



Nova Scientia

E-ISSN: 2007-0705

nova_scientia@delasalle.edu.mx

Universidad De La Salle Bajío

México

Hernández-Mendoza, Fanny; Carrillo-Castañeda, Guillermo; Pedraza-Santos, Martha E.; De la Cruz-Torres, Eulogio; Mendoza-Castillo, Ma. del Carmen

Regeneración in vitro de brotes de Polianthes tuberosa L. a partir de yemas vegetativas de la inflorescencia y de tejido de cormo

Nova Scientia, vol. 7, núm. 13, 2014, pp. 32-47

Universidad De La Salle Bajío

León, Guanajuato, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203332667003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Revista Electrónica Nova Scientia

Regeneración *in vitro* de brotes de *Polianthes tuberosa* L. a partir de yemas vegetativas de la inflorescencia y de tejido de cormo
Regeneration *in vitro* of shoots *Polianthes tuberosa* L. through vegetative buds of the inflorescence and from tissue corm

Fanny Hernández-Mendoza¹, Guillermo Carrillo-Castañeda¹, Martha E. Pedraza-Santos², Eulogio de la Cruz-Torres³ y Ma. del Carmen Mendoza-Castillo¹

¹ Programa de Genética Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Estado México

² Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” UMSNH, Uruapan, Michoacán

³ Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares

México

Fanny Hernández-Mendoza. E-mail: hernandez.fanny@colpos.mx

Resumen

Polianthes tuberosa L. es una planta endémica de México, comercialmente se cultiva para flor de corte, y, además, es utilizada en la industria farmacéutica y del perfume. Tradicionalmente, los productores la propagan utilizando los cormos, lo que ha ocasionado que el cultivo presente poca variabilidad genética y posiblemente, por esta razón solo se conocen cultivares con flores blancas. Con base en lo anterior el objetivo de la presente investigación consistió en establecer la metodología práctica y competitiva para propagar *in vitro* *Polianthes tuberosa* L. Las yemas y pequeños segmentos de tejido de cormo fueron colocadas sobre la superficie del medio de cultivo, base GC (comunicación personal Guillermo Carrillo) con las sales inorgánicas del medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) por litro, 50 mL de agua de coco, 20 g de sacarosa, 6.4 g de agar y el pH fue ajustado a 5.7. Con este medio básico se prepararon medios de cultivo que contenían bencilaminopurina (BAP), ácido naftalenacético (ANA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido indolacético (AIA), y cinetina. La formación de brotes que dieron origen a las plántulas ocurrió mediante, la regeneración directa de la yema floral la cual al crecer forma sólo una plántula y a partir del tejido de la base de la yema, de esta región se obtuvieron hasta seis brotes por yema en el medio que contiene BAP, 4.5 mg y ANA, 0.1 mg, del cual la regeneración de brotes fue mayor (56.1 %). En el caso de cormo el problema fue la contaminación llegando en algunos casos hasta el 100 % de los cultivos. Es de resaltar la importancia de poder lograr la regeneración masiva *in vitro* de plantas de nardo a partir de yemas florales.

Palabras clave: Eficiencia de la regeneración, *in vitro*, contaminación, yema

Recepción: 08-10-2013

Aceptación: 09-07-2014

Abstract

Tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) is a plant endemic to Mexico, commercially grown for cut flower, and is also used in pharmaceutical and perfume industries. Traditionally, producers propagate this plant using corms, being this cause of the present little genetic variability in the crop and possibly for this reason only cultivars white flowers are known. The objective of this research was to develop a practical and economical method for the regeneration of plantlets from vegetative of the inflorescence and corm. Small buds and corm tissue segments were placed on the surface of the culture medium base GC (personal communication Guillermo Carrillo), containing inorganic salts of Murashige and Skoog (1962) and also having per liter 50 mL of coconut water, 20 g of sucrose, 6.4 g of agar, being the pH adjusted to 5.7. With this basic medium were prepared a series of culture media containing benzylaminopurine (BAP), naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), indole acetic acid (IAA), and kinetin. The shoot formation that gave rise to small plantlets occurred through the direct regeneration of the flower bud which to grow a plantlets arising only from base of the bud. From this region were obtained up to six buds in medium containing BAP, 4.5 mg and NAA, 0.1 mg, being the regeneration of buds higher (56.1%). Corm if the contamination problem was in some cases up to 100% of the cultures. It is important to highlight the importance of achieving massive regeneration *in vitro* tuberose plant from flower bud.

Keywords: Regeneration efficiency, *in vitro*, contamination, bud

Introducción:

Los métodos de micropropagación permiten la obtención de plantas genéticamente idénticas, obtención de plantas libres de patógenos, e incrementa los coeficientes de multiplicación de las vitroplantas, con el empleo en los medios de cultivo de hormonas del crecimiento vegetal (Castilla *et al.*, 2014).

La regeneración de plántulas por medio de las técnicas de cultivo de tejidos, permite el manejo de un gran número de individuos por lo que la propagación de los genotipos seleccionados se hace en un reducido espacio, bajo condiciones libres de patógenos y en un corto tiempo (Ahloowalia, 1995).

P. tuberosa L., endémica de México, comercialmente se cultiva como flor de corte, pero también es utilizada en la industria farmacéutica y del perfume (Sangavai y Chellapandi 2008). De manera práctica, los productores la propagan utilizando los cormos, lo que ha ocasionado que el cultivo presente poca variabilidad genética y actualmente solo se conocen cultivares con flores de color blanco. Existen pocos trabajos acerca de la propagación *in vitro* en esta especie siendo el cormo, la parte de la planta comúnmente utilizada en estas investigaciones porque la inducción *in vitro* y la regeneración de plantas se logra relativamente fácil (Muralidhar y Mehta, 1982, Bose *et al.*, 1987, Khan *et al.*, 2000, Nazneen *et al.*, 2003, Mishra *et al.*, 2006, Sangavai y Chellapandi, 2008, Gajbhiye *et al.*, 2011, Naz *et al.*, 2012) pero cuando es utilizado este órgano se presentan problemas de contaminación que pueden reducir drásticamente la eficiencia de este proceso. Actualmente existen pocos reportes específicos para la regeneración de plantas a partir de segmentos de ápices (Hutchinson *et al.*, 2004), hoja (Bindhani *et al.*, 2004, Beyrami *et al.*, (2008), raíz (Narayanswamy y Prabhudesai, 1979), botón floral (Kadam *et al.*, 2010) y anteras (Gi y Tsay, 1989) sin éxito o con escasos resultados.

Es factible obtener nuevas variedades de nardo con características sobresalientes si se aplican técnicas altamente eficientes y prácticas de propagación *in vitro*, la variación somaclonal ha sido una de las técnicas biotecnológicas que se ha empleado para el mejoramiento genético, debido a que constituye una forma rápida de generar variabilidad genética, conservación, rescate de embriones y la propagación masiva particularmente para cultivos con base genética estrecha y

que son difíciles de mejorar a través de técnicas tradicionales (Kessel, 2012). Con base en lo anterior el objetivo de la presente investigación consistió en establecer la metodología práctica y competitiva para propagar *in vitro* *Polianthes tuberosa* L.

Método

Localización del sitio experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular del IREGEP-Genética del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Material biológico

Yemas vegetativas de la vara floral de *Polianthes tuberosa* L. “Doble” fueron obtenidos de tallos florales provenientes de la Central de Abastos de la Ciudad de México, Delegación Iztapalapa y en el mercado local de Texcoco, Mpio. de Texcoco, Edo de México, mientras que los cormos de la selección San Andrés fueron obtenidos de la Facultad de agrobiología “Presidente Juárez” perteneciente a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Uruapan, Michoacán.

Medios de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo base GC (Guillermo Carrillo, comunicación personal) que contiene sales inorgánicas del medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) adicionadas con 50 mL L⁻¹ de agua de coco, 20 g de sacarosa y 6.4 g de agar (Merck®) con el pH ajustado a 5.7 con un potenciómetro Sargent-Welch modelo LS. Con este medio básico fueron preparados una serie de medios de cultivo que contenían BAP, ANA, 2,4-D, AIA y cinetina, según se describe en el Cuadro 1. Los medios fueron servidos (20 mL) en frascos de 100 mL de capacidad. La esterilización del medio se realizó en autoclave, durante 15 minutos y 1.05 kg/cm² de presión.

Cuadro 1. Concentración (mg L^{-1}) de reguladores de crecimiento (medio GC) empleados para la regeneración de *P. tuberosa* L.

Tratamiento	BAP	2,4-D	ANA	AIA	Cinetina	AIB
	mg	mg	mg	mg	mg	mg
1 2	2.00		0.50			
2 2	4.50		0.10			
4 2	1.25	0.12				
5 2	1.00		0.20			
6 2				4.00	2.60	
7 2 A	2.00		0.25			
7 2 B	1.00		0.50			
8 2 A	4.50		0.05			
8 2 B	2.25		0.10			

Bencilaminopurina (BAP), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido naftalenacético (ANA), ácido indolacético (AIA).

Establecimiento

Se escogieron yemas vegetativas de la inflorescencia y cormos de nardo sin daños mecánicos visibles, las yemas se obtuvieron realizando cortes transversales en los nudos, con un bisturí se retiró la hoja modificada (bráctea) que cubre la yema, posteriormente los extremos de los segmentos de la inflorescencia fueron sellados con parafina fundida (Figura 1). Este material se desinfectó superficialmente mediante un lavado con agua y detergente, para sumergirlos en alcohol 70 %, después en solución antibacterial (Lysol[®]) en agua destilada (13 mL L^{-1}) durante dos minutos en cada solución, finalmente se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio comercial al 50, 60 y 70 % para yemas y 70 % para cormo v/v (6 % de cloro activo) durante 15 minutos. Posteriormente, en campana de flujo laminar se retiró la solución de hipoclorito de sodio para enjuagar los explantes cuatro veces con agua destilada estéril.



Figura 1. Aspecto de una yema axilar de la inflorescencia de nardo (*P. tuberosa* L.)

Las yemas fueron cuidadosamente separadas del tallo, con la menor cantidad posible de tejido de tallo y colocadas (cuatro por frasco) sobre la superficie del medio de cultivo. Así mismo, pequeños segmentos de tejido de cormo 0.5 cm de longitud fueron colocados (cuatro por frasco) sobre la superficie del medio de cultivo.

Los explantes se incubaron a 26 - 29 °C de temperatura y fotoperiodo de 16 horas (luz blanca fría fluorescente de 75 W) y radiación fotosintéticamente activa de 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Cada mes los cultivos fueron evaluados y subcultivados en medio de cultivo fresco durante un periodo de cuatro meses.

Diseño experimental

Los frasco con explantes se distribuyeron bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento (9), a los 30 y hasta los 120 días después de la siembra se registraron las variables: contaminación, desarrollo de callo, desarrollo de brotes, promedio de brotes por cultivo, total de brotes, brotes con desarrollo de hojas y cultivos sin desarrollo.

Análisis estadístico

Un análisis de varianza para cada una de las variables registradas fue realizado con el paquete estadístico SAS (SAS, 2002) versión 9.0. Se utilizó el procedimiento ANOVA para el análisis de varianza y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para comparación de medias.

Resultados

Tipos de desarrollo en los cultivos

Cultivos con desarrollo de brotes y plántulas a partir de yemas vegetativas

La regeneración de brotes se logró al mes de establecidas las yemas vegetativas en los tratamientos 2 2, 8 2 A, 1 2 y 7 2 B (con un porcentaje de brotes de 56, 22, 17 y 17 %, respectivamente), en el tratamiento 2 2 se obtuvo más de un brote por yema (Cuadro 2, Figura 2).

Cuadro 2. Tipo de desarrollo observado en los cultivos generados a partir de explantes de yema de *P. tuberosa* L.

Tratamiento	% de explantes con brotes	Promedio de brotes por cultivo
1 2	16.7±0.7 bc	1.2
2 2	56.1±0.7 a	2.1
4 2	0.0±0.0 d	0.0
5 2	0.0±0.0 d	0.0
6 2	11.9±0.0 c	1.1
7 2 A	13.8±0.7 bc	1.0
7 2 B	16.7±0.7 bc	1.2
8 2 A	21.9±1.4 b	1.1
8 2 B	15.2±0.0 bc	1.0

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas $p \leq 0.05$ $n=36$.

El desarrollo de brotes que dieron origen a las pequeñas plántulas ocurrió mediante: a) el crecimiento directo de la yema la cual se expreso como una plántula (Figura 3) y b) a partir del tejido de la base de la yema, región que estaba en contacto con el medio de cultivo de donde se generaron plántulas (Figura 2). En el tratamiento 2 2, a partir del tejido de la base de la yema se obtuvieron hasta seis brotes en la última evaluación (120 días); al transcurrir cinco meses se generon más brotes, y otras ocho yemas produjeron cada una cuatro brotes, al ser cultivadas en el mismo tratamiento (Figura 3).

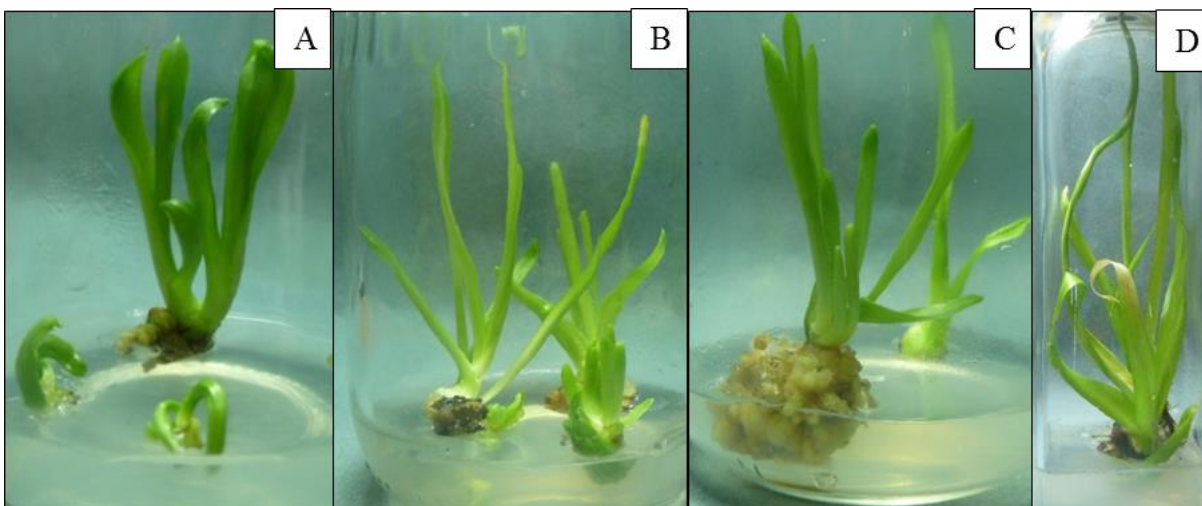


Figura 2. Brotes generados de la base de la yema vegetativa de *P. tuberosa* L. en el tratamiento 2 2 (4.5 mg L⁻¹ de BAP y 0.1 mg de ANA) a los dos A) y a los tres meses de cultivo con nuevos brotes B). Cultivos con estructuras de proembriones en la base de la yema a los tres meses de cultivo en el tratamiento 1 2 (2.0 mg L⁻¹ de BAP y 0.5 mg de ANA) C) y plántula con brotes nuevos generados directamente del tejido de la base de la plántula a los cuatro meses de cultivo en el tratamiento 1 2 D).

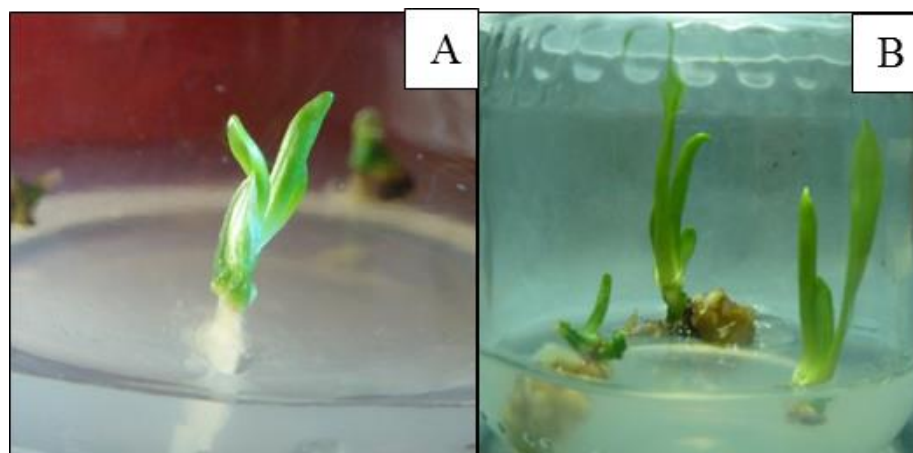


Figura 3. Aspecto de los brotes de *P. tuberosa* L. en el proceso de regeneración a partir de los cultivos de yema vegetativa de nardo en tratamiento 2 2 (4.5 mg L⁻¹ de BAP y 0.1 mg de ANA). Brotes generados directamente de la yema, de un mes A) y de dos meses de cultivo B).

Cultivos con desarrollo de callo

El desarrollo de callo en los cultivos de yemas vegetativas, fue aparente hasta los dos meses de establecidos los cultivos, se observó en todos los tratamientos pero en mayor proporción en los explantes cultivados en el tratamiento 4 2 (BAP 1.25 mg y 2,4-D 0.12 mg) y en el tratamiento 5 2 (42.4 % de los explantes) (BAP 1.0 mg y ANA 0.20 mg). (Cuadro 3). Los callos mostraron tonalidades de color verde, en los tratamientos (4 2 y 5 2) (Figura 3); sin que se lograra la regeneración de brotes.

La adición de 4.5 mg L⁻¹ de BAP con 0.1 mg L⁻¹ de ANA, promovió la formación de hojas (59.2 % brotes con desarrollo de hojas) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Respuesta de las yemas de *P. tuberosa* L. a los cuatro meses al ser cultivadas en el medio de cultivo GC con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento. Los datos se expresan en % y \pm desviación estándar.

Tratamiento	Contaminación (%)	Explantos Sin desarrollo	Explantos con desarrollo de callo	Brotes con desarrollo de hojas
1 2	34.0 \pm 0.0 a	63.6 \pm 1.4 b	19.7 \pm 2.1 b	12.5 \pm 0.7 b
2 2	34.0 \pm 1.4 a	31.8 \pm 2.1 d	12.1 \pm 1.4 bc	59.2 \pm 4.2 a
4 2	32.0 \pm 1.4 a	47.1 \pm 1.4 c	52.9 \pm 1.4 a	0.0 \pm 0.0 d
5 2	34.0 \pm 1.4 a	57.6 \pm 0.0 bc	42.4 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 d
6 2	33.0 \pm 2.1 a	82.1 \pm 0.7 a	6.0 \pm 0.0 c	3.7 \pm 0.7 c
7 2 A	35.0 \pm 0.7 a	69.2 \pm 0.7 b	16.9 \pm 0.7 bc	3.9 \pm 1.4 c
7 2 B	34.0 \pm 0.0 a	63.6 \pm 1.4 b	19.7 \pm 2.1 bc	13.9 \pm 0.7 c
8 2 A	36.0 \pm 1.4 a	62.5 \pm 1.4 bc	15.6 \pm 1.4 bc	11.8 \pm 1.4 b
8 2 B	34.0 \pm 0.0 a	66.7 \pm 0.0 b	18.2 \pm 0.0 bc	3.9 \pm 1.4 c

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas $p \leq 0.05$ $n=36$

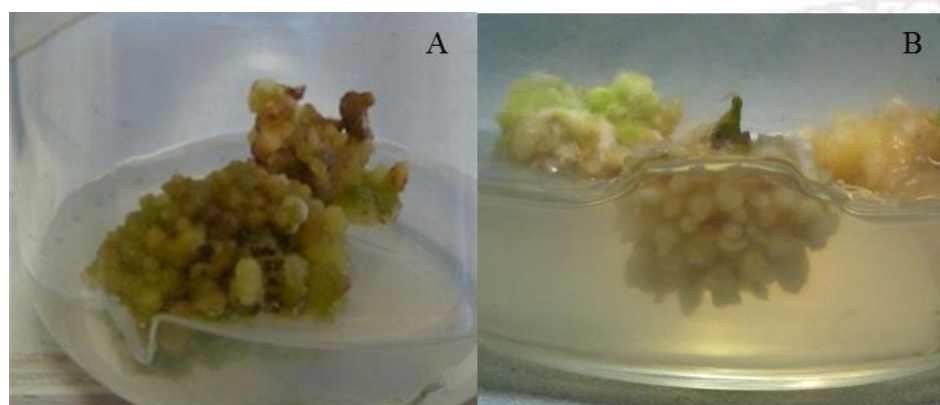


Figura 4. Aspecto del desarrollo de callos generados a partir de la base de la yema vegetativa de inflorescencia de *P. tuberosa* L. A) Tratamiento 4 2 (1.25 mg de 2,4-D con 0.12 mg de BAP) y B) Tratamiento 5 2 (1.0 mg de BAP y 0.2 mg de ANA).

Contaminación

Con la finalidad de reducir el problema de contaminación, las yemas fueron expuestas a las soluciones de 50, 60 y 70 % v/v de hipoclorito de sodio, en el proceso de desinfección, el mayor porcentaje de cultivos contaminados se presentó en las yemas tratadas con la solución de 50 %

hipoclorito y la menor contaminación en los cultivos de yemas tratadas con la solución de 70 % (Cuadro 4).

Cuadro 4. Contaminación observada en el cultivo *in vitro* a partir de yemas vegetativas de *P. tuberosa* L. al ser expuestos a las soluciones de hipoclorito de sodio indicadas. Los datos expresan % y \pm desviación estándar.

Hipoclorito de sodio (%)	Yemas contaminadas	Yemas sin contaminación
50	31.0 \pm 1.0	69 \pm 2.08
60	24.4 \pm 1.7	75.6 \pm 1.5
70	19.0 \pm 1.3	81.0 \pm 1.9

n= 12.

Cultivos desarrollados a partir de cormo

Hubo regeneración de brotes a partir de tejido de cormo en todos los tratamientos utilizados observando cambios a partir de una semana de establecidos. De acuerdo a las evaluaciones efectuadas desde un mes y hasta cuatro meses de cultivo, la regeneración promedio de brotes por explante se logró (1 brote) en los tratamientos 1 2 (BAP 2.0 mg y ANA 0.50 mg) y 8 2 A (BAP 4.50 mg y ANA 0.05 mg), (6 brotes) en el tratamiento 2 2 (BAP 4.50 mg y ANA 0.10 mg) (Figura 4) (Cuadro 5).

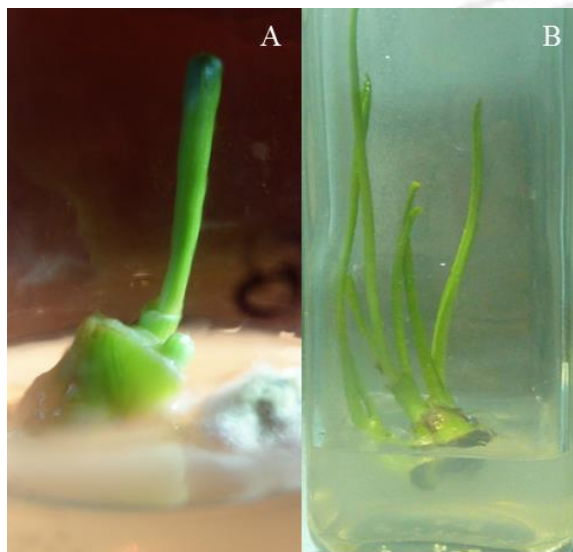


Figura 5. Aspecto de brotes de *P. tuberosa* L. a partir de cormo en el tratamiento 2 2 (BAP 4.50 y ANA 0.10 mg) A) De un mes de cultivo, a pesar de estar contaminado el cultivo. B) Plántula a los cinco meses de cultivo.

Cuadro 5. Porcentaje de contaminación, promedio de brotes y número de brotes obtenidos en cormos de *P. tuberosa* L. bajo diferentes niveles de reguladores de crecimiento *in vitro*.

Tratamiento	Contaminación (%)	Promedio de brotes por cultivo	Total de brotes
1 2	90	1.0	3
2 2	90	2.0	6
4 2	100	0.0	0
5 2	90	1.5	5
6 2	100	0.0	0
7 2 A	100	0.0	0
7 2 B	100	0.0	0
8 2 A	90	1.0	3
8 2 B	100	0.0	0

n=36

Discusión

Esta investigación se llevó a cabo para generar plantas de nardo a partir de las yemas vegetativas de la vara floral y de tejido de cormo. La regeneración de plantas a partir de yemas de la inflorescencia de la planta de nardo, con mayor respuesta en presencia de los reguladores de crecimiento BAP 4.5 mg y ANA 0.1 mg. En estas condiciones se han logrado regenerar un total de 139 brotes en seis tratamientos (1 2, 2 2, 7 2 A, 7 2 B, 8 2 A y 8 2 B) que contienen BAP y ANA, las cuales están en fase de aclimatación. Marulanda-Ángel *et al.* (2011) lograron regenerar brotes de *Heliconia bihai* (L) a partir de meristemos florales en el medio MS que contenía BAP (6 mg) y en un subcultivo posterior en presencia de 2 mg de BAP, y de 0.5 mg de AIA pero, la regeneración de brotes no se logró en medios que contenían concentraciones de BAP entre 0.5 y 4.5 mg, en contraste con los resultados de esta investigación se logró la regeneración de brotes al adicionar BAP entre 1.0 y 4.5 mg.

En esta investigación, el mayor porcentaje de brotes se observó en medios con contenidos relativamente altos de BAP y bajos de la auxina ANA. En un estudio que se ha realizado recientemente Naz *et al.* (2012), consideran que el regulador de crecimiento BAP es importante en la propagación y multiplicación masiva *in vitro* de *P. tuberosa* L, en este estudio el número de brotes producidos por explante fue mayor en medio que contiene 2,5 mg L⁻¹ BAP en combinación con 0,5 mg L⁻¹ de NAA y 0,1 mg L⁻¹ de Kin (5 ± 0,42 brotes por explante).

Otro aspecto importante de esta investigación radica en haber demostrado que la regeneración de plántulas se lleva a cabo mediante dos procesos biológicos diferentes: la transformación o desarrollo directo de la yema en plántula y por el proceso de diferenciación del tejido de la base de la yema en plántula.

La mayor regeneración de brotes (6 brotes por explante) se obtuvo en el tratamiento 2 2 con el proceso de diferenciación del tejido de la base de la yema a un cuando el mayor número de cultivos que respondieron fue directamente de la yema, en el mismo tratamiento (2 2), en contraste Kadam *et al.* (2010) en India, lograron la regeneración de brotes a partir de tépalos (4.0 brotes por explante) así como de botón floral (4.33 brotes por explante) en el medio MS que contenía BAP, 6.0 mg; ANA, 0.5 mg; 2,4 D, 0.7 mg y TDZ, 0.5 mg, con mayor número de reguladores de crecimiento, lo cual implica mayor costo para la regeneración de plántulas.

En comparación se puede citar el caso de la propagación de plantas a partir de yemas de la inflorescencia de la orquídea *Phalaenopsis* (David y Bala 2012), en donde en la base del pedúnculo no existen, rudimentos visibles de yemas, en la región media, se encuentran las yemas vegetativas con cierto grado de turgencia de las cuales es factible regenerar plantas y, hacia la región apical, las yemas reproductivas generan las flores. Se consideran que este mismo fenómeno se presentó al utilizar la inflorescencia de nardo para obtener plántulas.

Con respecto al callo en explantes de yema se logro el mayor porcentaje (52.9) con el tratamiento 4 1 (BAP 1.25 mg y 2,4-D 0.12 mg L⁻¹) resultados que cotrastan con Otsuji *et al.* (1994) quienes generaron cultivos de callo a partir de segmentos de tejido de tépalo, en cultivos en suspensión en un medio MS con 2,4-D, (2.61 y 2.25 mg) para la obtención de polisacáridos de nardo y con Sangavai y Chellapandi (2008) que lograron el desarrollo de callo en cultivos de tejido de cormo (37.8 %), en el medio MS que contenía BAP, 0.5 mg y AIA, 3.0 mg.

La regeneración de plántulas a partir de cormo se obtuvo en todos los medios probados esto puede deberse que este órgano contenga hormonas, lo que coincide con Panigrahi y Saiyad

(2013) ellos lograron la regeneración de brotes a partir de cormos de *P. tuberosa* L. variedad *Calcutta Single* (3.5 ± 0.2) en el medio MS que contenía BAP y cinetina 0.2 mg.

A la fecha, se tienen detectados aspectos del procedimiento que deben modificarse para incrementar notablemente la eficiencia del método de propagación como: a) El estudio de proporciones de los reguladores de crecimiento BAP y ANA en el medio de cultivo para conocer con precisión la condición experimental óptima para la regeneración masiva de plantas de manera económica y segura. b) Determinar la potencialidad de las yemas en este proceso, de acuerdo a su posición en la vara floral. c) Investigar la embriogénesis somática y en qué condiciones se presenta (yemas a diferente distancia de la vara floral). Es importante resaltar que se utilizó el tejido de cormo en esta investigación para demostrar fundamentalmente dos aspectos importantes de esta tecnología. 1. El grave problema de contaminación, que reduce drásticamente la eficiencia del método y, en este caso se espera encontrar el sistema de desinfección apropiado para hacer competitivo esta forma de producción de planta de nardo. 2. Demostrar la facilidad del proceso de propagación. La yema vegetativa es un órgano de la planta más limpio y libre de microorganismos por lo que el problema a corregir respecto a la contaminación fue relativamente más sencillo y se demostró que sometiendo a las yemas a una soluciones de hipoclorito de sodio comercial al 70 % la contaminación se redujo al 81 % de yemas sin contaminación, en contraste al reducir la solución de hipoclorito de sodio comercial al 50 % (69 % de yemas sin contaminación). El cultivo de nardo es el producto de clones con características bien definidas y muy estables, ya que el método de propagación que llevan a cabo los productores es la propagación vegetativa, prácticamente en ausencia de recombinación genética, por lo que este cultivo al ser atacado por algún agente biótico o abiótico adverso tiene mayores posibilidades de ser destruido. De lo anterior se deduce la importancia de la propagación masiva de plantas de nardo libres de patógenos.

Conclusiones

La concentración de 4.5 mg de BAP con 0.1 mg de ANA presentó la mejor respuesta a la regeneración de plántulas en yemas vegetativas de nardo.

Los brotes de nardo derivados a partir de cormos presentan un buen desarrollo sin importar la concentración de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo.

Agradecimientos

El autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo de la beca concedida (424576) que permitió, en parte, la realización de esta investigación.

Referencias

- Ahloowalia, B. (1995). Induced mutation and molecular techniques for crop improvement (*in vitro* mutagenesis for the improvement of vegetatively propagated plants) IAEA. Austria. 531-541.
- Beyrami, Z. E, P. Azadi, A. Safari, M. R. Shafii, S. Sadeqi. (2008). Study on somoclonal variation in *Polianthes tuberosa in vitro* culture. The National Ornamental Plant Research Station, Mahallat (Iran) 30724: 102.
- Bindhani, B. K.; A. K. Dalal, y B. Behara. (2004). Role of auxins for callus induction and chromosomal variation in *Polianthes tuberosa* L. 'Single'. International journal of Genetics and plant Breeding 64 (2): 173-174.
- Bose, T. K.; B. K. Jana, y S. Moulik. (1987). A note on the micropropagation of tuberose from scale stems section. Indian Journal of Horticultura 44: 100-101.
- Castilla, V. Y; M. E. V. González, y R. M. R. Lara. (2014). Determinación de estabilidad genética en vitroplantas de clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.), micropropagadas con Biobras-16. Cultivos tropicales 35 (1): 67-74.
- David, R. y M. Bala. (2012). Preliminary results on the influence of growth hormones on the *in vitro* regeneration of *Phalaenopsis* flower stalks. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology 16 (4): 24-27.
- Gajbhiye, S. S.; M. K. Tripathi; M. S. Vidya; M. Singh, B. S. Baghel, y S. Tiwari. (2011). Direct shoot organogenesis from cultured stem disc explants of tuberose (*Polianthes tuberosa* Linn.). Journal of Agricultural Technology 7(3): 695-709.
- Gi, H. S. and H. S. Tsay. (1989). Anther culture and somaclonal variation of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). Journal of Agricultural Research China 38: 346-352.
- Hutchinson, M. J.; R. Onamu, y S. Obukosia. (2004). Extracellular polysaccharides produced by tuberose callus. Phytochemistry 41 (6): 1517-1521.
- Kadam, G. B.; K. P. Singh; A. K. Singh, y R. Jyothi. (2010). *In vitro* regeneration of tuberose through petals and immature flower buds. Indian Journal of Horticulture 67 (1):73-75

Regeneración *in vitro* de brotes de *Polianthes tuberosa* L. a partir de yemas vegetativas de la inflorescencia y de tejido de cormo

- Kessel, D. A. (2012). Revisión bibliográfica Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), a través de métodos biotecnológicos. Cultivos Tropicales 33 (3): 34-41.
- Khan, N. H.; N. Zaidi; S. Jabeen; J. Iqbal. (2000). Micropropagation potential of *Polianthes tuberosa* L bulbs, scales and leaves. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Rensearch 43 (2): 118-122.
- Marulanda-Ángel, M. L; L. Isaza-Valencia, y L. M. Londoño-Giraldo. (2011). Propagación *in vitro* de *Heliconia bihai* (L.) cv. Lobster Salmón a partir de meristemos florales. Acta Agronômica 60 (2): 132-139.
- Mishra, A.; R. K. Pandey, and R. K. Gupta. (2006). Micropropagation of tuberose (*Polianthus tuberosa* L.) cv. Calcattia double. Progressive Horticulture 37: 226-236.
- Muralidhar, C.E. and A. R. Mehta. (1982). Clonal propagation of three ornamental plants. In: Plant Tissue Culture. Jap. Assoc. Plant Tissue Culture Tokyo 693-694 pp.
- Murashige, T. and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. Physiologi Plantarum 15: 473-497.
- Narayanswamy, S. and V. R. Prabhudesai. (1979). Somatic pseudoembryogeny in tissue cultures of tuberose (*Polianthes tuberosa*). Indian Journal of Experimental Biology, 17: 873-875.
- Naz, S.; F. Aslam; S. Ilyas, K. Shahzadi y A. Tariq. (2012). *In vitro* propagation of tuberose (*Polianthes tuberosa*). Journal of Medicinal Plants Research 6 (24): 4107-4112.
- Nazneen, S; M. Jabeen, e I. Ilahi. (2003). Micropropagation of *Polianthes tuberosa* through callus formation. Pak. J. Bot., 35 (1): 17-25.
- Otsuji, K.; Y. Honda; Y. Sugimura y A Takei. (1994). Production of polysaccharides in liquid cultures of *Polianthes tuberosa* cells. Biotechnology Letters 16 (9): 943-948.
- Panigrahi, J. y M. S. L. Saiyad. (2013). *In vitro* propagation of *Polianthes tuberosa* L. cultivars (Calcutta single). International Journal of Plant, Animal and Enviromental Sciences 3 (3): 76-79.
- Sangavai, C. and P. Chellapandi. (2008). *In vitro* propagation of a tuberose plant (*Polianthes tuberosa* L.). Electronic Journal of Biology 4 (3): 98-101.
- Statistical Analysis System. (2002) Institute Inc. SAS/STAT. User's Guide. Versión 9.0. Cary, N. C.