

ENRAIZAMIENTO *EX VITRO* DE BROTES DE *HIBISCUS ELATUS* SW. MULTIPLICADOS *IN VITRO*

M.Sc. A. G. TROCONES¹, M.Sc.L. A. DELGADO,¹ DR. D. AGRAMONTE
PEÑALVER,² Lic. A. GONZÁLEZ ROQUE,¹ M.Sc. D. RAMÍREZ AGUILAR,²
M.Sc F. JIMÉNEZ TERRY,² T.M. O. GUTIÉRREZ MARTÍNEZ² y T.M. M. PÉREZ
PERALTA²

¹ Instituto de Investigaciones Forestales. Calle 174 no. 1723
e/17B y 17C, Rpto. Siboney, Playa, La Habana,
anibal@forestales.co.cu

² Instituto de Biotecnología de las Plantas. Carretera a
Camajuaní Km 5^{1/2}, Santa Clara, Villa Clara, Cuba,
ibp@uclv.etecsa.cu

RESUMEN

Se presentan los resultados en el enraizamiento *ex vitro* de brotes de *Hibiscus elatus* Sw. que fueron multiplicados *in vitro* durante cuatro subcultivos. Para el estudio de factibilidad de utilizar esta alternativa se tuvieron en cuenta dos factores fundamentales: el tamaño de los brotes y la aplicación de reguladores del crecimiento, para lo cual se empleó un sustrato formado por una mezcla de casting (85%) + zeolita (15%). Se obtuvo un 80% de supervivencia al emplear brotes con una altura superior a los 2,5 cm, y se comprobó que se puede prescindir de la aplicación de los reguladores del crecimiento.

Palabras clave: *enraizamiento ex vitro*, *Hibiscus elatus*, sustrato, fitohormonas

INTRODUCCIÓN

La fase de enraizamiento se considera como la más voluminosa dentro del proceso de propagación *in vitro*, y es la que puede limitar la capacidad

ABSTRACT

Ex vitro rooting of *hibiscus elatus* sw shoots multiplied *in vitro*. Results obtained in *ex vitro* rooting *Hibiscus elatus* Sw shoots that were multiplied *in vitro* during four subcultures are shown. The shoots length and the use of fitohormone were the two factors studied using a sustrate formed by zealot (15 %) and casting (85 %) of supervivence was archieved when shoots were longer than 2.5 cm. It was demonstrate that is not necessary the use of fitohormones.

Key words: *Ex vitro* rooting, *Hibiscus elatus*, sustrate, fitohormones

de producción de una biofábrica en un momento determinado debido fundamentalmente a que en esta fase los brotes son manejados indi-

vidualmente. Dado que el mayor componente del costo en la propagación de plantas por cultivo de tejidos es la labor manual, es necesario entonces buscar alternativas para aumentar la eficiencia de este proceso. Entre estas alternativas se encuentra el enraizamiento *ex vitro*, ya que es mucho más fácil manipular una vitroplanta sin raíces, el sistema de raíces producido *in vitro* no siempre es funcional, la posibilidad de dañar las raíces en el momento de la extracción del frasco y durante la siembra se elimina y es más fácil y económico, además crear condiciones para enraizar *ex vitro* que *in vitro*.

Poder llevar a cabo esta alternativa representa un ahorro de entre el 30 y el 60% de los costos, y un incremento de cerca del 50% de la capacidad de las cámaras de cultivo *in vitro* [Orellana, 1998]. El presente estudio tuvo la finalidad de evaluar la factibilidad del empleo del enraizamiento *ex vitro* de brotes de *Hibiscus elatus* Sw. para acortar el proceso de micropropagación de esta especie y hacerlo más eficiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Se utilizaron brotes de majagua procedentes de la fase de multiplicación (cuarto subcultivo).

Características y condiciones de la fase *ex vitro*

Los experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones de aclimatación del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP).

El sustrato utilizado fue una mezcla de casting 85% + zeolita 15% selec-

cionado de acuerdo con lo obtenido en esta misma especie en experimentos relacionados con la aclimatación. Se emplearon bandejas de polieturano de 70 orificios con capacidad de 101 cm³ de sustrato. El riego utilizado fue de 2 min cada 3 h.

Influencia del tamaño de los brotes

Los explantes se dividieron en dos grupos, según su tamaño, para determinar la influencia de este factor sobre el desarrollo de las vitroplantas:

Grupo I: mayores de 2,5 cm

Grupo II: menores de 2,5 cm

Las evaluaciones se realizaron a los 30 días, y las variables evaluadas fueron:

Número de plantas enraizadas (NPE).

Longitud del tallo (LT).

Número promedio de raíces (NPR).

Longitud de las raíces (LPR).

Supervivencia (%).

Influencia de la aplicación de reguladores del crecimiento

Para este experimento se utilizaron soluciones de AIB (ácido indol butírico), ANA (ácido naftalenoacético) (1,0; 2,0 y 3,0 mg/L⁻¹) y del bioestimulador DAA-6 (0,01 mg/L⁻¹ y 0,05 mg/L⁻¹), las que fueron aplicadas por inmersión de la parte basal de las vitroplantas durante 10 min y posteriormente fueron colocadas en el sustrato correspondiente. De esta manera se conformaron ocho tratamientos, los cuales fueron comparados con un testigo de referencia. Los reguladores del crecimiento utilizados, así como sus concentraciones, se realizaron tomando como base los

resultados mencionados por Núñez *et al.* (1998) y Rodríguez *et al.* (1998) en otras especies.

Los experimentos se montaron bajo un diseño totalmente aleatorizado con el análisis de varianza para un nivel de significación del 0,05 %

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia del tamaño de los brotes

El tamaño de los brotes influyó sobre todas las variables, con los mejores resultados para los brotes con una longitud mayor de 2,5 cm, cuyos va-

lores fueron superiores estadísticamente a los de los brotes menores de 2,5 cm, como se observa en la *Tabla 1*.

La longitud de las vitroplantas es un elemento fundamental cuando se pretende realizar el enraizamiento *ex vitro* con el objetivo de obtener altos porcentajes de plantas enraizadas. Numerosos autores se han referido a la importancia de un adecuado tamaño de los brotes para un buen desarrollo durante la fase de enraizamiento y aclimatación de las vitroplantas [Dottin, 1997 y Singha, 1995].

TABLA 1

Influencia del tamaño del brote sobre el enraizamiento *ex vitro* de majagua

<i>Tamaño</i>	<i>Plantas enraizadas (%)</i>	<i>Número promedio de raíces</i>	<i>Longitud promedio de las raíces (cm)</i>	<i>Longitud del tallo (cm)</i>
Mayores de 2,5	80 a	3,69 a	4,14 a	3,45 a
Menores de 2,5	54 b	2,68 b	3,12 b	2,88 b
MG $\pm$ ES	67 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 0,8	3,72 $\pm$ 0,8	3,16 $\pm$ 0,5

Letras desiguales difieren estadísticamente según Duncan ($p < 0,05$) y según Andevap para datos en por ciento.

La longitud de las vitroplantas es un elemento fundamental cuando se pretende realizar el enraizamiento *ex vitro* con el objetivo de obtener altos porcentajes de plantas enraizadas. Numerosos autores se han referido a la importancia de un adecuado tamaño de los brotes para un buen desarrollo durante la fase de enraizamiento y aclimatación de las vitroplantas [Dottin, 1997 y Singha, 1995].

Influencia de los reguladores del crecimiento

Los tratamientos estudiados no mostraron influencia sobre las variables evaluadas, excepto sobre la longitud del tallo (*Tabla 2*). Se observó que las concentraciones más elevadas de los reguladores del crecimiento estimularon la elongación del tallo, lo cual estuvo estrechamente relacionado con la mayor rapidez de los brotes para formar

raíces, con lo que se favoreció la mejor absorción de los nutrientes

disponibles y con ello un mayor desarrollo del tallo.

TABLA 2
Influencia de los reguladores del crecimiento sobre la longitud del tallo

<i>Tratamientos (mg/L⁻¹)</i>	<i>Longitud del tallo (cm)</i>
ANA (1)	2,78 d
ANA (2)	2,92, d
ANA (3)	3,80 a
AIB (1)	2,80 c
AIB (2)	3,67 b
AIB (3)	3,75 a
DAA-6 (0,01)	3,10 c
DAA-6 (0,05)	3,23 c
Testigo	2,81 c
MG ± ES	3,25 ± 0,4

Letras desiguales difieren según Duncan (p< 0,05)

Los resultados permiten plantear que los explantes de majagua no dependen de la aplicación de los reguladores del crecimiento para lograr enraizar en condiciones *ex vitro*. Este resultado reviste gran importancia si se tiene en cuenta que la tendencia actual es incrementar la eficiencia de la propagación *in vitro*, a fin de acortar el proceso y el empleo de dosis mínimas de reguladores del crecimiento o la ausencia de ellos siempre y cuando sea posible.

CONCLUSIONES

- La utilización de vitroplantas mayores de 2,5 cm de longitud resultó significativamente superior en el por ciento de plántulas enraizadas, cantidad de raíces, longitud de las raíces y longitud de la parte aérea en comparación con vitroplantas de tamaño inferior a 2,5 cm.
- El empleo de estimuladores del crecimiento mostró diferencias significativas en el crecimiento

en altura, con el mejor resultado con AIB a una concentración de 3 mg/L⁻¹.

BIBLIOGRAFÍA

DOTTIN, M. P.: «Tecnología para la micropropagación in vitro de clones *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schot». Tesis de Maestría, Instituto de Biotecnología de las Plantas, 1997.

ORELLANA, P.: «Propagación vía organogénesis», *Propagación y mejora genética de plantas por*

biotecnología, Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, 1998, pp. 151-178.

RODRÍGUEZ, R.; I. M. CENTENO; B. FERNÁNDEZ; F. FRAGA: «Bases fisiológicas del envejecimiento y revigorización vegetal», Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal, Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, Cuba, 1999, pp. 9-13.

SINGHA, S.; E. C. TOWNSEND; G. H. OBERY: «Mineral Nutrient Status of Crabapple and Pear Shoots Cultured *in Vitro* on Varying Concentrations of Three Commercial Agars», *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110:407-411, 1985.