

Evaluación del ácido indolacético y la kinetina en la propagación *in vitro* de Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L.)

Evaluation of acid indolacetic and kinetin on *in vitro* propagation of Snapdragon (*Antirrhinum majus* L.)

F. Sunshine C.

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara (INIA Lara). El Cuji, estado Lara. Venezuela. Apto 592.

Resumen

Se evaluó el comportamiento *in vitro* de Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L), especie perteneciente a la familia Scrophulariaceae, con gran valor ornamental. Para ello, se colocaron segmentos nodales en el medio de Nitsch suplementado con sacarosa, tiamina, glicina, ácido nicotínico, ácido fólico, piridoxina, biotina, mioinositol y reguladores de crecimiento: Ácido Indolacético (AIA) y Kinetina (Kin), individualmente o combinados. Las variables evaluadas fueron porcentaje de explantes con brotes, número de brotes y longitud de los mismos. El medio de cultivo suplementado con 2,0 mg.L⁻¹ de AIA y 4,0 mg.L⁻¹ de Kin, resultó significativamente superior para la proliferación y crecimiento de los brotes. Estos alcanzaron un tamaño promedio de 70 mm a los 42 días de cultivo.

Palabras clave: Organogénesis, micropropagación, *Antirrhinum majus* L., Boca de Dragón.

Abstract

In vitro performance of the Snapdragon (*Antirrhinum majus* L.), belonging to Scrophulariaceae family with a great ornamental value, was evaluated. Steam pieces were placed on Nitsch medium supplemented with sucrose, thiamine, glycine, nicotinic acid, folic acid, pyridoxine, biotin, myoinositol and growth regulators: IAA and Kin, as single or combined. Percentage of explants with shoots, number and length of shoots, were the variables evaluated. The culture medium supplemented with 2,0 mg.L⁻¹ of IAA and 4,0 mg.L⁻¹ of Kin resulted

significantly superior for proliferation and growth of shoots. The shoots reached 70 mm height at 42 days after culture initiation.

Key words: Organogenesis, micropropagation, *Antirrhinum majus* L., Snapdragon.

Introducción

Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L.), pertenece a la familia Scrophulariaceae y su centro de origen es la cuenca del Mediterráneo. Esta especie posee un alto valor ornamental, ya que tiene una gran durabilidad y versatilidad como planta de interior, paisajismo, cestas colgantes, coberturas, entre otras (4). Es comúnmente propagada por vía sexual; sin embargo existen numerosos cultivares triploides que no producen semillas. En las últimas dos décadas se ha venido empleando la técnica de cultivo *in vitro*, utilizando generalmente discos de hojas y segmentos nodales como explantes (1, 7). Esto ha permitido una rápida multiplicación clonal, obtención de plantas libres de patógenos, variantes somaclonales favorables y materiales con alta fidelidad genética (5).

La mayoría de los trabajos desarrollados en micropropagación de Boca de Dragón, se basan en la rege-

neración de plantas a partir de la formación de callos (organogénesis indirecta), aislamiento de protoplastos y suspensiones celulares para la transformación genética (2, 3). Sin embargo, otros reportan organogénesis directa, basada en múltiples brotes y en el enraizamiento de los mismos. Las diferentes respuestas de desarrollo son obtenidas al realizar la siembra de los explantes en medios nutritivos con diferentes combinaciones y concentraciones de reguladores de crecimiento tales como: las auxinas y las citocininas (4). La aplicación de estos reguladores de crecimiento en la micropropagación, permite el crecimiento, diferenciación y desarrollo de los explantes (5, 6).

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el efecto del Ácido Indolacético (AIA) y Kinetina (Kin), solos o combinados en la propagación *in vitro* de segmentos nodales de Boca de Dragón.

Materiales y métodos

La investigación fue realizada en el laboratorio de cultivos de tejidos del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) en el Instituto de Genética, Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, en Maracay, estado Aragua. El material vegetal se extra-

jo de macetas plásticas ubicadas en el umbráculo del laboratorio de cultivo de tejidos. Para llevar a cabo la propagación *in vitro*, se procedió a lavarle las raíces a las plantas seleccionadas, con agua corriente y así retirarles los restos de tierra u otras partículas. Igualmente, se les eliminaron

todas aquellas partes con tejidos muertos. Posteriormente se introdujeron en una solución de etanol al 80% por 10 segundos. Luego se desinfectaron mediante agitación en jabón iodado antiséptico Betadine® al 3% (Iodo Povidona) y se enjuagaron con agua destilada esterilizada. Por último, se transfirieron a la cámara de flujo laminar bajo condiciones de asepsia y se sumergieron en hipoclorito de sodio al 10% durante 5 minutos, antes y después de la disección. Igualmente, se enjuagaron con agua destilada esterilizada.

Luego de la desinfección, se procedió a realizar los cortes de los explantes, basados en segmentos nodales de aproximadamente 1 cm de longitud. Estos se cultivaron en el medio de Nitsch *et al.* (6), suplementado con sacarosa (20 g.L⁻¹), tiamina HCl (0,5 mg.L⁻¹), glicina (2,0 mg.L⁻¹), ácido nicotínico (5,0 mg.L⁻¹), ácido fólico (0,5 mg.L⁻¹), piridoxina HCl (0,5 mg.L⁻¹), biotina (0,05 mg.L⁻¹), mioinositol (100 mg L⁻¹), phytagel (2,0 g.L⁻¹) y reguladores de crecimiento: AIA (2,0 g.L⁻¹) y Kin (4,0 g.L⁻¹), individuales o combinados. Los explantes se cultivaron en frascos de vidrio de 10 cm de altura (30 ml.), los cuales se colocaron en un cuarto de crecimiento con 25 ± 3°C, 16 horas de

fotoperiodo y 40 μmol. m⁻².s⁻¹ de intensidad de luz y una humedad relativa de 75%. El desarrollo de brotes se observó semanalmente evaluó semanalmente hasta completar 42 días del cultivo. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de explantes con brotes, número de brotes y longitud de los mismos. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 10 repeticiones por tratamiento, 3 frascos por unidad experimental, 1 explante por frasco, 5 unidades experimentales por repetición y un total de 3 tratamientos. Los datos fueron procesados estadísticamente mediante el programa SAS versión 7.

La variables porcentaje de explantes con brotes y número de brotes, se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis, después de verificar que no se cumplían con los parámetros de normalidad, aún realizando las transformaciones correspondientes: Raíz cuadrada de X, Arcsen de X y Seno de la Raíz Cuadrada de X. El análisis de normalidad se realizó a través de prueba de Wilk – Shapiro. En el caso de la variable longitud de los brotes, se realizó la agrupación de los tratamientos mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Resultados y discusión

Porcentaje de explantes con brotes: Esta variable se evaluó a los 42 días después de haberse iniciado el experimento. En todos los tratamientos se observó formación de brotes, no obstante, al aplicar la prueba de Kruskal y Wallis, se evidenció que el mayor porcentaje fue obtenido en el medio suplementado con 2,0 mg.L⁻¹ de

AIA y 4,0 mg.L⁻¹ de Kin, con lo cual se deduce que la combinación de ambos reguladores de crecimiento, es más efectiva para lograr inducción de brotes. El resto de los tratamientos mostraron valores significativamente menores, conformando otros grupos de medias (cuadro 1). Es importante destacar, que en ausencia de citocininas

Cuadro 1. Efecto del Ácido Indolacético y Kinetina sobre el porcentaje de explantes con brotes, número de brotes y longitud de los brotes de Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L.) a los 42 días del cultivo.

Tratamiento	% de explantes con brotes	Número promedio de brotes	Longitud promedio de brotes (mm)
T1 AIA (2,0 mg.L ⁻¹)	86,7 ^{b*}	1,3 ^{c*}	48,7 ^{c**}
T2 Kin (4,0 mg.L ⁻¹)	86,7 ^b	2,2 ^b	55,6 ^b
T3 AIA (2,0 mg.L ⁻¹) + Kin (4,0 mg.L ⁻¹)	100,0 ^a	4,8 ^a	70,0 ^a

*Valores dentro de una misma columna seguidos por la misma letra son significativamente diferentes según Kruskal y Wallis (P<0,05).

** Valores dentro de una misma columna seguidos por la misma letra son significativamente diferentes según Duncan (P<0,05).

en el medio de cultivo, no se produce brotación en diversos cultivares de Boca de Dragón (1, 3); sin embargo, en este experimento se logró inducir brotación en el medio de Nitsch (6) suplementado con AIA.

Número de brotes: Transcurrido un período de 15 días después

de iniciado el experimento (figura 1), se comenzó a observar proliferación de brotes en todos los tratamientos, siendo mayormente estimulada por el balance hormonal de AIA y Kin a las concentraciones de 2,0 mg.L⁻¹ y 4,0 mg.L⁻¹ respectivamente. Esta tendencia continuó hasta los 42 días, momen-



Figura 1. Desarrollo del brote en Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L.) a los 15 días del cultivo creciendo en el medio de Nitsch *et al.* (1967) suplementado con 2,0 mg.L⁻¹ de AIA y 4,0 mg.L⁻¹ de Kin.

to en el cual concluyó el experimento. Al realizar la prueba de Kruskal y Wallis, se determinó que la mencionada combinación de reguladores de crecimiento, indujo el mayor número de brotes (4,8 brotes por explante) (cuadro 1).

Longitud de los brotes: En cuanto a esta variable, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, después de 42 días de haber colocado los explantes. Los brotes en el medio suplementado con 2,0 mg.L⁻¹ de AIA y 4,0 mg.L⁻¹ de Kin, mostraron los mayores valores, alcan-

zando una longitud promedio de 70,0 mm, lo cual puede deberse a un adecuado balance hormonal adicionado al medio de cultivo. El resto de los tratamientos mostraron valores significativamente menores, de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan, conformando otros grupos de medias (cuadro 1). El tamaño de los brotes obtenidos en el lapso de 42 días, se considera apropiado para realizar sucesivas multiplicaciones, ya que el tamaño óptimo está señalado entre 60 mm y 100 mm (4).

Conclusiones

El medio de cultivo Nitsch, suplementado con 2,0 mg.L⁻¹ de AIA y 4,0 mg.L⁻¹ de Kin, resultó significativamente superior para la

proliferación y crecimiento de los brotes de Boca de Dragón. Se evidenció una interacción positiva de sinergismo al utilizar este balance de AIA:Kin.

Literatura citada

1. Atkinson, N., H. Newbury y B. Ford-Lloyd. 1991. *In vitro* adventitious root induction in *Antirrhinum majus* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 27(1):77-79.
2. González, B. 1996. Micropropagation of comercial and wild genotypes of snapdragon (*Antirrhinum* spp.). Journal of Horticultural Science. 71:11-15.
3. Heidmann, I., N. Efremova, H. Saedler y Z. Schwarz. 1998. A protocol for transformation and regeneration of *Antirrhinum majus*. The Plant Journal. 13(5):723-728.
4. Hoshino, Y. y M. MII. 1998. Bialaphos stimulates shoot regeneration from hairy roots of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell Reports. 17:256-261.
5. Newbury, H., E. Aitken, N. Atkinson y B. Ford-Lloyd. 1992. Micropropagation of Snapdragon (*Antirrhinum majus* L.). p. 19-33. En: Bajaj, Y. (Ed.). Biotechnology in agriculture and forestry. In the series analytic: High tech and micropropagation. First edition. Springer Verlag. Berlin, Germany.
6. Nitsch, J., C. Nitsch, L. Rossini y B. Ha. 1967. The role of adenina in bud differentiation. Phytomorphology. 17:446-453.
7. Sangwan, R. y J. Sangwan. 1990. Snapdragon. p. 744-762. En: Ammirato, P., D. Evans, W. Sharp y Y. Bajaj (Eds.). Handbook of plant cell culture. Ornamental species. Five edition. Springer Verlag, New York, USA.