencia.

Centro de Bioplantas, Universidad de Ciego de Avila, Carretera a Morón km 10, CP 69 450,
e-mail: marcosem@bioplantas.cu

RESUMEN

En años recientes se han revelado considerables avances en el uso de diferentes técnicas analíticas (biofísicas, bioquímicas, histo-citológicas y moleculares) como herramientas para mejorar los conocimientos sobre los efectos de la crioconservación en el material biológico en general. Sin embargo, la aplicación de estas para los estudios de la crioconservación en el material vegetal es aún limitada, y en la mayoría de los casos se emplean técnicas costosas y complejas. El presente trabajo se desarrolló con el objetivo general de estudiar los efectos de las ultra-bajas temperaturas en las membranas celulares del cultivo de la caña de azúcar. Para ello se utilizaron callos con estructuras embriogénicas y *cluster* de embriones somáticos de caña de azúcar del cultivar CP 52-43. Para determinar el estado fisiológico del material vegetal durante la crioconservación se utilizó una técnica conductimétrica. Como resultados y conclusiones se determinaron los cambios en las membranas celulares durante la recuperación de callos con estructuras embriogénicas crioconservados por una metodología de deshidratación por enfriamiento lento. Se demostró que las ultra-bajas temperaturas provocaron cambios significativos en las membranas celulares de los callos crioconservados pero las mismas se repararon a los cinco días de la recuperación. Además, se estableció un procedimiento de microgoteo/vitrificación como estrategia para la crioconservación de embriones somáticos que incluyeron un pre-tratamiento con 1.5 mol glicerol + 0.3 mol sacarosa y deshidratación en PVS2 durante 20 minutos. De esta manera se recomienda extender el uso de la técnica conductimétrica de forma sistemática a los cultivos prioritarios en el Centro de Bioplantas para conocer el efecto de las ultra-bajas temperaturas en las membranas celulares durante el establecimiento de protocolos nuevos o mejorados de crioconservación.

Palabras clave: caña de azúcar, callos, conductimetría, crioconsevación, embriones

ABSTRACT

In recent years a considerable advances in the use of different analytical techniques (biophysical, biochemical, histo-cytological and molecular) like tools have been revealed to improve the knowledge on the effects of the cryopreservation in the biological agents in general. Nevertheless, the application of these for the studies of the cryopreservation in the plant material still is limited, and in most of the cases expensive and complex techniques are used. The present work was developed with the general aim to study the effects of the ultralow temperatures in cellular membranes in sugar cane tissue culture. It was used calli with embryos structures and cluster of sugarcane somatic embryos of CP 52-43 cultivar. In order to determine the physiological state of the material during the cryopreservation a conductimetric technique was used. As results and conclusions it was determined the changes in cellular membranes during the recovery of calli with embryogenic structures cryoconserved by a methodology of dehydration by slow cooling. It was demonstrated that the ultralow temperatures caused significant changes in cellular membranes of the cryopreserved calli but the same ones were repaired after five days of the recovery. In addition, a procedure of droplet/vitrification like strategy for the cryopreservation of somatic embryos settled down that included a pre-culture with 1.5 mol glycerol + 0.3 mol sucrose and dehydration in PVS2 during 20 minutes. This way is recommended to extend the use of the conductimetric technique as systematic way to know the effect the ultralow temperatures in cellular membranes during the establishment of new or improved protocols of cryopreservation for the high-priority cultures at the Bioplantas Center.

Key words: callus, conductimetry, cryopreservation, embryos, sugarcane

EMBRIOGENESIS SOMÁTICA EN FRIJOL TEPARI (*PHASEOLUS ACUTIFOLIUS* A. GRAY CV. TB1)

Lourdes R. García*¹, Jorge Pérez², Rafael G. Kosky¹, Yenny Padrón¹, Damaris Torres¹, Carlos Romero¹.
*Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½. Santa Clara. Villa clara, Cuba CP 54 830 e-mail: lourdes@ibp.co.cu

²Universidad de Granma, Carretera a Manzanillo, km 17, Peralejo, Bayamo. CP 85 100, Granma.

RESUMEN

Las plantas del género *Phaseolus* spp. han presentado dificultades con la regeneración *in vitro*, y no existe en la actualidad una metodología de regeneración vía embriogénesis somática eficiente y reproducible. Esta investigación se desarrolló en el Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas con el objetivo de lograr la regeneración de plantas de *Phaseolus acutifolius* cv. TB1 a partir de la embriogénesis somática con miras a utilizar dicho procedimiento en el mejoramiento genético del cultivo. Se estudiaron dos tipos de explantes: cotiledones y brotes de embriones cigóticos germinados *in vitro* y varias concentraciones de 2,4-D, AIA y TDZ en los medios de cultivo. Los explantes (brotes de embriones cigóticos germinados *in vitro*) mostraron la mayor capacidad para la formación de callos con estructuras embriogénicas cuando fueron colocados en un medio de cultivo compuesto por las sales MS, vitaminas Heinz y Mee, 2 % sacarosa y enriquecido con TDZ, y AIA. La luz solar con la intensidad y duración del fotoperíodo evaluado, resultó ser la más favorable para el desarrollo de las plantas *in vitro* alcanzándose un 14 % de embriones somáticos con germinación completa.

Palabras clave: embriones somáticos, formación de callos, regeneración *in vitro*, reguladores del crecimiento

ABSTRACT

The plants of *Phaseolus* spp. have presented difficulties with the *in vitro* regeneration, not existing a regeneration methodology via somatic embryogenesis efficient and reproducible at the present time. This investigation was developed at the Instituto de Biotecnología de las Plantas of the Universidad Central Marta Abreu de Las Villas with the objective of achieving the regeneration of plants of *Phaseolus acutifolius* cv. TB1 to use it in the genetic breeding programmes. Two explants types were studied: cotyledons and zygotic embryos shoots germinated *in vitro* and several concentrations of 2,4- D, AIA and TDZ in the culture medium. The explants (zygotic embryos shoot germinated *in vitro*) showed the biggest capacity for the formation of calli with embryogenic structures when they were placed in a culture medium composed by the MS salts, vitamins Heinz and Mee, 2% sucrose and supplemented with TDZ, and AIA. The solar light with the intensity and duration of the evaluated photoperiod, turned out to be the most favourable for the development of the *in vitro* plants being reached 14% of somatic embryos with complete germination.

Key words: calli formation, growth regulators, *in vitro* regeneration, somatic embryos

FORMACIÓN DE BROTES POR CULTIVO *IN VITRO* DE *PENNISETUM PURPUREUM* CV CUBA CT-115

Llanes, L.Y.

Instituto de Ciencia Animal. Carretera Central, km 47 ½, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. CP 32 700, Apartado Postal 24. e-mail: llylanes@ica.co.cu

RESUMEN

El clon CT-115, perteneciente a la especie *Pennisetum purpureum*, ha sido ampliamente utilizado en la producción animal debido a su alta producción de biomasa en época de seca. Sin embargo, esta planta presenta el inconveniente de poseer una baja digestibilidad de materia seca en estados avanzados de su desarrollo lo que afecta negativamente sus índices productivos. Una forma de contrarrestar esta situación es obtener plantas mejoradas a través de la transformación genética de este carácter. Un requisito indispensable para emplear esta metodología es contar con un sistema eficiente de regeneración *in vitro* de *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-115. En este trabajo se estudió la posibilidad de establecer un sistema de regeneración *in vitro* para esta planta. Se partió de un sistema empleado en caña de azúcar que permite la obtención temprana de gran cantidad de brotes por callo. Como explantes se utilizaron discos de hojas inmaduras de la región apical. Los mismos se establecieron en medio de cultivo MS en presencia del regulador ácido naftalén acético para la formación de callos. Transcurrida una semana, los explantes se transfirieron a medio de cultivo MS

con ácido indol acético y kinetina. Cuando se utilizaron altas concentraciones de ácido naftalén acético solo se produjeron raíces. Al disminuir la cantidad de esta auxina se logró, al cabo de las tres semanas, la regeneración de brotes vigorosos que dieron lugar a la formación de plantas. Aunque no se obtuvo un número considerable de brotes por explante, se demostró la posibilidad de obtener plantas a partir de la metodología empleada.

Palabras clave: CT-115, cultivo *in vitro*, formación de brotes, inducción de callos

ABSTRACT

Clone CT-115, belonging to the *Pennisetum purpureum* specie, has been widely used in the animal production due to its high production of biomass during dry season. Nevertheless, this plant has the disadvantage of having a low digestibility of dry matter in advanced stages of its development which affects negatively its productive indices. A way to fight against this situation is by obtaining plants improved through genetic transformation of this character. An indispensable requirement to use this methodology is to have an efficient system of *in vitro* plant regeneration of *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-115. In this paper, the possibility of establishing an *in vitro* plant regeneration system for this plant was studied. We started from a system used in sugar cane that allows the early obtaining of large amount of shoots by callus. As explants, discs of immature leaves of the apical region were used. They were established on MS medium in the presence of naphthalene acetic acid regulator for the formation of calluses. After one week, the explants were transferred to MS medium supplemented with indol acetic acid and kinetin. When high concentrations of naphthalene acetic acid were used, there was production of roots only. By decreasing the amount of auxin, the regeneration of vigorous shoots was achieved after three weeks, achieving the formation of plants. Although a considerable number of shoots was not obtained by explants, the possibility of obtaining plants by the methodology used was proved.

Key words: callus induction, CT-115, *in vitro* culture, shoots formation

FORMACIÓN DE CALLOS EN *PHASEOLUS VULGARIS* L CV. TURRIALBA- 4 CON THIDIAZURON Y ÁCIDO 2,4- DICLOROFENOXIACÉTICO

Jorge Pérez*¹, Lourdes R. García², Rafael G. Kosky², Idalmis Bermúdez-Caraballoso², Yenis Padrón², Damaris Torres², Carlos Romero². *Autor para correspondencia.

¹Universidad de Granma, Carretera a Manzanillo, km 17, Peralejo, Bayamo. CP 85 100, Granma. e-mail: jorge.perez@udg.co.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas.

RESUMEN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) juega un rol importante en la sostenibilidad de la agricultura y en el suplemento proteico en los países en desarrollo. En esta especie se ha intentado establecer un procedimiento eficiente de regeneración *in vitro* y transformación genética en algunas variedades. Sin embargo, los resultados obtenidos en la embriogénesis somática no han sido exitosos. Este trabajo tuvo como objetivo lograr la formación de callos con estructuras embriogénicas en *Phaseolus vulgaris* L. cv. Turrialba-4 con empleo de los reguladores del crecimiento Thidiazurón (TDZ) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Se utilizaron como explantes cotiledones de semillas maduras germinadas *in vitro* en medio de cultivo con las sales MS. En los medios de cultivo que contenían 2,4-D se obtuvieron callos voluminosos y no compactos, mientras que los formados en los medios de cultivo que contenían TDZ (0.20 mg.l⁻¹) eran menos voluminosos, compactos y con formación de estructuras embriogénicas.

Palabras clave: estructuras embriogénicas, medio de cultivo, reguladores del crecimiento

CALLIS FORMATION IN *PHASEOLUS VULGARIS* L CV. TURRIALBA- 4 WITH THE USE OF THIDIAZURON AND 2,4-DICHLOROPHENOXIACETICO ACID

ABSTRACT

Common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) play a crucial role in the sustainability of agricultural systems and in food protein supply in developing countries. In this species it has been tried to establish an efficient procedure of *in vitro* regeneration and genetic transformation in some varieties. However, the results obtained in the somatic embryogenesis have not been successful. This work had like objective to obtain callus with

embryogenic structure in *Phaseolus vulgaris* L. cv. Turrialba-4 with growth regulators Thidiazuron (TDZ) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Mature cotyledon explants germinated *in vitro* seeds in culture medium with salts MS. In the culture medium with 2,4-D obtained voluminous and non compact callus, whereas the formed in the culture medium that contained TDZ (0.20 mg.l⁻¹) were less voluminous, compact and with formation of embryogenic structures.

Key words: culture medium, embryogenic structures, growth regulator

MULTIPLICACIÓN DE ATRAPAMOSCAS DE VENUS

Jorge A. Vilchez. P¹*, Nilca R. Albany V¹. y Orlek Ferrer¹, Leyanis Garcia-Aguila². *Autor para correspondencia.

¹Lab. De Cultivo de Tejidos. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia. AP 15 205. Maracaibo, Edo. Zulia. (4005ZU), Republica Bolivariana de Venezuela. e-mail: jvilchezp@luz.edu.ve

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas (UCLV). Carretera a Camajuní km 5 ½. Santa Clara, Villa Clara, Cuba CP 54 830. e-mail: leyanis@ibp.co.cu

RESUMEN

La *Dionea muscipula* Ellis, sin duda es la de mayor importancia de las plantas carnívoras por ser activa y muy atractiva, aunado a las recientes investigaciones en el campo de la medicina por las posibilidades de uso en el tratamiento contra el cáncer. La obtención y multiplicación de esta especie se encuentra limitada por la rápida pérdida de la viabilidad de sus semillas. Con la finalidad de evaluar la fase de multiplicación (FM) se estudió de efecto de tres concentraciones (0.25; 0.5 y 1 mg.l⁻¹) de kinetina (K) y un control sin regulador sobre el coeficiente de multiplicación y altura del brote (CM y AB, respectivamente). Así como el efecto del estado físico del medio de cultivo (sólido, líquido en agitación y en sistema de inmersión temporal (SIT)) sobre el CM y la AB. En la FM, después de 8 semanas de cultivo los análisis estadísticos sólo mostraron diferencias para el CM (11.5) con la aplicación de 0.5 mg.l⁻¹ de K. Se logró un CM de 22.3 en SIT y la mayor AB en medio de cultivo líquido en agitación.

Palabras clave: *Dionaea muscipula* Ellis, Kinetina, plantas insectívoras, RITA®, sistema de inmersión temporal

VENUS FLY TRAP (*DIONAEA MUSCIPULA* ELLIS) MULTIPLICATION

ABSTRACT

The *Dionea muscipula* Ellis is the most important carnivorous plants due to its activity and attractiveness, besides its usages in medicine as treatment against cancer. The obtaining and multiplication of this species is limited by the quick lack of seed viability. The effect of four concentration of Kinetin (K) (0, 0.25; 0.5 and 1 mg) and three physical stage of culture media [solid, liquid in agitation, temporal immersion system (TIS)] on the coefficient of multiplication (CM) and height of the shoot (HS) were studied to evaluate the multiplication phase (MP). There was significant difference for CM (11.5) when 0.5 mg.l⁻¹ of K after 8 weeks of culture. A CM value of 22.3 was obtained in the TIS and the large HS was obtained using the liquid media with agitation.

Key words: *Dionaea muscipula* Ellis, insectivorous plant, kinetin, RITA®, temporary immersion system

REGENERACIÓN DE PLANTAS DE *STEVIA REBAUDIANA* MEDIANTE ORGANOGÉNESIS DIRECTA A PARTIR DE EXPLANTES FOLIARES

Martínez R. Diego*¹, Monsalve F Zulma¹, Urrea Aura I¹, Jiménez Elio². *Autor para correspondencia.

¹Universidad de Antioquia, Laboratorio de Biología Molecular de Plantas. Medellín- Colombia. e-mail: drivilla2001@yahoo.es

²Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba CP 54 830.

RESUMEN

Stevia rebaudiana Bert es una planta perteneciente a la familia *Asteraceae*, nativa del Paraguay, también conocida como 'hierba dulce', 'hoja de miel' o simplemente *Stevia*, cultivada en diferentes países alrededor

del mundo. Produce en sus hojas varios edulcorantes de alta potencia y bajos en calorías que pueden ser entre 30 y 320 veces más dulces que el azúcar sin efectos secundarios de riesgo para humanos, haciendo de esta planta una especie de gran valor económico en el mercado mundial de los edulcorantes y endulzantes naturales. La regeneración de plántulas mediante organogénesis o embriogénesis somática indirecta a partir de explantes foliares ha sido descrita anteriormente en esta especie. Sin embargo, no existen antecedentes de regeneración directa en *Stevia rebaudiana*. El objetivo de este trabajo fue establecer un protocolo para la regeneración de plántulas mediante organogénesis directa a partir de segmentos foliares de plántulas cultivadas *in vitro*, el cual pudiera ser empleado en los programas de transformación genética de *Stevia rebaudiana*. Los explantes fueron cultivados en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) con ácido diferentes concentraciones de bencil amino-purina (6-BAP 0 – 2.5 mg.l⁻¹) sola y en combinación con ácido indol-acético (IAA 0, 0.5 y 1.0 mg.l⁻¹). La adición de 6-BAP en una concentración de 2.5 mg.l⁻¹ al medio de cultivo MS fue suficiente para inducir una organogénesis directa, con porcentaje de regeneración de 65% y promedio 5.5 brotes/explante. La posterior elongación y propagación de los brotes formados se logró en medio de cultivo MS sin reguladores de crecimiento y 30 g.l⁻¹ de sacarosa. No se observaron cambios en el fenotipo de las plántulas regeneradas.

Palabras clave: bencil amino-purina, edulcorantes, cultivo *in vitro*, esteviósidos

PLANT REGENERATION OF *STEVIA REBAUDIANA* FROM LEAVES EXPLANTS BY DIRECT ORGANOGENESIS

ABSTRACT

Stevia rebaudiana Bert (Asteraceae) is a perennial herb, native from Paraguay also well-known like 'grass sweet', 'leaf of honey' or simply *Stevia*, cultivated in different countries around the world. It produces in his leaves several low sweeteners of high power and low calories that can be between 30 and 320 times sweeter than sugar without indirect effect of risk for humans, it does of this plant a species of great economic value to world market of sweeteners and natural edulcorants. Plant regeneration in *Stevia rebaudiana* from leaves explants has been obtained previously by indirect organogenesis, from callus phase or by somatic embryogenesis using different growth regulators. Our aim was to establish a protocol for plants regeneration from leaves explants in order to used this system in genetic transformation of *Stevia rebaudiana*. An efficient method for plant regeneration in *Stevia* by direct organogenesis was established using leaves segments of plants cultivated *in vitro* conditions. Leaves were cultivated in Murashige and Skoog (MS) media with different bencil amino-purine (6-BAP) concentrations (0 – 2.5 mg.l⁻¹) alone or in combination with indol-acetic acid (IAA 0, 0.5 and 1.0 mg.l⁻¹). Addition of 2.5 mg.l⁻¹ 6-BAP to MS medium was able to induce a direct organogenesis, regeneration was 65% and an average of 5.5 shoots per explant. Elongation and propagation of shoots was achieved in MS media without growth regulators and 30 g.l⁻¹ of sucrose. Appreciable changes in the phenotype of regenerated plantlets were not observed.

Key words: bencil amino-purine, edulcorants, *in vitro* culture, steviosids

ALTERNATIVA DE SUSTITUCIÓN DE LA KINETINA POR EL BRASINOESTEROIDE BB-6 EN EL ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE LA PAPAYA, CV. MARADOL ROJA

Ariannys Roque López^{1*}, Miriam Núñez Hernández², Eduardo Héctor Ardisana³, Miriam Isidró Pérez³, Antonio Torres García³, Solvig Rodríguez Troche³, Lianette Godoy del Pozo⁴. *Autor para correspondencia.

¹Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Centro Universitario de Las Tunas. Ave. Carlos J. Finlay s/n. Las Tunas. Cuba. ariannys@isch.edu.cu

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas

³Universidad Agraria de La Habana.

⁴Instituto de Normalización.

RESUMEN

En el presente trabajo se tomaron segmentos nodales de plantas jóvenes de papaya (*Carica papaya* L.) cv. Maradol Roja para el establecimiento y multiplicación *in vitro*. El medio de cultivo empleado fue el MS modificado con 30.0 g.l⁻¹ de sacarosa. Como soporte se empleó en el

establecimiento papel de filtro y en la multiplicación Agar (7.0 g.l⁻¹). Para sustituir la mitad y la totalidad de las concentraciones de kinetina empleadas en la metodología, se emplearon 0.02 y 0.1 ì mol.l⁻¹ de BB-6, en el cultivo *in vitro* del plátano (*Musa sp.*), y la combinación de estas concentraciones con 1.1 ì mol.l⁻¹ de kinetina en el establecimiento y multiplicación. En esta última etapa se añadió además 2.88 ì mol.l⁻¹ AG₃. Se realizaron evaluaciones en el comportamiento de la morfogénesis *in vitro*. Los datos se procesaron por un ANOVA con ayuda del paquete estadístico STATGRAPHIC. Los resultados muestran que es posible sustituir totalmente la kinetina por el brasinoesteroide BB-6.

Palabras clave: brasinoesteroide, *in vitro*, papaya

CRIOCONSERVACIÓN DEL HÍBRIDO IBP 99-42 DE PAPAYA

Karel Ismar Acosta², Leyanis García-Águila^{1*}, Rafael G. Kosky¹, Laisyn Posada-Pérez¹, Jorge Gallardo-Colina¹, Marisol Tejada¹, Marisol Freire-Seijo¹. *Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara. Cuba CP 54 830. e-mail: leyanis@ibp.co.cu

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Centro Universitario Vladimir I Lenin. Las Tunas. Cuba. e-mail: karelap@ult.edu.cu

RESUMEN

La conservación de genotipos híbridos de papaya (*Carica papaya* L.) es muy importante para los programas de mejora genética y la propagación de plantas. Con el objetivo de conservar el híbrido de papaya IBP 99-42 se desarrolló un protocolo de crioconservación de ápices de plantas *in vitro*. Para ello, se precultivaron las plantas donantes durante 14 días en 50 g.l⁻¹ de sacarosa y se extrajeron ápices de 2.0 mm longitud con la presencia de dos a tres primordios foliares. La solución vitrificadota PVS2 propició mejor deshidratación de los ápices en un tiempo de inmersión de 40 minutos previo a la inmersión en nitrógeno líquido (NL). La recuperación de los ápices después de 10 días en NL fue posible con la descongelación a 40°C y la incorporación a las condiciones normales de crecimiento en medio de cultivo de multiplicación. A los 90 días el número de brotes por planta fue similar a las plantas no crioconservadas.

Palabras clave: ápices crioconservados, papaya, PVS2, recuperación

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE 6-BAP Y TIPO DE EXPLANTE EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE *HYLOCEREUS PURPUSII*

Daniel Rojas Bravo^{2*}, Manuel de Feria¹, Mireya Reyna Villela², Elisa Quiala¹, Maité Chávez¹, Alberto Taylor Preciado², Domingo Ruvalcaba Ruiz². *Autor para correspondencia.

¹Instituto 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.

²Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara. Av. Universidad 1115. C.P. 47 820, Ocotlán, Jalisco, México. e-mail: drojas@cuci.udg.mx

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de cuatro concentraciones de 6-BAP y dos tipos de explantes en la multiplicación *in vitro* de Pitahaya púrpura. Como material vegetal se emplearon brotes con dos subcultivos en fase de multiplicación y una longitud aproximada de 5.0 centímetros, los cuales fueron seccionados de manera transversal por la mitad para obtener un explante que fue denominado ápice y otro como base. Ambas secciones fueron combinadas con cuatro concentraciones de 6-BAP (0.0, 2.22, 4.44, 6.66 ì M.l⁻¹) y se evaluó cada seis días y hasta los 60 días de cultivo la aparición de brotes en cada uno de los ocho tratamientos. Se observó que independientemente al tipo de explante, a medida que se incrementó la concentración de 6-BAP, se produjo un mayor número de brotes. Sin embargo, en los ápices se logró que casi la totalidad de las yemas axilares localizadas en las areolas de los brotes se diferenciaron y como promedio en este tipo de explante se produjeron 3.48 brotes más que en los explantes considerados como bases, en los cuales, fundamentalmente se activaron las yemas axilares que se

encontraban en la zona del explante que estaba en contacto con el medio de cultivo. Como mejor concentración de 6-BAP se seleccionó la de $4.44 \mu\text{M.l}^{-1}$, ya que permitió utilizar tanto los explantes considerados como ápice o base, al no existir diferencias estadísticas en cuanto al número de brotes que se obtuvieron (9.15 por 8.8 respectivamente). Sin embargo, si bien es cierto que con $6.66 \mu\text{M.l}^{-1}$ de 6-BAP se alcanzaron los mayores valores en cuanto al número de brotes para ambos tipos de explantes (23 en los ápices y 12.6 en las bases), también se observó que en este tratamiento se produjeron brotes a partir de yemas adventicias y se apreció la formación de callos en algunos explantes, además, los brotes que se formaron apenas se desarrollaron, lo cual hizo más difícil su manejo *in vitro* al momento de realizar los subcultivos.

Palabras clave: coeficiente de multiplicación, pitahaya, reguladores del crecimiento

EFFECTO DE LAS AUXINAS Y CITOQUININAS SOBRE EXPLANTES NODALES E INTERNODALES EN LA CALLÓGENESIS DE *TROPAEOLUM TUBEROSUM* (R. AND P.) MASHUA

Sánchez, DF*, Huamaní K, Pascual E, Rodríguez I, Sánchez H, Estrada R. *Autor para correspondencia.

Laboratorio de Recursos Genéticos y Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. e-mail: Dfavo666@hotmail.com

RESUMEN

La mashua es una planta herbácea, forma tubérculos y es parte de la alimentación en ciertas poblaciones altoandinas rurales. Presentan propiedades medicinales, antibacteriales, insecticidas y nematocidas, resisten bajas temperaturas y plagas, con dos importantes limitaciones, un sabor amargo de los tubérculos debido a la presencia glucosinolatos y la segunda es la sensibilidad al ataque de virus afectando su producción. Con el cultivo de tejidos se pueden vencer estos inconvenientes, realizando trabajos de selección de plántulas con características deseables a través de la regeneración indirecta vía cultivo de callos. El objetivo fue evaluar el efecto de cuatro reguladores del crecimiento sobre explantes de mashua a fin de obtener una buena inducción de callos en un menor tiempo posible. Segmentos nodales e internodales de plántulas *in vitro* de mashua fueron sembrados en medios de inducción de callos, medio MS semisólido suplementado con diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento (2,4-D, ANA, BAP y Kinetina), el pH se ajustó a 5.8 incubándose a $18 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, 16 horas luz y 2 000 lux por 4 semanas. Se logró la inducción de callos en ambos explantes, el porcentaje de inducción fue dependiente del tipo de explante y del tipo de regulador utilizado. El mayor porcentaje de inducción de callos para los explantes nodales se observó en los medios de cultivo MS + 2,4-D (1 mg.l^{-1}) + BAP (1 mg.l^{-1}) y MS + 2,4-D (2 mg.l^{-1}) + BAP (1 mg.l^{-1}) y para los explantes internodales en los medios MS + 2,4-D (0.5 mg.l^{-1}) + BAP (1 mg.l^{-1}) y MS + 2,4-D (1 mg.l^{-1}) + BAP (1 mg.l^{-1}), luego de 4 semanas de sembrados. Se espera inducir un mayor volumen de callos aumentando las concentraciones de auxinas ($5\text{-}10 \text{ mg.l}^{-1}$) o realizando subcultivos de los callos ya inducidos a intervalos de dos semanas, con el fin de poder obtener un buen protocolo de inducción de callos en plántulas de mashua.

Palabras clave: inducción de callos, mashua, reguladores del crecimiento

EFFECTO DEL PULSO LIQUIDO SOBRE LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE ZABILA (*ALOE VERA* L.).

Ferrer, O.* Chacín, P. Albany, N. Vilchez, J. *Autor para correspondencia.

La Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Cultivo de Tejidos. Maracaibo-Venezuela. e-mail: orlekferrer@yahoo.com

RESUMEN

En la actualidad existe un incremento en las superficies sembradas en el país, debido a la sustancial demanda de los productos de la zábila en el mercado nacional e internacional. Esto implica la necesidad de mejorar el rendimiento y calidad, mediante la introducción de tecnologías de producción eficientes. Por ello se estudio efecto del pulso liquido sobre la multiplicación *in vitro* de zábila, para lo cual se utilizaron vitroplantas de zábila en crecimiento; las cuales se colocaron en inmersión en una solución de 25 mg.l^{-1} de Kinetina y 50 mg.l^{-1} de 6-BAP durante 90, 60 y 30 min y control sin inmersión. Luego se colocaron en medio de multiplicación constituido por 50% de las sales MS, 1 mg.l^{-1} de tiamina-HCl, 100 mg.l^{-1} mio-inositol, 25

mg.l⁻¹ de cisteína, 100 mg.l⁻¹ ácido ascórbico, 30 g.l⁻¹ de sacarosa y 7 g.l⁻¹ de agar; ajustando el pH a 5.8. Las plantas *in vitro* crecieron a una temperatura de 26°C y bajo luz blanca fluorescente (150 μ mol m⁻² s⁻¹) constante. Las variables evaluadas fueron número de brotes por plantas *in vitro*, altura de las plantas y altura de brotes de las plantas *in vitro*. El diseño experimental fue totalmente al azar y el cual se analizó estadísticamente mediante un modelo completamente aleatorizado. A los 30 días de cultivo, el análisis estadístico detectó efectos para las variables evaluadas. Se concluye que el mejor tiempo de inmersión fue de 30 min.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, pulso líquido, zábila

EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA INDIRECTA EN ANTURIO VARIEDAD 'LAMBADA'

Nydia del Rivero Bautista^{1*}, Daniel Agramonte¹, Raúl Barbón¹, Wilder Camacho Chiu², Martha Pérez¹. *Autor para correspondencia.

¹Instituto 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.

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

RESUMEN

La embriogénesis somática es de los procesos de la morfogénesis *in vitro* de mayor actualidad por su aplicación tanto en la propagación masiva de plantas como para el mejoramiento genético. El *Anthurium* es el género de las *Araceae* más importante en el mercado mundial como flores de corte y maceta. El objetivo del trabajo fue lograr la embriogénesis somática indirecta. Como explantes iniciales se utilizaron segmentos de hojas de aproximadamente 1.0 cm² de plantas *in vitro*, obtenidas por organogénesis indirecta. Se emplearon dos medios de cultivo Murashige y Skoog (MS) y Nitsch y Nitsch modificados con tiamina 0.4 mg.l⁻¹, mioi-inositol 100 mg.l⁻¹ y sacarosa 3%. Para la formación de callos se estudiaron cuatro concentraciones 2.26, 4.52, 6.78 y 9.04 μ M 2,4-D manteniendo constante 2.32 μ M kin. Se evaluó porcentaje de formación de callos. En la formación y diferenciación de los embriones somáticos se emplearon los medios de cultivo descritos anteriormente. Se compararon tres concentraciones 2.22, 4.44 y 6.66 μ M 6-BAP y un control. La variable evaluada fue porcentaje de explantes con formación de embriogénesis somática de alta frecuencia (ESAF) y embriogénesis somática de baja frecuencia (ESBF). Los resultados mostraron que en los medios de cultivo MS y Nitsch y Nitsch los mayores porcentajes de formación de callos se obtuvieron con una concentración de 6.78 μ M 2,4-D, con diferencias entre los tratamientos. La de embriones de embriones somáticos de alta frecuencia se obtuvo al emplear 4.4 μ M 6-BAP en los medios de cultivo MS y Nitsch y Nitsch; aunque, difirió con los otros tratamientos. En los embriones somáticos de baja frecuencia los mayores valores se encontraron en las concentraciones de 2.2 y 4.4 μ M 6-BAP en los medios de cultivo MS y Nitsch y Nitsch.

Palabras clave: medios de cultivo, plantas *in vitro*, propagación

EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA Y REGENERACIÓN DE PLANTAS A PARTIR DE LIMBOS FOLIARES EN EL CULTIVO DEL BONIATO

Orlando González Paneque^{1*}, María M. Hernández Espinosa², Juan J. Silva Pupo¹, Mirtha López Machado², Silvia montes Cruz², Angel Espinosa Reyes¹, Luis M. González Núñez³. *Autor para correspondencia.

¹Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma, Apdo. 21, Bayamo, CP.: 85100, Granma, Cuba, e-mail: ogpaneque@udg.co.cu

²Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP.: 32700, Cuba.

³Departamento de Técnicas Nucleares, Instituto de Investigaciones Agropecuarias 'Jorge Dimitrov', Bayamo, Granma, Cuba.

RESUMEN

La embriogénesis somática constituye en la actualidad una vía rápida y eficiente para la micropropagación de plantas mediante el empleo de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales. Por ello el objetivo de establecer la micropropagación del Boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), mediante la embriogénesis somática, se tomaron explantes de limbos foliares de brotes jóvenes de los clones CEMSA 78-354, INIVIT B 90-1, INIVIT B 93-1, Yabú-8 y Jewel. Los mismos se tomaron a partir de brotes de raíces tuberosas colocadas en frascos con agua y se emplearon explantes de los limbos foliares colocados en contacto con el medio de cultivo propuesto por Murashige y Skoog. La mayor efectividad para la formación de los callos potencialmente embriogénicos se obtuvo en el medio de cultivo con 2,4-D (0.50 mg.l⁻¹) y 6-BAP (0.25 mg.l⁻¹), la formación de los embriones somáticos con 2,4-D (0.2 mg.l⁻¹), la maduración con ABA (1.0 mg.l⁻¹), la germinación con TDZ (0.25 mg.l⁻¹) y la conversión en plántulas con AG₃ (10.0 mg.l⁻¹) y finalmente se llevó a cabo la aclimatización de las obtenidas.

Palabras clave: callos, plantas *in vitro*, reguladores del crecimiento

EMPLEO DEL SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL PARA LA GERMINACIÓN DE EMBRIONES SOMÁTICOS DE YUCA (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ)

Víctor Medero^{1*}, Rafael G. Kosky², Carlos Borroto³, Sergio Rodríguez¹, Marilyn Martínez¹, Milagros Basail¹, Jorge López¹, Magaly García¹, José de la C. Ventura¹, Manuel Cabrera¹, Carmen Pons¹, Aymé Rayas¹, Arletys Santos¹, José A. Cruz¹, Miguel Álvarez¹ y Jesús García¹. *Autor para correspondencia.

¹Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT). Apdo. 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba. e-mail: vmedero@inivit.co.cu

²Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½, Santa Clara. Villa clara, Cuba. CP 54 830.

³Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

El trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT). Se utilizaron los clones 'CMC-76' y 'CEMSA 74-725' procedentes del banco de germoplasma del INIVIT. El objetivo principal consistió en aplicar el sistema de inmersión temporal tipo RITA® para incrementar los porcentajes de germinación de los embriones somáticos. Se evaluó el efecto de la densidad de agregados embriogénicos por RITA y el tiempo de inmersión de los mismos. Se utilizó como control la germinación de los embriones somáticos en medio de cultivo semisólido. Como resultado se obtuvo un 52.8% de germinación de los embriones somáticos en medio de cultivo semisólido y un 91.7% con el empleo del sistema de inmersión temporal tipo RITA®.

Palabras clave: agregados embriogénicos, RITA®, tiempo de inmersión

GERMINACIÓN Y ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE *HYLOCEREUS PURPUSII* A PARTIR DE SEMILLAS BOTÁNICAS

Manuel de Feria^{1*}, Daniel Rojas Bravo², Elisa Quiala¹, Mireya Reyna Villela², Maité Chávez¹, Alberto Taylor Preciado², Domingo Ruvalcaba Ruiz². *Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5. ½ Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830.

²Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara. Av. Universidad 1115, C.P. 47820, Ocotlán, Jalisco, México.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del hipoclorito de sodio, el tiempo de inmersión de las semillas en este producto y la concentración de las sales inorgánicas propuestas por Murashige y Skoog sobre la germinación y establecimiento *in vitro* de plantas de Pitahaya púrpura obtenidas a partir de semillas botánicas. Al evaluar todos los experimentos se determinó que el mayor número de semillas germinaron entre el octavo y noveno día de cultivo. La inmersión de las semillas durante 15 minutos

en tres concentraciones de hipoclorito de sodio (1.0, 1.5, 2.0%) demostró que tanto el número de semillas que germinaron como el número de plantas que se establecieron *in vitro* disminuyeron a medida que se incrementó la concentración de hipoclorito de sodio. Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento con 1.0% de hipoclorito de sodio y 15 minutos, con 89.7% de germinación y 76.5% de establecimiento de plantas *in vitro*. Al combinar diferentes tiempos de inmersión (5.0, 10, 15 minutos) con 1.0% de hipoclorito de sodio, se observó que no hubo diferencias estadísticas en la germinación y establecimiento *in vitro* de las plantas. Sin embargo, en el tratamiento con 5.0 minutos y 1.0% se presentó un 1.3% de contaminación microbiana, con lo cual se determinó utilizar el tratamiento con 1.0% de hipoclorito de sodio y 10 minutos, como el mejor tratamiento para desinfectar, germinar y establecer *in vitro* plantas de esta especie. Se demostró que con un 125% de sales MS en el medio de cultivo, se afectó la germinación de las semillas y no se logró establecer plantas *in vitro*, por otro lado, aunque no hubo diferencias estadísticas entre los resultados obtenidos para la germinación entre los tratamientos con 25, 50, 75 y 100% de sales MS en el medio de cultivo, al emplear estas diferentes concentraciones, si se afectó el establecimiento *in vitro* y el mejor resultado (80%) se alcanzó con el 100% de las sales MS.

Palabras clave: desinfección, germinación, pitahaya

Key words: disinfection, germination, pitahaya

IMPORTANCIA DE LOS BANCOS DE GERMOPLASMA PARA LA CONSERVACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES

Trujillo I¹, Salazar E^{2*}, Oropeza Maira³, Albarrán G². *Autor para correspondencia.

¹Laboratorio de Biotecnología Agrícola. Centro de Estudios de Agroecología Tropical (CEDAT). Instituto de Estudios Científicos y Tecnológicos (IDECYT). Universidad Nacional Experimental 'Simón Rodríguez'. Apartado 47925. Caracas 1010. e-mail: jam1234@telcel.net.v.e

²Laboratorio de Biotecnología Vegetal Instituto de Biología Experimental. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. e-mail: moropeza@strix.ciens.ucv.ve

³Unidad de Biotecnología Vegetal. CENIAP. Instituto de Investigaciones Agrícolas. Maracay

RESUMEN

Un amplio porcentaje de los recursos fitogenéticos para la alimentación, la agricultura y la salud del mundo son insuficientes y/o están escasamente documentados en comparación con lo que debería saberse de ellos para que la conservación, el acceso y la utilización fueran óptimos. El área de biotecnología vegetal a través de la micropropagación ha proporcionado las bases para el establecimiento de bancos de germoplasma. El establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro* que permita la conservación de especies vegetales utilizadas con fines medicinales, con la mínima alteración del ecosistema donde son ubicadas para su uso, constituye un punto de gran importancia en la conservación de la biodiversidad en diversos ambientes, de este tipo de plantas donde se plantea mantener la estabilidad de las condiciones físicas de un área, manteniendo en su mínima expresión la degradación ambiental. Las colecciones *ex situ*, permiten tener el material conservado con una identificación básica del mismo, como el número de muestra y el nombre taxonómico; dónde y cómo se ha obtenido el material; descripciones de la morfología básica y de los caracteres agronómicos; actuales resultados de la prueba de viabilidad; ciclos de regeneración; donde se ha distribuido el material y la pertinente información etnobotánica y conocimientos de los agricultores y la población local, lo cual adicional a su conservación, permitirá realizar investigación básica en el área de micropropagación de plantas medicinales, caracterización molecular y bioquímica de las plantas micropropagadas con el propósito de establecer sistemas ideales de multiplicación de estas plantas, que permitan su uso a mayor escala, y para ofrecer nuevas alternativas del uso de este tipo de plantas en propuestas eficaces y eficientes en la atención primaria de salud. Con este objetivo, se ha iniciado la conformación del banco de germoplasma en el laboratorio de Biotecnología Agrícola de la UNESR con especies como hierbamora, neem, sábila, mastuerzo, cañafistola, orégano orejón y alcornoque.

Palabras clave: conservación, etnobotánica, germoplasma, micropropagación, plantas medicinales

INDUCCIÓN DE CALLOS EN SEGMENTOS DE HOJA DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM* LIND.

Nydia Del Rivero^{1*}, Daniel Agramonte¹, Raúl Barbón¹, Wilder Camacho². *Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½ Santa Clara. Villa clara, Cuba CP 54 830. e-mail:delriverobautista@yahoo.com.mx

²Dirección General de Estudios Tecnológicos Agropecuarios, Carretera Cumuapa Cunduacán Tabasco, México.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue lograr la inducción de callos a partir de segmentos de hojas jóvenes de anturio (*A. andraeanum* Lind.) en tres variedades Lambada, Tropical y Sonate. Para la desinfección del material vegetal se estudiaron tres concentraciones (0.5, 1.0 y 1.5%) de hipoclorito de sodio (NaClO) durante 10, 15 y 20 minutos. El medio de cultivo utilizado fue el MS modificado, micronutrientes MS, vitaminas MS, 100 mg.l⁻¹ mio-inositol, 3% sacarosa y 2.0 g.l⁻¹ de Gelrite. En la inducción de callos se evaluaron tres concentraciones (0.13, 0.18 y 0.22 mg.l⁻¹) de 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) y dos concentraciones (1.1 y 2.2 mg.l⁻¹) de 6- BAP (bencialaminopurina). Se evaluó el crecimiento de los callos por la escala de Santana y de forma visual color y apariencia. Los mejores resultados en la desinfección de los explantes se obtuvieron con una concentración de 0.5% de NaClO durante 10 minutos, con un 78.8, 79.5 y 78.3% de supervivencia para las variedades Lambada, Tropical y Sonate, respectivamente. En la inducción de callos la variedad Lambada respondió mejor con 0.18 mg.l⁻¹ de 2,4-D combinado con 1.1 mg.l⁻¹ de 6-BAP, y la variedad Tropical con 0.13 mg.l⁻¹ 2,4- D y 1.1 mg.l⁻¹ 6-BAP. En la variedad Sonate la calogénesis se favoreció con 0.18 mg.l⁻¹ 2,4-D y 2.2 mg.l⁻¹ 6-BAP. Con el empleo de este medio de cultivo y las combinaciones de reguladores de crecimiento fue posible obtener callos en las variedades Lambada, Tropical y Sonate lo que permitirá desarrollar protocolos para la propagación de esta especie.

Palabras clave: desinfección *in vitro*, organogénesis, variedades Lambada, Tropical, Sonate

INDUCCIÓN DE CALLOS EN *CLEOBULIA MULTIFLORA*

Soares, G.A.*; Dias, A.A.; Lopes, C.A.R.G.; Muzzi, F.C.; Pagano, M.C.; Sá, N.M.H.; Scotti, M.R.M. *Autor para correspondencia.

Departamento de Botánica/ICB – UFMG. Belo Horizonte/MG, Av. Antônio Carlos 6627 CEP 31.270-010, e-mail: guasoares@bol.com.br; mrita@icb.ufmg.br

RESUMEN

Entre las especies indicadas para recuperación de pilas de material estéril en las áreas de mineración, se destaca *Cleobulia multiflora* (Leguminosae), especie herbácea, estolonífera y nativa del bioma brasileiro Mata Atlántica. La principal dificultad en la propagación de la misma es obtener semillas viables, debido a la intensa depredación. Además, no existen estudios de cultivo *in vitro* con esta especie. Con el objeto de inducir callos en explantes de *C. multiflora*, se llevaron a cabo dos experimentos. En el primero, explantes foliares de 1 cm², luego de ser desinfectados con Tween 20, etanol 70%, hipoclorito de sodio 2%, Fungizon (250 mg.l⁻¹) y agua destilada autoclavada, fueron inoculados en medio MS con 2,4- D en cuatro concentraciones (0, 1, 2 y 3 mg.l⁻¹). En el segundo, segmentos foliares y nodales fueron inoculados en medio MS suplementado con diferentes dosis de fungicidas Fungizon®, Piorior®, Derosal®, Folicur® y Systhane® y con el antibiótico Rifampicina (250 mg.l⁻¹). Los resultados del primer experimento mostraron que utilizando 2,4-D (3 mg.l⁻¹) y Fungizon, se obtuvo una mayor inducción de callos en *C. multiflora* (56%) a los 12 días de incubación. Ya en el segundo experimento, el Fungizon® controló en un 78% la contaminación de los segmentos foliares, mientras que fue ineficiente para el control de segmentos nodales. Para éstos, la asociación entre los fungicidas Piorior® (F1), Derosal® (F2), Folicur® (F3) y Systhane® (F4) junto con el antibiótico rifampicina fue eficiente para inhibir el crecimiento de hongos, pero no de bacterias. La bacteria aislada fue testeada en antibiogramas utilizando los últimos cuatro fungicidas junto con rifampicina y estreptomycin en las concentraciones de 200, 300 y 400 mg.l⁻¹. El tratamiento seleccionado para el control de la contaminación fúngica y bacteriana fue el antibiótico rifampicina (400 mg.l⁻¹) aliado a los fungicidas F1, F2 y F4.

Palabra clave: antibiograma, callo, *Cleobulia multiflora*, Mata Atlántica, micropropagación

AN OPTIMISED METHOD FOR *IN VITRO* MULTIPLICATION IN SWEETPOTATO – *IPOMOEA BATATAS* (L.) LAM. IN ORDER TO PROMOTE ITS GROWTH IN ROMANIA

ANA ROSU

University of Agronomic Sciences of Bucharest, Faculty of Biotechnology, Bd. Marasti 59, 011464 Bucharest, Romania. e-mail: anabiotech@yahoo.com

ABSTRACT

Though sweetpotato is originating from the tropical areas in Latin America, its culture is at present also extended in the temperate zones. The importance of this species for food, animal feed and industrial raw material stimulated the researches for establishing techniques for efficient production of the planting material. The rapid multiplication of sweetpotato by *in vitro* methods guarantees the obtaining of a true-to-type planting material, which is in the same time of the highest sanitary quality, with minimum uses of fertilizers, pesticides, water, space, labour and in a limited time period. The aim of our research was to establish an efficient and reproducible protocol for producing the sweetpotato planting material by biotechnological means. The shoot apices detached from shoots developed from storage roots were cultured on several variants of the MS basal medium supplemented with cytokinins and auxins. The best results were obtained on the variant with 0.3 mg.l⁻¹ NAA and 1 g.l⁻¹ activated charcoal, which stimulated in the same time a good shoot elongation and a well developed root system, thus allowing the vitroplant acclimatization after 2 weeks since culture initiation, in all tested sweetpotato phenotypes. Following the planting in the field the vitroplants fully proved their potential of adaptability, vigorous growth and a good production of storage roots, which recommends this crop to be more promoted in Romania for being cultivated on extended areas in the near future.

Key words: storage roots, sweetpotato (*Ipomoea batatas*), vitroplants

A PROTOCOL FOR MICROPROPAGATION AND SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *LILIUM LEDEBOURII* (BAKER) BOISS AN ENDEGRADED RARE SPECIES ENDEMIC TO IRAN

Pejman Azadi^{1*}, Morteza KhoshKhoi². *Autor para correspondencia.

¹Dept. of Biotechnology, National Research Center of Ornamental Plants, Mahallat. Iran. e-mail: azadip22@yahoo.com.

²Dept. Horticulture-Shiraz university, Shiraz - Iran.

ABSTRACT

The perennial plant *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss (Liliaceae) is an endangered rare species endemic to Iran. It is under surveillance of regional Environmental Protection Agency. Due to the collection of these plants, specially of the underground organs, the number of this species is continuously decreasing. Effect of growth regulators, sucrose concentration and scale segment on bulblet regeneration were investigated in factorial design on the basis of completely randomized with three replication and 12-16 sample for each replication. Also the effect of Picloram, IAA and 2,4-D for somatic embryogenesis of the thin cell layer derived from scale of bulblet were considered. The highest number of bulblets was formed on a MS medium with BA (0.1 mg.l⁻¹) + NAA (0.1 mg.l⁻¹) and 9% sucrose at basal segment. The presence of growth regulators increased fresh weight of bulblets compared with hormone free medium. The highest number of direct somatic embryogenesis was obtained in MS medium containing 1 mg.l⁻¹ IAA with 1.8 g.l⁻¹ gelrite. The bulblets at the end of the culture period were given cold treatment at 4 °C for 8 weeks and then transplanted to a potting mixture of sand, leaf mold and peat moss (1:1:1). The horticultural habits of the cloning plants are being investigated to introduce the germplasm into lily breeding program.

Key words: conservation, *in vitro*, Lilium, regeneration, somatic embryogenesis

EFFECT OF VARIOUS AMINO ACIDS ON SHOOT REGENERATION OF SUGARCANE

Shaheen Asad¹, Muhammad Arshad^{1*} and Yusuf Zafar². *Autor para correspondencia.

¹Plant Biotechnology Division, P.O Box 577, Jhang Road Faisalabad, Pakistan. e-mail: arshadchbt@yahoo.com

²National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering.

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum officinarum*) SP-241 embryogenic callus was induced from meristemic explants cultured on MSB (Murashige and Skoog supplemented with B5 vitamins) containing 13.6 μ M 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 0.05% (w/v) Casein hydrolysate, 10% (v/v) coconut water and 3% glucose. Five concentrations (0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mM) of five different amino acids (glutamine, asparagine, glycine, cysteine and arginine) were tested with and without 22.5 μ M α -naphthalene acetic acid to compare their ability to induce regeneration from embryogenic callus. After one month on medium, the percentage of shoot meristem induction was evaluated and after 45 days the total number of shoots produced as well as percentage of shoots greater than 1 cm in length was obtained. Although, it had the lowest range, the medium containing cysteine and arginine were found better than all other amino acids tested with the highest age of shoot meristem induction and largest number of shoots particularly at a concentration of 0.25 mM and 0.5 mM respectively.

Key words: Amino acids, *Saccharum*, shoot meristem, Sugarcane tissue culture