



# Influencia del explante y condiciones de iluminación en la propagación acelerada de claveles

Lourdes Díaz Canals, Esperanza Peña García y Emma Grillo Mensa, Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana

## RESUMEN

Se estudió el efecto de las características del explante en el desarrollo de plántulas de claveles "in vitro" a partir de fragmentos del tallo. Se sembraron los diferentes nudos en medio sólido de Murashige y Skoog sin hormonas y suplementado con: complejo B, mioinositol, L-glutamina y sacarosa. Además se estudió el efecto de la iluminación general en el desarrollo de los mismos.

## ABSTRACT

The effect of explant characteristics in the development of carnation plantlets "in vitro" from shoot segments was studied. The different nodes were cultured in Murashige and Skoog solid medium without hormones and supplemented with B-complex, myoinositol, L-glutamine and sucrose. The effect of general illumination in their development was also studied.

## INTRODUCCIÓN

Los claveles, pertenecientes a la familia Caryophyllaceae, son plantas ornamentales por la belleza de sus flores, las cuales presentan tonalidades variadas y variación en el tamaño y características de la corola. Por las condiciones climáticas en que se desarrollan normalmente, su utilización en Cuba con estos fines se ha visto limitada, aunque se obtienen plantas en condiciones naturales en algunas épocas del año y en condiciones de cultivo de campo especiales.

Existen numerosos trabajos, e inclusive monografías, en las cuales se abordan las técnicas de cultivo "in vitro" con el objetivo de obtener plántulas a partir de meristemos o de cortes en el tallo (Boh-

mig una Chrobok, 1963; Earle and Langhans, 1975.

En la última década se han realizado trabajos en que se reporta la acción sola o combinada de la kinetina y del ácido indolacético en la obtención de plantas a partir de meristemos y su desarrollo posterior (Shabde and Murashige, 1977); la acción de la composición y características físicas del medio nutritivo (Gukasyan et al, 1977); las características del medio nutritivo en relación con las fases de iniciación del cultivo a partir de meristemos, las fases de multiplicación del tallo y la fase de enraizamiento (Davis, Baker and Hanan, 1977); así como el efecto de las radiaciones (Roest and Bokelman, 1981). Los resultados obtenidos permiten

plantear que la propagación de claveles por la técnica de cultivo "in vitro" es satisfactoria. En Cuba la utilización de esta vía de propagación sería altamente beneficiosa en estas plantas, teniendo en cuenta nuestro clima trópico.

La propagación "in vitro" de plantas a partir de fragmentos de sus órganos vegetativos implica la necesidad de conocer el medio de cultivo adecuado, las condiciones de iluminación, temperatura y las características del explante. Es por ello que los trabajos iniciales en cualquier planta deben contener estos aspectos, que a su vez varían en las distintas especies y variedades.

Por otra parte la evaluación de

la potencialidad de las plantas obtenidas con fines de propagación masiva y resistencia posterior al trasplante a suelo, requieren de un estudio cuidadoso desde el punto de vista de su rentabilidad. En el presente trabajo se evalúan el crecimiento y las características de plantas obtenidas "in vitro" bajo distintas condiciones de iluminación así como efecto del explante utilizado.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas estériles de tres variedades (I, II y III) de claveles de las cuales se sembraron los nudos desprovistos de hojas en el medio que se presenta en la *Tabla 1*.

TABLA 1. Composición del medio de cultivo utilizado.

Compuestos añadidos al medio	Concentraciones de los componentes para 1l de medio.
<b>MACROELEMENTOS:</b>	
N H <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650 mg
KNO <sub>3</sub>	1900 mg
Ca Cl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440 mg
Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170 mg
EDTA-Fe	5 ml
<b>MICROELEMENTOS:</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2 mg
Mn SO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3 mg
Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	10,2 mg
KI	0,83 mg
Cu SO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025 mg
CO Cl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,025 mg
Na <sub>2</sub> Mo O <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25 mg
<b>ADITIVOS:</b>	
- BIOTINA	0,01 mg
- AC. NICOTÍNICO	1 mg
- PIRIDOXINA	1 mg
- THIAMINA	1 mg
- PANTOTENATO DE CALCIO	1 mg
- CYSTEINA CLORIDRATO	1 mg
MYO INOSITOL	100 mg
L- GLUTAMINA	200 mg
SACAROSA	30 g
AGAR AGAR	8 g

En todos los casos el material se sembró verticalmente manteniendo su polaridad como se observa en la *figura 1*.

Para el estudio del efecto del explante por variedad y por nudo. Se utilizaron: 1er. nudo (región apical de entrenudos no desarrollados), 2do. nudo (nudo entre 1ro. y 2do. entrenudo), 3er. nudo (nudo entre 2do. y 3er. entrenudo) y 4to nudo (nudo entre 3ro. y 4to. entrenudo).

Empleándose distintas condiciones de iluminación:

1. Luz continua de baja intensidad (2000 lux).
2. 16 horas luz (16000 lux) y 8 oscuridad.

Las plantas se mantuvieron a dos temperaturas diferentes:

1.  $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$
2.  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Se evaluaron los siguientes caracteres:

1. Longitud total de la planta.
2. Número de nudos.
3. Número de hojas.
4. Desarrollo de raíces.
5. Desarrollo de brotes.
6. Formación de callos.
7. Color.

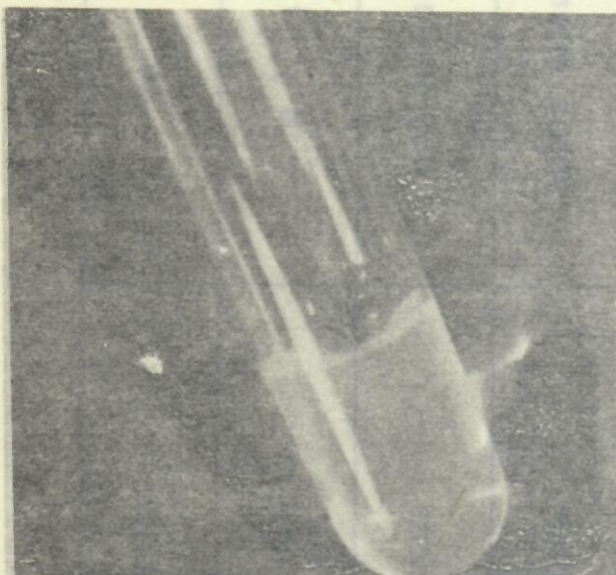


Figura 1. Características del explante utilizado en todos los experimentos después de 24 horas de sembrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de desarrollar variedades de claveles durante 20 días bajo condiciones de baja temperatura ( $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y fotoperíodo (16 horas luz de 16000 lux y 8 horas de oscuridad) se reflejan en la *tabla 3*.

Es evidente que las tres variedades estudiadas tienen un comportamiento similar en todos los parámetros analizados en las condiciones del experimento. Estas pueden caracterizarse de manera general como plantas de color verde intenso, con una longitud total que alcanza hasta los 10 cms. y en cuyo brote existen entre 8 y 10 nudos visibles, con numerosas raíces y en las que se evidencia también que las condiciones de cultivo no favorecen en absoluto la producción de callos a partir de los explantes.

Las características del comportamiento "in vitro" de las tres variedades pueden observarse en la *figura 2* y pueden valorarse como satisfactorias en estas especies.

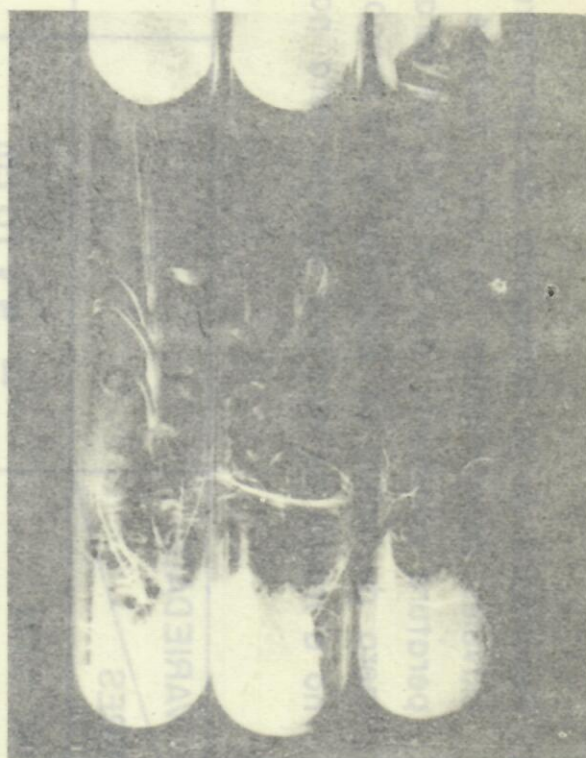


Figura 2. Caracteres generales de las plantas de 3 variedades de claveles desarrolladas "in vitro" a partir de segmentos de tallos desprovistos de hojas después de 20 días en condiciones de fotoperíodo y de temperatura constante de  $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

TABLA 2. Resultados de la evaluación de caracteres de las plántulas de tres variedades de claveles desarrolladas "in vitro" durante 20 días en condiciones de fotoperíodo y temperatura constante de  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ , los caracteres cuantitativos de longitud total y número de nudos se expresan en el rango en que se desarrollan todas las plantas y no a través de  $\text{su}\bar{x}$  por cuanto esta no es representativa en los tubos analizados

VARIEDAD CARACTERES	I	II	III
longitud total de la planta	÷ 9 y 10 cm	÷ 9 y 10 cm	÷ 9 y 10 cm
color	verde intenso	verde intenso	verde intenso
raíces	numerosas	numerosas	numerosas
nudos	÷ 8 y 10	÷ 8 y 10	÷ 8 y 10
callos	no	no	no

En las tablas 3, 4 y 5 se reflejan los resultados obtenidos al cultivar las variedades I, II y III de claveles bajo condiciones de luz blanca continua y difusa (2000 lux) y temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante cuatro semanas "in vitro".

Como se evidencia en la *Tabla 3* el comportamiento de los diferentes caracteres es variable. La longitud total oscila entre 3 y 7 cms y parece existir una tendencia hacia un menor desarrollo en estas condiciones de cultivo "in vitro" a medida

que el segmento de tallo utilizado se aleja del ápice, aún considerando que en el segmento 2 la variabilidad de este carácter es muy grande. Tendencia contraria a la anterior se evidencia en el número de nudos de las plantas donde existe un ligero incremento entre el segmento 1 y 4 y donde se manifiesta también heterogeneidad en el segmento 2. La relación de estos dos caracteres ofrece una idea de la diferencia en el aspecto de las plantas obtenidas a partir del segmento 1 y de los segmentos 3 y 4. En

**TABLA 3.** Comportamiento de diferentes explantes de la variedad I "in vitro" durante 4 semanas. 1, 2, 3, y 4, representa los segmentos de tallos utilizados a partir del ápice.

NUDOS CARACTERES	1	2	3	4
longitud total de la planta	÷ 6 y 7 cm	muy variable	÷ 3 y 4 cm	÷ 3 y 4 cm
número de nudos	4	muy variable	5	5
número de hojas	÷ 4 y 5	muy variable	÷ 7 y 10	+ de 12
desarrollo de raíces	66%	66%	100%	100%
desarrollo de brotes	no	1	2	2
formación de callos	no	11%	22%	33%
color	verde intenso	verde intenso	clorosis 40%	verde intenso

el número de hojas existe una tendencia aparente hacia el incremento de la producción de este órgano vegetativo a medida que el explante utilizado dista más de la región apical, sin embargo, si esto se relaciona con el desarrollo de brote, el carácter no sigue claramente esa tendencia, ya que el número de hojas que se reporta se corresponde con el total de hojas y con las hojas por cada brote. En todos los tipos de explante más del 50% de las plantas desarrolladas presentaban un buen desarrollo del sistema radicular, no obstante los segmentos 3 y 4, en los cuales el brote tiene menor longitud y desarrollo de las raíces es más generalizado.

En general para el período de tiempo en que se mantuvo el explante desarrollándose en condiciones de iluminación continua pobre no hubo afectaciones por clorosis a excepción del segmento 3 en que el 40% de las plantas analizadas estaban afectadas por este síntoma. Finalmente es de destacar que a pesar de que el medio nutritivo utilizado no contiene suplementos hormonales existe una tendencia a la formación de callos a medida que el segmento dista más de la región apical, lo cual puede estar relacionado al gradiente auxínico y a la poca iluminación en que se desarrollaron las plantas.

Algunos de los caracteres descritos pueden observarse en la *figura 3 y 4*.

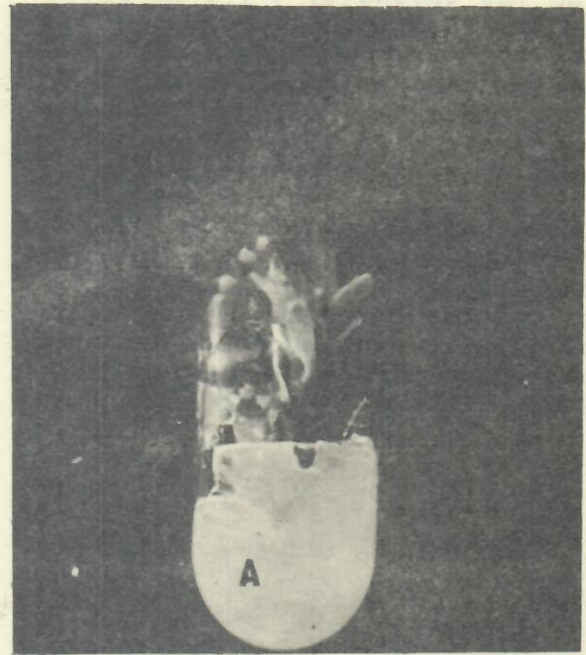
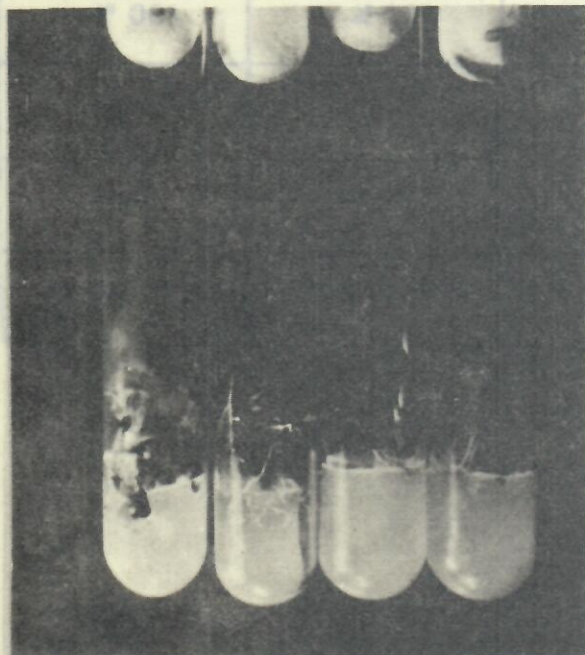


Figura 3. Aspecto general del comportamiento de la variedad I según el segmento utilizado como explante. De izquierda a derecha 4, 3, 2, 1.

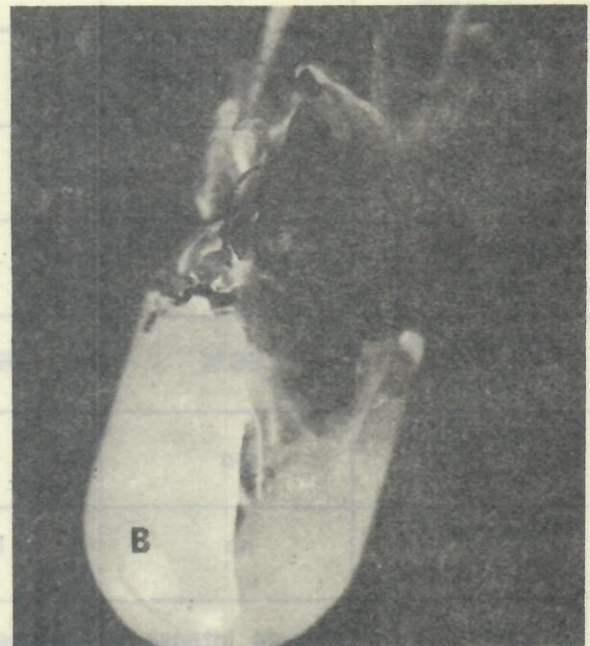


Figura 4. Características de las plantas obtenidas a partir del segmento 4 después de cuatro semanas de desarrollo "in vitro" a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura y luz blanca continua y difusa. A. Se observa la poca talla de la planta, la existencia de más de un brote y el elevado número de hojas. B. El mismo tubo anterior en que se observa un callo desarrollado y un sistema radicular abundante.

En las variedades II y III, cuyos resultados aparecen en la tabla 4 y, tabla 5, las condiciones bajo las cuales se realizó el experimento parecen haber afectado severamente el desarrollo de las plantas "in vitro" desde su inicio en los diferentes tipos de explantes. En estos casos no se realizaron las evaluaciones de caracteres cuantitativos por considerar que la clorosis influye en el desarrollo general de la planta.

No obstante la afectación de ambas variedades, hubo producción de brotes laterales que se caracterizó por ser menos generalizada que en la variedad I y por originarse en todos los tipos de explantes incluyendo el de la región apical. Además, hubo desarrollo de callos sin que pudiera establecerse una relación clara con el origen del explante, lo cual atribuimos a la afección presentada.

**TABLA 4. Resultados de la evaluación de caracteres en la variedad II "in vitro" durante 4 semanas de desarrollo con luz continua de baja intensidad (2000 lux) y temperatura de 25± 2°C.**

NUDOS CARACTERES	1	2	3	4
desarrollo de brotes	44,4%	66,6%	66,6%	77,7%
formación de callos	11,1%	22,2%	33,3%	no
color	clorosis	clorosis	clorosis	clorosis

**TABLA 5. Resultados de la evaluación de los caracteres en la variedad III "in vitro" durante 4 semanas de desarrollo con luz continua de baja intensidad y temperatura de 25± 2°C.**

NUDOS CARACTERES	1	2	3	4
desarrollo de brotes	33,3%	33,3%	33,3%	44,4%
formación de callos	22,2%	no	no	11,1%
color	clorosis	clorosis	clorosis	clorosis

En la figura 5 se reflejan los caracteres de la variedad II, de lo cual se evidencia la imposibilidad de utilizarla en estas condiciones de cultivo para propagarla masivamente. El mismo aspecto presentan las plantas de la variedad III.

Haciendo un análisis de los resultados obtenidos en ambos experimentos se hace evidente que la aplicación de las condiciones de iluminación intensa durante 16 hrs. alternando con un período de oscuridad de 8 hrs. favorece sustancialmente la rapidez de desarrollo y la calidad de las plantas en cualquiera de las variedades.

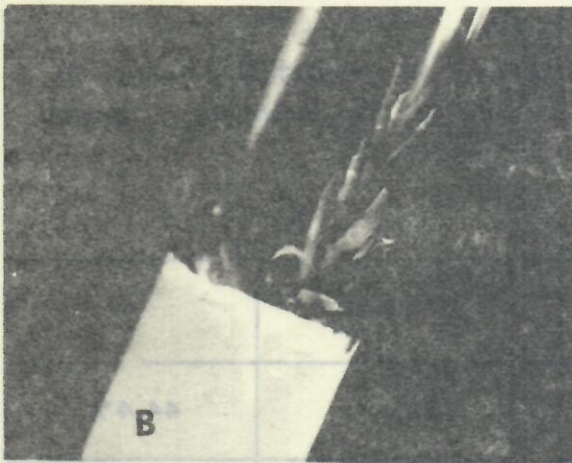
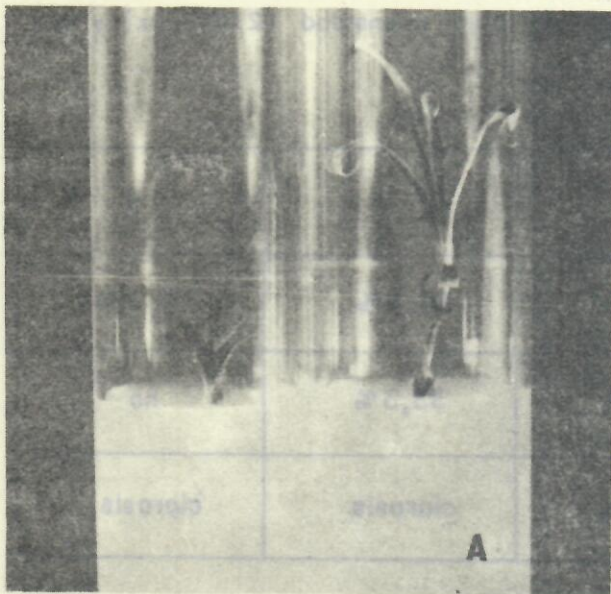


Figura 5. Características de las plantas de la variedad II, después de cuatro semanas de desarrollo "in vitro" a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura y luz blanca difusa.

A. Observarse longitud máxima y mínima alcanzada.

B. Apreciación de la clorosis.

Aunque la variedad I haya dado resultados satisfactorios en condiciones sustancialmente diferentes a las naturales (iluminación continua) no es recomendable la aplicación de estas condiciones para la propagación masiva ya que el desarrollo es lento.

El cultivo exitoso de plantas de claveles "in vitro" requiere un estudio cuidadoso del % de supervivencia que se logre con el paso a tierra y del momento idóneo de ese trasplante.

Teniendo en cuenta los resultados de cultivar distintos nudos, debe estudiarse también este aspecto en relación con el paso a tierra y determinar cuáles son las plantas de mejores posibilidades adaptativas al aviveramiento.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Bohmig Franz und Rolf Chrobok  
Dianthus, Neumann. Verlag.  
1963.
2. Davis, M.J.; Ralph Baker and  
Jae J. Hanan  
Clonal multiplication of carnation by micropropagation.  
JAM SOC HORTIC SCI 102 (1)  
pp. 48-53, 1977.
3. Earle, E.D. and R.W. Langhans  
Carnation propagation from shoot tips cultures in liquid medium. Hort. Sci. Vol. 10, pp. 608-610, 1975.
4. Gukasyan, I.A.; R.G. Butenco; S.A. Petoyand and T.A. Sevostyanova  
Morphogenesis of isolated apice remontant carnations on an artificial medium. Sov. Plant. Physiol. 24 (1) pp. 168-174, 1977.
5. Roest, S. and G. S. Bokelmann  
Vegetative propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus*) "in vitro" through multiple shoot development. SCI. HORT. (AMST) 14 (4) pp. 357-366, 1981.
6. Shabde, Meena and Toshio Murashige.  
Hormonal requirements of excised *Dianthus caryophyllus* L. shoot apical meristem "in vitro" Am. J. Bot. 64 (4) pp. 443-448, 1977.

Recibido: 11 de julio de 1985.