

## EFEECTO DE META-TOPOLINA SOBRE LA PROPAGACIÓN *in vitro* DE *Rhodophiala splendens* EN MEDIO LÍQUIDO

### EFFECT OF META-TOPOLINE ON *in vitro* PROPAGATION OF *Rhodophiala splendens* IN LIQUID CULTURE MEDIUM

Jara, G.<sup>1</sup>, Seemann, P.<sup>1</sup>, Muñoz, M.<sup>1</sup>, Riegel, R.<sup>1</sup>, Schiappacasse, F.<sup>2</sup>, Peñailillo, P.<sup>2</sup> y Basoalto, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

E-mail: gjara@uach.cl

<sup>2</sup>Departamento de Horticultura, Universidad de Talca, Talca, Chile.

#### INTRODUCCIÓN

Las citoquininas son un grupo de reguladores de crecimiento involucradas en múltiples funciones en el desarrollo de las plantas, desde la germinación de las semillas hasta la senescencia. Estas se encuentran naturalmente en las plantas o son preparadas sintéticamente, como el N6-benzilaminopurina, 6-furfurylaminopurina, entre otras, siendo en su mayoría del tipo isoprenoides. Sin embargo, existen otro tipo de citoquininas del tipo aromáticas, aisladas de derivados hidroxilados del BAP, conocidos como topolinas, de las cuales la forma meta es la más activa (Mok *et al.* 2005). La actividad de estas methoxytopolinas ha sido demostrada mediante bioensayos con crecimiento de callos en tabaco, inducción de síntesis de betacianina en cotiledones de *Amaranthus*, en la actividad antisenescente en cebada y en la formación de clorofila en cotiledones de pepino. El rol de la citoquininas en la micropropagación convencional utilizando medios sólidos, ha sido analizado en varias especies de *Rhodophiala*, en las cuales se reportan coeficientes de multiplicación muy bajos (Jara *et al.*; 2004). Algunos autores han reportado que el uso de medios líquidos es un excelente sistema para aumentar los índices de multiplicación, especialmente mediante el uso de la inmersión temporal en medios suplementados con citoquininas. No obstante, recientemente se ha reportado que la aplicación del BAP en el cultivo bajo inmersión temporal de *Musa* no aumenta los índices de multiplicación como ocurre con otros cultivos, pero que mediante la aplicación de meta-topolina estos índices

se elevan notablemente, evitándose además realizar la fase de alargamiento (Escalona *et al.* 2003). En base a estos antecedentes es que el presente trabajo tiene como objetivo comparar los índices de multiplicación de microbulbillos *in vitro* de *R. splendens*, utilizando medios de cultivo adicionado con las citoquininas meta-topolina y BAP en forma sólida y líquida, de tal forma de definir concentraciones óptimas para inducir la brotación y bulbificación.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron microbulbillos de *R. splendens* originados de semillas, a los cuales se les eliminaron las hojas, raíces y escamas oxidadas para de esta forma realizarles un corte basal y sembrarlos en frascos con 50 mL de medio de cultivo MS en estado sólido y líquido, adicionado con 0, 2,2, 4,4 y 6,6  $\mu\text{molL}^{-1}$  de la citoquininas N6-Benzilaminopurina (BAP) y N6-(3-hydroxibenzil) adenina (meta-topolina), de tal forma de completar siete tratamiento en medio sólido y siete tratamientos en medio líquido, con ocho repeticiones por tratamiento y un microbulbillo por frasco. Los cultivos se mantuvieron en cámara de luz artificial con un flujo de fotones fotosintéticamente activos de 50  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ , fotoperiodo de 16 horas luz y una temperatura de 24°C, evaluándose al cabo de 60 días, la tasa de multiplicación, mediante la relación número de microbulbillos inicial + número microbulbillos final/ número microbulbillos inicial, diámetro ecuatorial y peso fresco de la planta completa, obteniendo de esta forma el incremento de materia fresca de las plántulas. El procesamiento

estadístico de los datos consistió en el análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher (LSD) sobre el efecto de los factores principales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del mismo modo como lo reportado para otras especies, la utilización de medios líquidos fue más favorable para aumentar la tasa de multiplicación de *R. splendens*, la cual presentó un promedio de 2,6 microbulbillos en el medio testigo líquido, en cambio en medios sólidos fue de 1,9. La incorporación de citoquininas al medio de cultivo aumentó la tasa de multiplicación, observándose una mejor respuesta de la meta-topolina que del BAP, tanto en medios sólidos como líquidos, con una tasa de multiplicación promedio de 3,4 microbulbillos, sin embargo, esta respuesta no fue significativa, al igual que el estado del medio. Al analizar la interacción para las variables de calidad, solamente el peso de los microbulbillos se encuentra influenciado significativamente por los diferentes tratamientos, con los mayores valores para el medio sólido adicionado con meta-topolina en concentraciones de 2,2-6,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . En cuanto al calibre de los microbulbillos estos presentaron un rango

entre 0,19 y 0,37 cm. A pesar de que solamente se presentaron diferencias estadísticamente significativas para el peso de los microbulbillos, el comportamiento de las demás variables para algunos tratamientos fue más favorable en los medios adicionados con la citoquinina meta-topolina en medios líquidos.

## BIBLIOGRAFÍA

- ESCALONA, M.; CEJAS, I.; GONZÁLEZ-OLMEDO, J.; CAPOTE, I.; ROELS, S.; CAÑAL, M.J.; RODRÍGUEZ, R.; SANDOVAL, J.; DEBERGH, P. 2003. Efecto de meta-topolina sobre la propagación del plátano utilizando un biorreactor de inmersión temporal. *InfoMusa* 12: 28-30.
- JARA, G.; SEEMANN, P.; MUÑOZ, M.; RIEGEL, R.; SCHIAPACASSE, R.; PEÑAILLO, P.; VICO, V. 2004. Investigaciones preliminares realizadas en torno al establecimiento in vitro de especies chilenas de *Rhodophiala*. XIV Congreso Científico. INCA. Cuba.
- MOK, M.; MARTIN, R.; DOBREV, I.; VANKOVÁ, R. SHING HO, P.; YONEKURA-SAKAKIBARA, K.; SAKAKIBARA, H.; MOK, D. 2005. Topolins and hydroxylated thidiazuron derivatives are substrates of cytokinines O-glucosyltransferase with position specificity related to receptor recognition. *Plant Physiology* 137: 1057-1066.

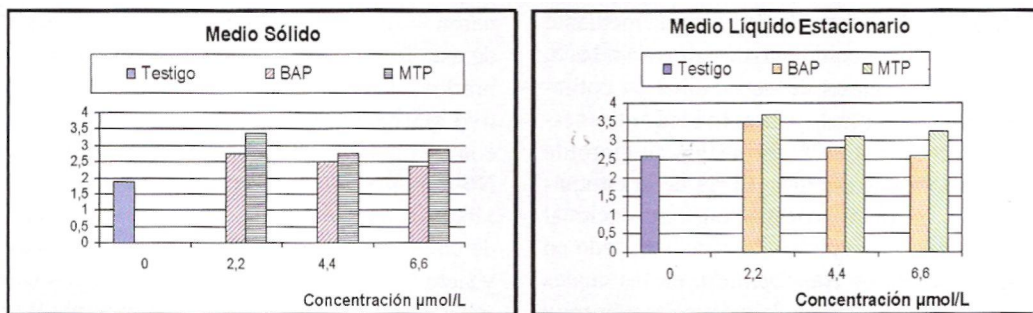


Figura 1. Efecto del BAP y MTP sobre la tasa de multiplicación promedio en *R. splendens*, cultivadas en medio MS sólido y líquido estacionario.

Figure 1. Effect of BAP and MTP on the average multiplication rate of *R. splendens* cultivated in solid and liquid MS-medium.