

Micropropagación de *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue.

Terenti, C. M.; P. Verdes

PROICO 50307 Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal.
F.I.C.E.S., UNSL. Dirección: 25 de Mayo 384. 5730. Villa Mercedes (San Luis). Argentina. peverdes@fices.unsl.edu.ar

Recibido: 5 de diciembre de 2011

Aceptado: 7 de noviembre de 2012

Abstract

Saintpaulia ionantha H. Wendel var. Blue Bangle (Gesneriaceae family), is widespread in ornamental plants worldwide and has particular characteristics that give it special appeal. Micropropagation was performed to test the species of leaf tissue response in the induction of *in vitro* adventitious organs directly. Leaf tissue explants cultivated in basal culture media (Murashige and Skoog, 1962) with a combination of growth regulators. This response was quantified at different stages of micropropagation and evaluated the survival rate at the stage of plantlets acclimatization. First signs of morphogenesis were shown 33 days after cultivated. It achieved high rates

of multiplication through morphogenesis stimulated by treatment with 6-benzylaminopurine (1 mg/l), giving a multiplication average of 481 vitroplants/explant in three cycles of multiplication. With respect to the salt concentration and balance of plant growth regulators has higher nutrient requirements, demonstrating significant differences in concentration complete medium. During the acclimatization period, the substrate, organic soil, peat, perlite (3:1:1/2) was more effective with 83.21% of survival. All stages of micropropagation were completed over a period of 12 months. It is concluded that the application of this biotechnology is an appropriate methodology for large scale multiplication of this species.

Key words: *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue; Micropropagation; Regeneration.

Resumen

Saintpaulia ionantha H. Wendel var. Bangle Blue, perteneciente a la familia Gesneriáceae, es una planta ornamental muy difundida en todo el mundo y posee características particulares que le confieren un atractivo especial. Se realizó la micropropagación de la especie para ensayar la respuesta de tejido foliar en la inducción de órganos adventicios *in vitro* en forma directa. Para tal fin, se sembraron segmentos de tejido foliar en medios de cultivo basal (Murashige y Skoog, 1962) con una combinación de reguladores de crecimiento preestablecida. Se cuantificó dicha respuesta en las distintas etapas de micropropagación y se evaluó la tasa de supervivencia en la etapa de aclimatización de las

vitroplantas. A los 33 días desde la siembra se empezó a observar los primeros indicios de morfogénesis. Se lograron altas tasas de multiplicación en el tratamiento que con 6-bencil Amino Purina (1 mg/l), obteniéndose un promedio de multiplicación de 481 vitroplantas/explanto en tres ciclos de repiques. Con respecto a la concentración salina y balance de reguladores de crecimiento tiene mayor requerimiento de nutrientes, demostrando diferencias significativas en medios de concentración completa. Durante la etapa de aclimatización, el sustrato: tierra orgánica, turba, perlita (3:1:1/2), fue mas efectivo con un 83,21% de supervivencia. Se cumplieron todas las etapas de micropropagación de esta especie en un periodo de 12 meses. Se concluye que la aplicación de esta biotécnica resulta una metodología apropiada para la multiplicación a gran escala de esta especie.

Palabras clave: *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue; Micropropagación; Organogénesis.

Introducción

La mayoría de las especies del Género *Saintpaulia*, son originarias del este de África Tropical, son las plantas de interior más difundidas en todo el mundo y poseen características particulares que le confieren un atractivo especial (Rubio y Hernández, 2005). Se caracterizan por poseer una buena capacidad de regeneración mediante su cultivo *in vitro* (Boelke, 1986; Dimitri y Orfila, 1985).

La propagación de un genotipo a gran escala a través del empleo de técnicas de cultivo de tejidos, es una herramienta muy útil, tiene el potencial de producir plantas de calidad uniforme a

escala comercial, a partir de un genotipo selecto y con una tasa de multiplicación ilimitada (Echenique *et al*, 2004).

En el Género *Saintpaulia*, se mencionó la formación de tallos a partir del cultivo *in vitro* de pecíolos y hojas (Bilkey y Mc.Cown, 1978; Cooke, 1977; Del Pino *et al.*, 1993; Espinosa *et al*, 2007; Hakozaiki y Onho, 1997; Hurtado y Merino, 1994; Ioannou, 1987; Mohamed *et al*, 1989; Start y Cumming, 1976) en la aclimatación de las *vitroplantas*, se mencionado el uso de diferentes sustratos (Alvarado y Glorimar, 2001; Figueroa, 2006; Vidalie, 2001).

Con el objetivo de determinar la tasa de multiplicación *in vitro* que permita precisar la factibilidad de su producción en escala comercial, en el presente trabajo se ensaya y cuantifica la respuesta de tejido foliar para la inducción de órganos adventicios *in vitro* en forma indirecta y evaluar la tasa de supervivencia en la etapa de aclimatación de las *vitroplantas*.

Material y Métodos

Los explantos cultivados de *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue fueron secciones de pecíolos (50 mm) y cortes de láminas foliares (10 X 10 mm). La desinfección de los explantos se realizó según los tratamientos detallados en la Tabla 2.

Se analizaron las tasas de multiplicación y supervivencia en medio nutritivo de Murashige y Skoog (1962): sales diluidas a un cuarto, un medio y concentración completa, con la adición de agar (6 gr/l) y reguladores del crecimiento (Tabla 2).

Los explantos se incubaron en la cámara de cultivo a 24 ± 2 °C con 16 horas de fotoperiodo ($116 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$). Semanalmente se evaluaron los siguientes parámetros: tasa de contaminación, formación de callos, número de brotes y raíces formados *in vitro*, tasa de multiplicación y la tasa de supervivencia de las vitroplantas

en el invernáculo. Se usó el método de aclimatación gradual, inicialmente con cubierta plástica total y posterior remoción parcial de la misma cada siete días. La aclimatación de las vitroplantas se realizó según los tratamientos detallados en la Tabla 3. El diseño utilizado fue completamente aleatorizado con tres repeticiones. Las observaciones realizadas se analizaron estadísticamente, según correspondía mediante: ANOVA, Test de diferencias mínimas significativas (LSD) y Contraste de Kruskal Wallis (Sokal y F. Rohlf, 1995).

Tratamientos	Tiempo (minutos)	
	Alcohol 70	Hipoclorito de sodio (20%)
A	30	10
B	1	20
C	45	15
D	1,5	15
E	2	20
F	3	21
G	3	22
H	5	10
I	5	10

Tabla 1. Tratamientos de desinfección evaluados en la etapa de establecimiento *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue.

Tratamientos	Reguladores de Crecimiento
T1	----
T2	ANA (0,1 mg/l)
T3	BAP (1 mg/l)
T4	ANA (0,1 mg/l) BAP (1 mg/l)

Tabla 2. Combinación de reguladores de crecimiento evaluada en la micropropagación de *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue.

Sustratos	Reguladores de Crecimiento
Nº1	Tierra orgánica, Turba, Perlita (3:1:1/2)
Nº2	Tierra orgánica, Vermiculita (4:1)

Tabla 3. Combinación de sustratos evaluados en la aclimatación de *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue.

Resultados y Discusión

Establecimiento:

En los explantos de láminas foliares y pecíolos de *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue se observó contaminación por hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*. En la Figura 1 y Grafico 1 se detallan los datos obtenidos en los tratamientos de desinfección, destacándose el tratamiento D con el menor porcentaje de contaminación (38,59 %) y necrosis de los explantos sembrados.

Brotación y Multiplicación:

A los 33 días desde la siembra se empezaron a observar los primeros indicios de morfogénesis (Figura 2), esta observación se evaluó estadísticamente mediante un Contraste de Kruskal-Wallis para días según tratamiento determinó diferencias altamente significativas entre los tratamientos (p -valor = 0,018), indicadas en el Grafico 2. Se pueden establecer las siguientes diferenciaciones entre los tratamientos con reguladores de crecimiento: en el T1C (sales de Murashige y Skoog completas) se observó la formación de callos; mientras que en el T4 $\frac{1}{2}$ (sales de Murashige y Skoog diluidas al cincuenta por ciento), se observó la formación de raíces y los brotes neoformados.

En la etapa de multiplicación se lograron altas tasas de multiplicación mediante el T3 $\frac{1}{2}$ (BAP, 1 ml /l), con 481 plantas por explante (Figuras 3 y Gráfico 3). Espinoza *et al.* (2007) también evaluó el comportamiento de la especie respecto de los dos reguladores de crecimiento ANA y BAP, obteniendo tasas de multiplicación similares a las obtenidas en el presente trabajo. En cambio, Mohamed *et al.* (1989), encontraron que a partir de explantos de pecíolos las mejores concentraciones de hormonas fueron 0,25 mg.l⁻¹ de ANA y 1 mg.l⁻¹ de BAP; mientras que cuando el explanto eran hojas las mejores concentraciones fueron 0,1 mg.l⁻¹ de ANA y 0,5 mg.l⁻¹ de BAP. Por su parte, Hakozaiki *et al.* (1997) estudio el efecto de la concentración de AIA e IBA en la inducción de tallos y raíces en callos de *Saintpaulia ionantha* cv. Susie, usando como explantos tejido foliar. En pocos días se logró la formación de callos y raíces adventicias, en aquellos medios que contenían bajas concentraciones (0,5 mg.l⁻¹) de las hormonas mencionadas. Solamente se formaron tallos con el agregado de IBA a 0,5 o 2,5 mg/l.

Enraizamiento y Aclimatación:

Se determinó el porcentaje de plantas *in vitro* aclimatadas Figuras 4 y Gráfico 4, siendo los sustratos más efectivos el N° 1 (composición: tierra orgánica, turba, perlita; 3:1:1/2), que presentó un 83,21 % de vitroplantas aclimatadas. Vidale H. (2001) y Heredia C. y Yelitza M (2003) mencionan una alta tasa de aclimatación en sustratos porosos, poco compactados y con pH ácido, características éstas concordantes con el sustrato N° 1. Figueroa Cuevas (2006) realizó una pre-aclimatación, etapa no evaluada en el presente trabajo pero con tasas de viabilidad similares; se debe considerar que los resultados citados corresponden a la misma especie pero distinta variedad. Desde siembra a aclimatación de plantas obtenidas *in vitro* se cumplieron en un periodo de 12 meses.

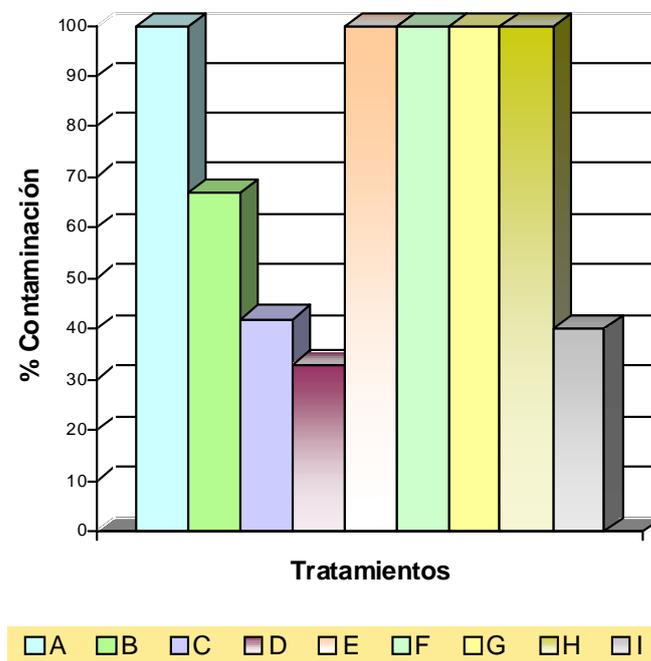


Gráfico 1. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: comparación de los porcentajes de contaminación con las distintas metodologías de desinfección.

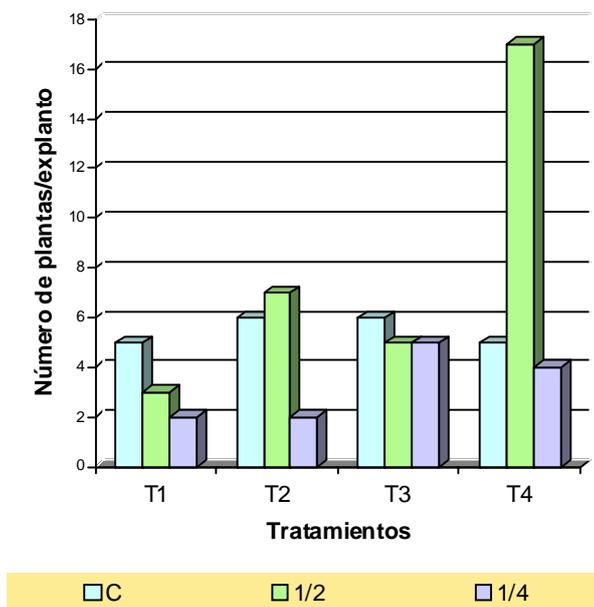


Gráfico 2. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: organogénesis *in vitro* observada a los 33 días de cultivo. Referencias: C=MS completo. 1/2= MS diluido al 50%. 1/4= MS diluido al 25%

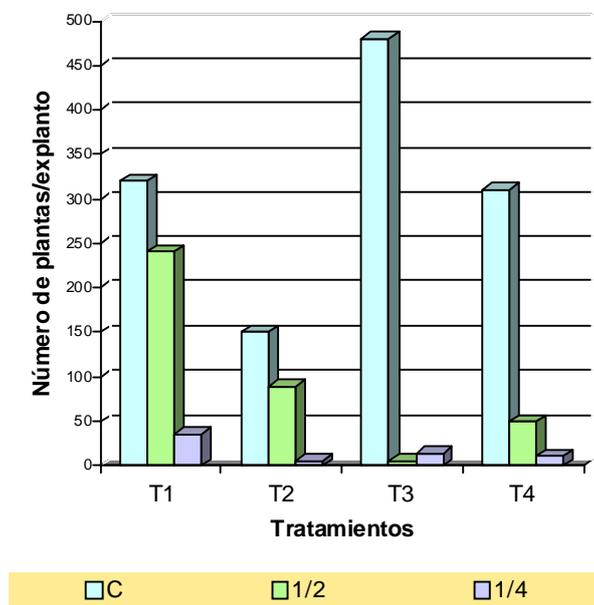


Gráfico 3. *S. ionantha* H. Wende.l var. Bangle Blue: comparación del número de plantas obtenidas en la etapa de multiplicación. Referencias: C=MS completo. 1/2= MS diluido al 50%. 1/4= MS diluido al 25%.

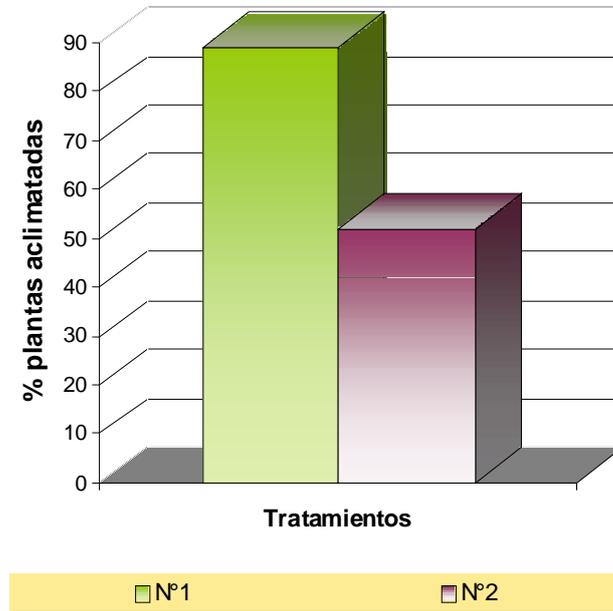


Gráfico 4. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: porcentaje de plantas aclimatadas en dos tipos de sustratos.

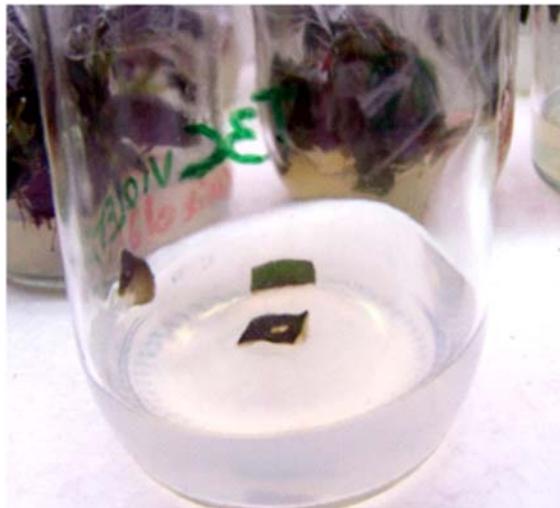


Figura 1. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: explantos foliares cultivados *in vitro*.

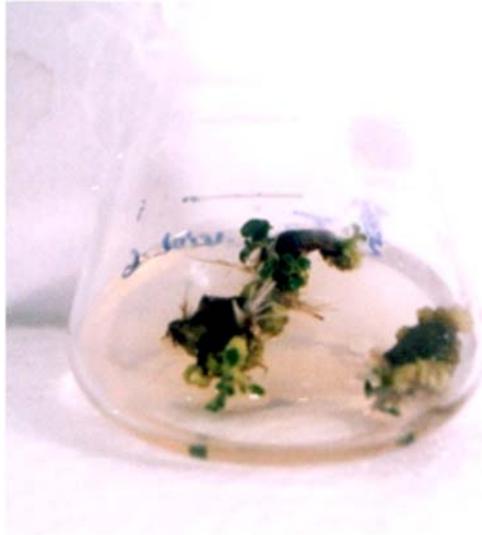


Foto 2. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: organogénesis *in vitro* a los 33 días de cultivo.



Foto 3. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: multiplicación *in vitro*.



Foto 4. *S. ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue: planta aclimatada.

Conclusiones

Se cumplieron todas las etapas de micropropagación de esta especie en un periodo de 12 meses. Se concluye que la aplicación de esta biotécnica resulta una metodología apropiada para la multiplicación a gran escala de esta especie.

Bibliografía

- Alvarado, A. y Glorimar, J. 2001. Estudio de la regeneración de plantas a partir de estacas de hoja en especies pertenecientes a las familias Gesneriaceae, Piperaceae y Acanthaceae. Tesis de grado. Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado. Venezuela.
- Bilkey, P. y Mc Cown, B. 1978. Micropropagation of African Violet from Petiolo Cross- Section. HortScience 13 (1):37-38.
- Boelke, O. 1986. Plantas Vasculares de la Argentina nativas y exóticas. Editorial Hemisferio Sur S.A.
- Cooke, R. 1997. Tissue Culture Propagation of African Violets. HortScience 12(6):549.
- Del Pino, G.; Pagliano, D. y Langón, M. 1993. Cultivo de tejidos de especies ornamentales: ajuste de condiciones para micropropagación de violeta africana y helechos. Revista RED BIO. Segundo Simposio Argentino de Biotecnología Vegetal. Córdoba, Argentina.
- Dimitri, M. J. y Orfila, E. N. 1985. Tratado de Morfología y Sistemática Vegetal. Editorial ACME.
- Espinosa Reyes A., Silva Pupo J., Gonzáles Paneque O., Fajardo Rosabal L. y Pérez Pérez J. 2007 Multiplicación *in vitro* de Violeta Africana. Revista Electrónica Granma Ciencia. Vol.11, No.2. Departamento de Ciencias Básicas. Facultad de Ingeniería. Universidad de Granma. Cuba.
- Figuroa Cuevas, N. 2006. Preaclimatación *in vitro* de plantas de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) y su efecto sobre aclimatación. Tesis de grado. Universidad Católica de Valparaíso.

- Hakozaki, M. O. 1997. Effects of indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid on the callus and adventitious organogenesis from cultured leaf explant African violet *in vitro*. Bulletin-of-the-Faculty-of-Agriculture,-Meiji-University No. 111, 19-29.
- Hurtado, D. y Merino, M. 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas.
- Ioannou, M. 1987. Micropropagation of African violet from petiole and leaf blade tissue. Technical Bulletin, Agricultural Research Inst. No. 92, 4 pp.
- Mohamed, B.; El-Din, T.; Ibrahim, I. y Arafa, A. 1989. Micropropagation of African violet. African-Journal-of-Agricultural-Sciences 16 (1-2): 199-212. Original no consultado, compilado del CAB Abstract 1990.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revise médium for rapid growth and biossays with tabacco tissue culture. *Physiol. Plant* 15: 473-497.
- Pierik, R. 1990. Cultivo *in vitro* de plantas superiores. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 301 p.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. Third edition. W. H. F. Freedman & Co., New York.
- Star, N. y Cumming, B. 1976. *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *HortScience* 11:204-206.
- Vidalie, H. 2001. Producción de Flores y plantas ornamentales. Mundi Prensa Libros S.A. España.