

Propagación *in vitro* de *Paeonia* var SeSu en Sistemas de Inmersión Temporal.

Yarianne Lezcano Más, Maritza Escalona Morgado, Marcos Daquinta Gradaille.

***Centro de Bioplantas, ÚNICA, Carretera a Moron, km 9 Ciego de Ávila.
ylezcano@bioplantas.cu***

RESUMEN.

Las Paeonias son ornamentales perennes que se cultivan en los países templados y fríos del hemisferio boreal. Por el interés comercial de estas plantas se desarrollaron diferentes estrategias con vistas a aumentar el coeficiente de multiplicación. Entre ellas, se evaluaron diferentes métodos de cultivo (semi-sólido, líquido e inmersión temporal), tipos (BA y mT) y concentraciones de citoquininas (0, 2.22, 4.44, y 6.66 $\mu\text{mol/L}$), así como el número de subcultivos en la proliferación de la Paeonia variedad SeSu en los Biorreactores de Inmersión Temporal. Se estableció un procedimiento para la proliferación en biorreactores de inmersión temporal de la Paeonia variedad SeSu el cual incluye el uso de la BA a 6.66 $\mu\text{mol/L}$ y la realización de un cambio de medio a los 15 días de iniciado el cultivo.

INTRODUCCION

Las especies del orden *Ranunculales* son importantes desde el punto de vista ornamental. Abarca hasta 1200 especies de porte muy diverso aunque en su mayoría se trata de plantas herbáceas. Dentro de ellas se encuentran las Paeonias muy apreciadas por la belleza y exquisito aroma de sus flores (Gola *et al.*, 1969).

Se propagan de manera vegetativa a través de la división del rizoma o de la corona de la planta. Por esta vía sólo es posible obtener de 3 a 5 clones por año (Hosoki *et al.*, 1989) y la tasa de multiplicación es muy lenta para satisfacer las demandas de producción de cultivares populares así como la introducción de nuevas especies e híbridos.

Las Paeonias no producen raíces adventicias fácilmente. El injerto es uno de los métodos que se aplican comercialmente para su propagación asexual y las estacas pueden formar su propio sistema radical sólo después de uno o dos años de ser injertadas sobre rizoma de paeonias herbáceas (Bouza *et al.*, 1994)

Se ha informado sobre la propagación *in vitro* de diferentes cultivares de *Paeonia suffruticosa* Andr. La mayor dificultad está en que el porcentaje de supervivencia ha sido muy bajo producto de la dormancia de las vitroplantas durante el establecimiento *ex Vitro*.

El empleo de los Biorreactores de Inmersión Temporal es una vía eficiente para la obtención de plantas de forma acelerada con la cual se logra un mayor número de plantas en menor tiempo (Etienne y Berthouly, 2002).

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la efectividad de la técnica de inmersión temporal así como diferentes condiciones de cultivo en la proliferación *in vitro* de la variedad de Paeonia SeSu.

Materiales y Métodos.

Proliferación *in vitro* de Paeonias en Biorreactores de Inmersión temporal.

Determinación de la influencia del método de cultivo y la concentración de la Bencil adenina (BA) en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de la variedad SeSu.

Este experimento se desarrolló con el objetivo de evaluar la eficiencia del cultivo en inmersión temporal a diferentes concentraciones de citoquininas en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes.

Se comparó la forma de cultivo en medio semi-sólido, líquido y la inmersión temporal. El experimento contó con 12 tratamientos cada uno con tres repeticiones.

A las cinco semanas de la proliferación se evaluó el coeficiente de multiplicación. Esta variable se determinó por el cociente del número final de brotes entre el número inicial de explantes (un brote de 3-4 cm de longitud y un diámetro mayor de 0.5 cm) inoculados. De igual forma se determinaron los indicadores morfológicos de calidad (longitud y número de hojas por brote) del brote principal (Hosoki *et al.*, 1989), así como la hiperhidricidad de los brotes.

Determinación del efecto del tipo y concentración de citoquininas en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de Paeonia variedad SeSu en el cultivo en inmersión temporal.

Después de determinado que el cultivo en BIT es más eficiente que el cultivo en medio líquido y semi-sólido, se evaluó el efecto de dos citoquininas a diferentes concentraciones en la proliferación de esta variedad.

Se ensayaron dos tipos de citoquininas aromáticas, la 6 Bencil adenina (BA): N⁶-bencil adenina y la metatopolina (mT): N⁶- (3-hidroxybenzyl) adenina.

Las condiciones experimentales fueron las mismas que se describieron en el experimento anterior. A las cinco semanas de la proliferación se calculó el coeficiente de multiplicación y se evaluó la calidad del brote principal como se describió anteriormente. El experimento contó con ocho tratamientos cada uno con tres repeticiones.

Determinación del número de subcultivo en el BIT y su efecto en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de la Paeonia variedad SeSu.

El objetivo del mismo fue evaluar el efecto del número de subcultivo en el BIT en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de esta variedad (en cada subcultivo se renueva la composición hormonal y de nutrientes del medio de cultivo). Los subcultivos se realizaron cada 15 días.

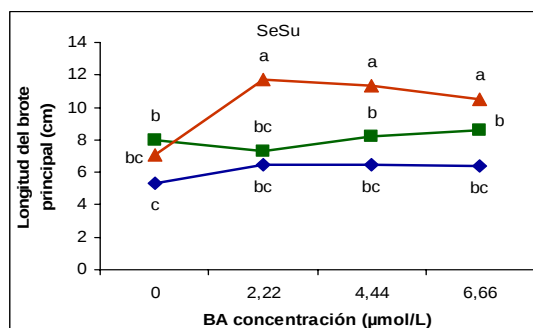
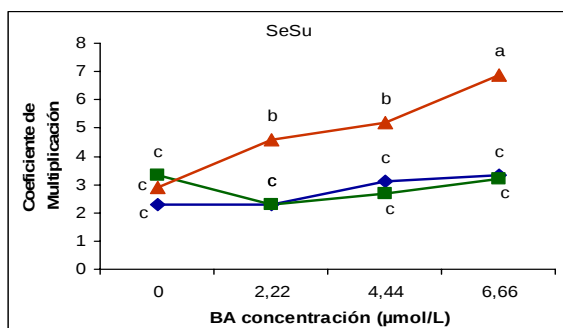
Las condiciones experimentales fueron las mismas que se describieron en el experimento anterior. A las cinco semanas de la proliferación se calculó el coeficiente de multiplicación y se evaluó la calidad del brote principal.

Resultados y Discusión.

Proliferación *in vitro* de Paeonias en Biorreactores de Inmersión temporal.

Efecto del método de cultivo y la concentración de la Bencil adenina (BA) en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de la variedad SeSu.

La efectividad de la técnica de inmersión temporal en el aumento de la proliferación y calidad de los brotes ha sido demostrada en diferentes especies de plantas (Etienne y Berthouly, 2002). Dentro de las ventajas que ofrece esta técnica, el contacto directo con el medio de cultivo renovado durante cada inmersión garantiza una forma más eficiente de suministro de los nutrientes en comparación con la forma estática en que se toman los mismos en el cultivo convencional (semi-sólido y líquido)



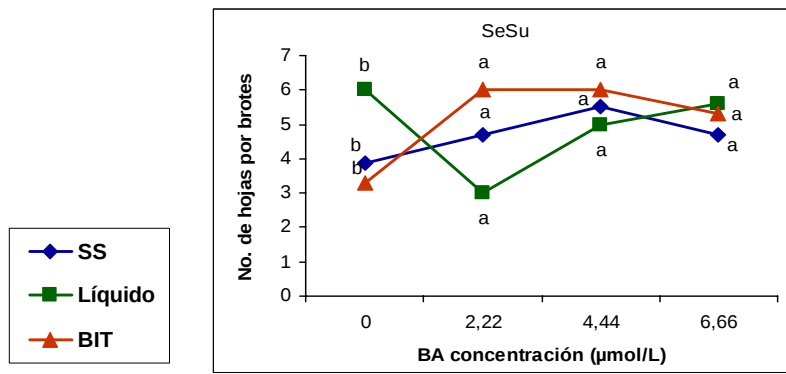


Figura 1: Efecto de la concentración de BA y la formas de cultivo en el coeficiente de multiplicación y calidad morfológica de los brotes de *Paeonia* var. *SeSu*. La media representa los datos de tres repeticiones. Kruskal-Wallis $p \leq 0.05$. Letras diferentes indican significación por el test Student-Newman-Keuls.



Figura 2. Brotes de *Paeonia* var *SeSu* después de cinco semanas de proliferación en el sistema de inmersión temporal.

Efecto del tipo y concentración de citoquininas en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de *Paeonia* variedad *SeSu* en el cultivo en inmersión temporal

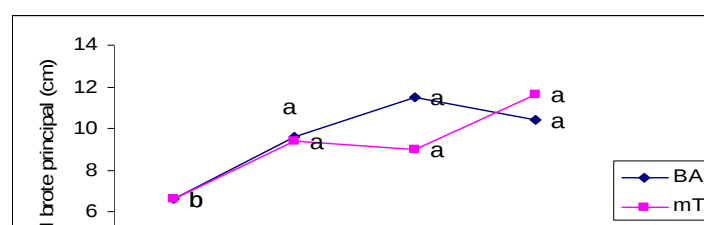
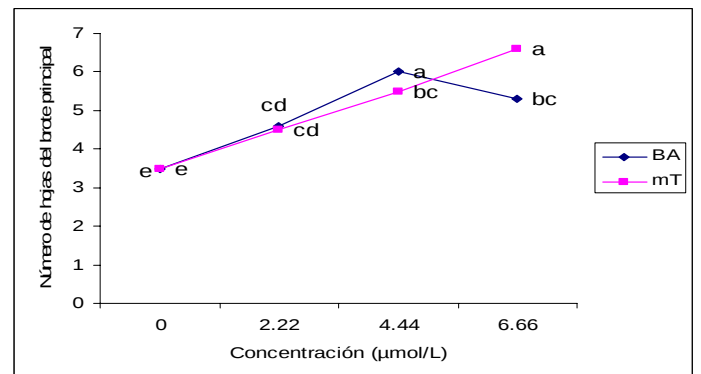
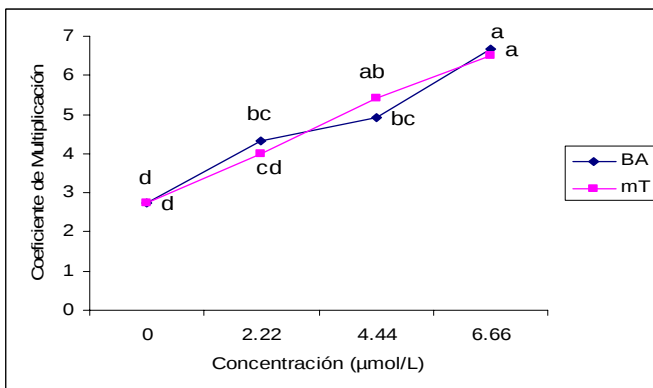


Figura 3: Efecto del tipo y concentración de citoquininas en el coeficiente de multiplicación y calidad morfológica de los brotes después de cinco semanas de proliferación en el BIT. Las medias son el resultado de tres repeticiones. Kruskal-Wallis $p \leq 0.05$. Letras diferentes indican significación por Student-Newman-Keuls.

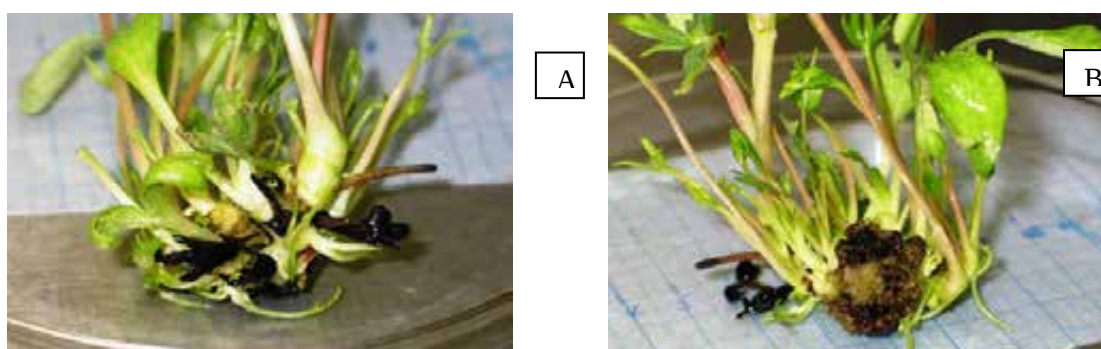


Figura 4: Brotes de Paeonia var. SeSu después de cinco semanas de proliferación en el sistema de inmersión temporal: A: agregados de brotes utilizando BA; B: Brotes de Paeonia SeSu utilizando mt nótese la presencia de callo en la base del agregado.

Efecto del número de subcultivo en el BIT en el coeficiente de multiplicación y calidad de los brotes de la Paeonia variedad SeSu.

En el tratamiento que permaneció las cinco semanas con el mismo medio de cultivo (sin renovación) el 88.8% de los brotes presentaron longitud mayor de 5 cm y un diámetro mayor a 0.5cm, es decir que cumplen con los indicadores óptimos de calidad que establece el laboratorio comercial. En general a medida que aumenta el número de subcultivos el porcentaje de brotes con calidad óptima disminuye.

Figura 6: Efecto del número de subcultivos en el coeficiente de multiplicación de la Paeonia SeSu después de ocho semanas en la fase de proliferación en el sistema de inmersión temporal. CM I: En el cálculo del coeficiente de multiplicación se incluyeron todos los brotes independientemente de su longitud y diámetro. CM II: En el coeficiente de multiplicación se incluyeron sólo los brotes con longitud > 5.0 cm y diámetro > 0.5 cm (requerimientos óptimos para pasar a enraizar). Los datos representan la media de tres sistemas de inmersión temporal cada uno con seis brotes ($n = 18$). Kruskal-Wallis $p \leq 0.05$. Letras diferentes dentro de cada línea indican significación por Student-Newman-Keuls.

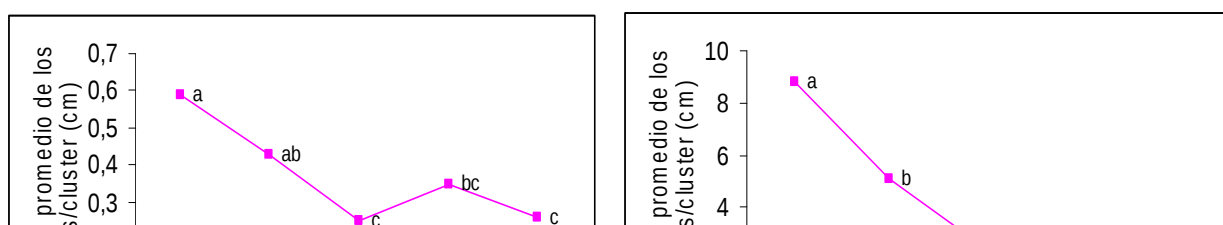


Figura 7: Efecto del número de cambio de medio en la longitud y diámetro promedio de los brotes por agregado de la Peonia var SeSu después de ocho semanas de proliferación en el sistema de inmersión temporal. Los datos representan la media de tres sistemas y tres agregados por sistema (n=9). Kruskal-Wallis $p \leq 0.05$. Letras diferentes indican significación por Student-Newman-Keuls.

CONCLUSIONES

1. Se estableció un procedimiento para la proliferación *in vitro* de la Paeonia var SeSu con el empleo del cultivo en inmersión temporal que logró incrementos significativos del coeficiente de multiplicación y la calidad de los brotes en comparación con los métodos convencionales (semi-sólido).
2. Se estableció el uso de la BA a la concentración de $6.66 \mu\text{mol/L}$ y la realización de un cambio de medio a los quince días de iniciado el cultivo, como las mejores condiciones para la proliferación de la Paeonia var SeSu en los SIT.

BIBLIOGRAFIA

- **BOUZA L., JACQUES M., SOTTA B., MIGINIAC E.** (1994). The reactivation of tree Paeony (*Paeonia suffruticosa* Andr) vitroplants by chilling is correlated with modifications of abscisic acid, auxin and cytokinin. Plant Science 93: 153-160.
- **ETIENNE H., BERTHOULY M.** (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ culture. 69: 215-231.
- **GOLA G., CAPPELLETTI C.** (1969). Tratado de Botánica. ed Revolucionaria. pp 933.
- **HOSOKI T., ANDO M., KUBARA T., HAMADA M., ITAMI M.** (1989). In vitro propagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) by a longitudinal shoot-split method. Plant Cell Reports., 8: 243-246.

