

Efecto del pulso líquido sobre la multiplicación *in vitro* de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. F.)

Liquid pulse effect on *in vitro* multiplicaton of aloe (*Aloe vera* (L.) Burm. F.)

J. Vílchez¹, O. Ferrer², P. Chacín² y N. Albany³

¹Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia (LUZ). Apartado 15205. Maracaibo ZU. 4005.Venezuela.

²Laboratorio de Cultivo de Tejido, Facultad de Agronomía, LUZ.

³Departamento de Química, Facultad de Agronomía, LUZ.

Resumen

Con el objetivo de evaluar el efecto del pulso líquido sobre la multiplicación *in vitro* de zábila, se colocaron vitroplantas de esta especie 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 un testigo sin inmersión. Posteriormente se cultivaron en medio semisólido de multiplicación MS al 50% de las sales y libre de hormonas. El ensayo se evaluó mediante un diseño y modelo estadístico completamente al azar. Las variables evaluadas fueron altura de vitroplanta, número y altura de los brotes. A los 30 días de cultivo, el análisis estadístico detecto efectos para las variables evaluadas, obteniéndose los mayores valores de las variables evaluadas con el pulso líquido.

Palabras clave: Cultivo *in vitro*, pulso líquido, zábila.

Abstract

With the purpose of evaluating the effect of the liquid pulse on the multiplication *in vitro* of aloe, vitro plants of this specie were placed in immersion in a solution of 25 mg.L⁻¹ of Kinetina and 50 mg.L⁻¹ of 6-BAP during 90, 60 and 30 min and a control treatment without immersion. They were cultivated in a semisolid MS multiplication medium at 50% of the salts and free of hormones. Essay was evaluated by design and statistical model totally at random. The evaluated variables vitro plants height, number and height of shoot. On 30

Recibido el 9-1-2007 ● Aceptado el 30-4-2007

Autor para correspondencia e-mail: jvilchezp@uz.edu.ve; orlekferrer@yahoo.com; nilca_albany@cantv.net

days of culture, the statistical analysis detected effects for the evaluated variables, by obtaining the higher values of the variables evaluated with the liquid pulse

Key words: *In vitro* culture, liquid pulse, Aloe.

Introducción

La zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) se propaga en forma vegetativa ya que esta especie es afectada por una alta esterilidad masculina, sus semillas no son fértiles, por lo que no se pueden usar para propagar la planta, de allí que la siembra de esta especie se hace por trasplante de hijuelos, para lo cual es necesario producirlos en vivero y luego llevarlos al campo. Estos hijuelos pueden reproducirse por división de la raíz o rizoma (4).

El cultivo *in vitro* es una herramienta que permite aumentar la tasa de multiplicación en corto tiempo y se ha empleado para la propagación de la zábila (1, 3, 6). Sin embargo los reportes de número de brotes por

explante obtenidos en la fase multiplicación de la micropropagación de zábila en Venezuela, señalan valores inferiores a los reportados internacionalmente. El pulso líquido o inmersión de los explantes por un periodo de tiempo corto en soluciones con elevadas concentraciones de citoquininas, y luego el cultivo de estos en medio sin hormonas se ha reportado como una técnica que permite aumentar el número de brotes por explante en la fase de multiplicación *in vitro* (5). Por esta razón el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del pulso líquido en la multiplicación *in vitro* de zábila.

Materiales y métodos

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, durante el periodo comprendido entre diciembre del 2005 y enero del 2006.

Se utilizaron vitroplantas de zábila cultivadas en condiciones *in vitro* en fase de crecimiento, libres de microorganismos contaminantes visibles. Su manipulación se realizó bajo condiciones de asepsia empleando una cámara de flujo laminar horizontal e instrumentos esterilizados en autoclave y desinfectados con una solución

de hipoclorito de sodio al 1%.

Se comparó el efecto del tratamiento de pulso líquido o inmersión en una solución de citoquininas, 25 mg.L⁻¹ de Kinetina mas 50 mg.L⁻¹ de 6-BAP durante 30, 60 y 90 min con la técnica convencional de propagación *in vitro* en medio semisólido (testigo), para lo cual se emplearon 10 frascos por tratamiento con tres explantes por frasco, siendo la unidad experimental un explante, para un total de 120 explantes. El medio de cultivo de multiplicación estuvo constituido por 50% de las sales MS, 1 mg.L⁻¹ de tiamina

HCl, 100 mg.L⁻¹, mioinositol, 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.

Los explantes crecieron a una temperatura de 26°C y bajo luz blanca fluorescente constante (150 µmol m⁻².s⁻¹).

Después de 4 semanas de cultivo se evaluó la longitud de los explantes (LE) medido desde la base de la vitroplanta hasta la inserción de la última hoja, el número de brotes (NB) y

la longitud de los brotes (LB), medida que fue realizada desde la base del brote hasta el extremo distal del mismo.

El ensayo fue analizado estadísticamente mediante una prueba de varianza simple y el diseño experimental fue totalmente al azar. Cuando se detectaron diferencias estadísticas se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Para el procesamiento estadístico se empleó el software analítico Statistix versión 8.0.

Resultados y discusión

La aparición de brotes en los explantes pudo observarse a los 15 días de sembrados. En el cuadro 1 se muestra el efecto del pulso líquido sobre las variables evaluadas (NB, LB y LE) encontrándose efectos del pulso líquido sobre las mismas. Se observó una tendencia hacia un mayor NB a media que los tiempos de pulso líquido eran menores, siendo el mayor valor obtenido para esta variable de 4 brotes con 30 min. de inmersión y el menor valor para el tratamiento testigo (0,3 brotes/explante). Este comportamiento pareciera indicar un efecto inhibitorio de la combinación de citoquininas empleadas sobre el NB, comportamiento que también ha sido señalado por otros autores durante la multiplicación convencional *in vitro* de zábila al utilizar dosis elevadas de citoquininas en combinación con auxinas (2).

Albany (1) utilizando la multiplicación convencional *in vitro* de zábila obtuvo valores de NB de 3,75 muy similares a los obtenidos en este ensayo al utilizar el pulso líquido. No

obstante, en *Aloe vera* var. *Chinensis* (Haw) y *A. barbadensis*, se han reportado NB superiores de 15 y 9, brotes por explante respectivamente (3, 6). Es importante señalar que en los explantes tratados con pulso líquido mostraron un aumento considerable del NB llegando hasta 15 (datos no publicados) en subcultivos posteriores en medio libre de reguladores de crecimiento, lo cual sugiere que el pulso líquido en zábila pudiera inducir la síntesis de citoquininas endógenas por un efecto residual.

Los valores de LB y LE fueron estadísticamente similares para los tiempos de inmersión evaluados, pero difirieron del testigo, donde se observaron los menores valores para esta variables (cuadro 1). Los valores de LE observados en este ensayo fueron superiores a los reportados por Albany (1) para la multiplicación convencional *in vitro* de zábila (2,85 cm).

En otras especies se ha reportado el empleo del pulso líquido como una alternativa para mejorar el número de NB (5), sin embargo para la

Cuadro 1. Efecto del tiempo de inmersión en 25 mg.L⁻¹ de Kinetina y 50mg.L⁻¹ de 6-BAP sobre el número de brotes (NB), longitud de los brotes (LB) y longitud de los explantes (LE). Letras distintas difieren estadísticamente (P<0,05) para la prueba de comparación de medias de Tukey.

Tiempo de inmersión (min.)	NB	LB (cm.)	LE (cm.)
30	4,0a	0,6a	3,9a
60	3,5a	0,6a	4,1a
90	3,1b	0,8a	4,1a
Testigo	0,3c	0,4b	3,8b

zábila, aunque los valores obtenidos con los tratamiento de pulso liquido fueron superiores a los del testigo, en general, estos fueron inferiores a los

reportados por la literatura en la multiplicación convencional *in vitro* de zábila al menos para el tiempo de evaluación.

Conclusión

El pulso liquido es una alternativa para la multiplicación *in vitro* de zábila, obteniéndose los valores para el número y longitud de los brotes y

longitud del explante superiores a los obtenidos en con el método convencional de multiplicación *in vitro*.

Literatura citada

- Albany N., J. Vilchez, S. León de Sierralta, M. Molina y P. Chacín. 2006. Una metodología para la propagación *in vitro* de *Aloe vera* L. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 23:213-222.
- Cura, A.A., H.Y. Rey y L.A. Mroginski. 2004. Cultivo *in vitro* de tejidos para la regeneración de plantas de *Aloe vera* L. (Liliaceae). Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas: Resumen A-006 6 URL: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-006.pdf>.
- Liao, Z., M. Chen, F. Tan, X. Sun y K. Tang. 2004. Micropropagation of endangered Chinese aloe. Plant Cell Tissue and Organ culture. 76:83-86.
- Lugo, Z., D. Tua y M. Naveda. 2005. El cultivo de la Zábila en Venezuela: I. Costos de producción para acibar. Revista Digital CENIAP HOY Número 7. 2005. Maracay, Aragua, Venezuela. URL: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n7/arti/lugo_z/arti/lugo_z.htm
- Madhulatha P., S. Anbalagan, S. Jayachandran and N. Sakthivel, 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa* spp. AAA). Plant Cell. Tiss. Org. Cult. (76):189 – 191.
- Meyer, H.J. and L. Van Staden. 1991. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 26:167-171.