

**Regeneración de plantas de "aguaí"
(*Chrysophyllum gonocarpum*, Sapotaceae)
por cultivo *in vitro* de segmentos nodales***
(Con 9 figuras)

SM Bertuzzi¹ y LA Mroginski²

Resumen. Fueron cultivados *in vitro* segmentos nodales de aguaí (*Chrysophyllum gonocarpum*) de: a) árboles adultos (5 y 15 años de edad); b) brotes epicórmicos de tallos leñosos de árboles de 15 años de edad obtenidos mediante brotación forzada en una cámara con alta humedad y c) plantas de 1 año de edad.

En todos los explantes cultivados en medio MS – Murashige y Skoog (1962) – con 0,7% de agar, hubo regeneración de vástagos, pero únicamente enraizaron los de plantas jóvenes (1 año de edad); el mejor medio para el enraizamiento de vástagos fue MS diluido a ¼ + IBA 1mg/L.

Abstract. Nodal sections of *Chrysophyllum gonocarpum* were cultured *in vitro* in order to establish micropropagation systems. Three sources of explants were tested: a) adult trees (5 and 15 years old), b) epicormic shoots obtained by sprouting of woody shoots of 15 year-old trees in a high humidity chamber, and c) 1 year old plants.

Although shoots were readily obtained in all explants cultured in MS – Murashige & Skoog (1962) medium – plus 0,7% agar, rooting of shoots was only observed in explants from 1 year old trees, the best medium for rooting of shoots was MS at ¼ strength + 1mg/L IBA.

Key words: micropropagation; *Chrysophyllum gonocarpum*; Sapotaceae; tissue culture

El "aguaí", *Chrysophyllum gonocarpum* (Sapotaceae) es un árbol de 4-20 metros de altura, de amplia distribución en Brasil, Ar-

*Trabajo realizado en el Instituto de Botánica del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, C.C. 209, (3400) Corrientes (Argentina)

e-mail: ibone@espacio.com.ar

¹Prof. Adjunta de Fruticultura, Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE)

²Prof. Titular de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) y miembro de la Carrera de Investigador Científico del CONICET (Rep. Argentina)

Este trabajo fue parcialmente subsidiado por el CONICET y por la SGCyT (UNNE)

Recibido 30.IX.1999; aceptado 20.X.99

gentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay. En la Argentina está presente en las selvas subtropicales de Salta, Jujuy, Misiones, E del Chaco y N de Corrientes. Su madera es de muy buena calidad y en Corrientes es económicamente importante porque con sus frutos se fabrica un apreciable dulce regional (4, 8, 13).

La propagación del aguái —una especie dioica— se hace usualmente por semillas lo que trae aparejadas considerable heterogeneidad y productividad variable. La propagación vegetativa de árboles selectos puede contribuir a solucionar este problema. En la literatura no hay referencia alguna sobre la propagación del aguái mediante técnicas convencionales (estacas, injertos, acodos) ni mediante el cultivo de tejidos.

Este trabajo informa sobre los resultados obtenidos con el cultivo *in vitro* de segmentos nodales de “aguái” de diferentes edades y acerca de un procedimiento de regeneración de plantas a partir de ejemplares de un año de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se trabajó con *Chrysophyllum gonocarpum* (Mart. Et Eichler) Engler. Los cultivos se realizaron en dos épocas del año: otoño-invierno y primavera-verano. Se cultivaron segmentos nodales (porciones de tallo de brotes del año conteniendo 1 ó 2 yemas axilares) extraídas de: a) árboles adultos de 5 y de 15 años de edad; b) brotes epicórmicos de tallos leñosos de árboles de 15 años de edad obtenidos mediante brotación forzada en una cámara con alta humedad (Fig. 1); c) plantas de 1 año de edad.

Desinfección de los explantes. Los explantes fueron desinfectados por inmersión en etanol 70% (2min), luego en 2,4% de NaOCl (30 min) y, finalmente enjuagados (3 veces) con agua destilada estéril.

Medio de cultivo. Los explantes fueron cultivados en tubos de vidrio de 45 cm³ con 15 cm³ de medio. Cada tratamiento consistió de 10 tubos y los experimentos fueron repetidos por lo menos tres veces. Salvo indicación en contrario, se utilizó las sales minerales; vitaminas y 3% de sacarosa recomendadas por Murashige & Skoog (9) [en adelante MS]. En un experimento con explantes de 1 año de edad se ensayó el efecto del medio MS diluido a 1/2, 1/4 y 1/8 (17) con 3% de sacarosa (1/2MS, 1/4MS y 1/8MS, respectivamente). En otro experimento MS fue suplementado con sacarosa al 1, 3, 5 y 7%. El pH de los medios fue ajustado antes del agregado del agar (0,7%) a 5,8 con KOH y/o HCl. Los medios contenidos en los tubos obturados con papel de aluminio fueron esterilizados en autoclave a 1 atm de presión durante 20 min.

Incubación de los cultivos. Los explantes cultivados (1 explante/tubo) fueron incubados en un cuarto climatizado a 27 ± 2 °C,

14 hs de fotoperíodo (con una intensidad lumínica de 10 W/m² provista por lámparas fluorescentes).

Enraizamiento. Con el objeto de inducir su enraizamiento los vástagos regenerados de plantas de 1 año de edad fueron cultivados en medios con MS ó ¼ MS (ambos con 3% de sacarosa) suplementados con IBA (ácido indolbutírico), 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), AIA (ácido 3-indolacético) ó ANA (ácido naftalenacético).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de 4-5 semanas de cultivo se pudieron visualizar: a) explantes brotados; b) explantes contaminados con bacterias y/o hongos y; c) explantes ennegrecidos. La época del año y la edad de la plan-



Fig. 1.- Brotes de tallos leñosos de árboles de 15 años de edad obtenidos mediante brotación forzada en una cámara húmeda. La barra vertical indica 1 cm.



Fig. 3.- Regeneración de un vástago de "aguai" mediante el cultivo *in vitro* de segmentos nodales. La barra vertical indica 1 cm.

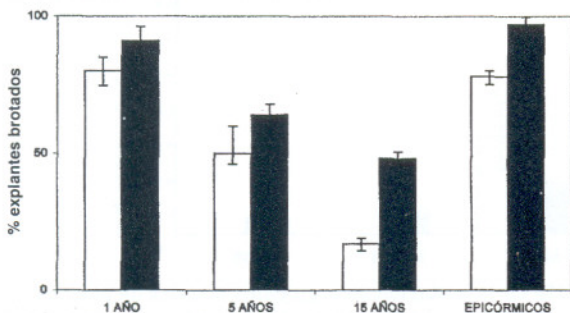


Fig. 2.- Efecto de la época de cultivo (□:otoño-invierno ■: primavera-verano) y de la edad de las plantas madres sobre la brotación de los explantes cultivados *in vitro*. Las barras verticales indican la desviación estándar.

ta dadora, influyeron marcadamente en el porcentaje de segmentos nodales brotados (Fig. 2). Los mayores valores se obtuvieron en primavera-verano y en plantas jóvenes o con brotes epicórmicos; los vástagos formados tenían un vigoroso crecimiento (Fig. 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la mayoría de las especies leñosas donde se insiste en la necesidad de utilizar, como fuente de explantes, individuos jóvenes o rejuvenecidos (1, 12, 14). Al igual que en otras leñosas (2), los mayores porcentajes de contaminación con bacterias y hongos se produjeron cuando los dadores fueron árboles adultos y cuando los cultivos se establecían en otoño-invierno; por el contrario, el porcentaje de explantes ennegrecidos fue bajo y nunca superó el 5% (datos no mostrados). En esto el comportamiento de los

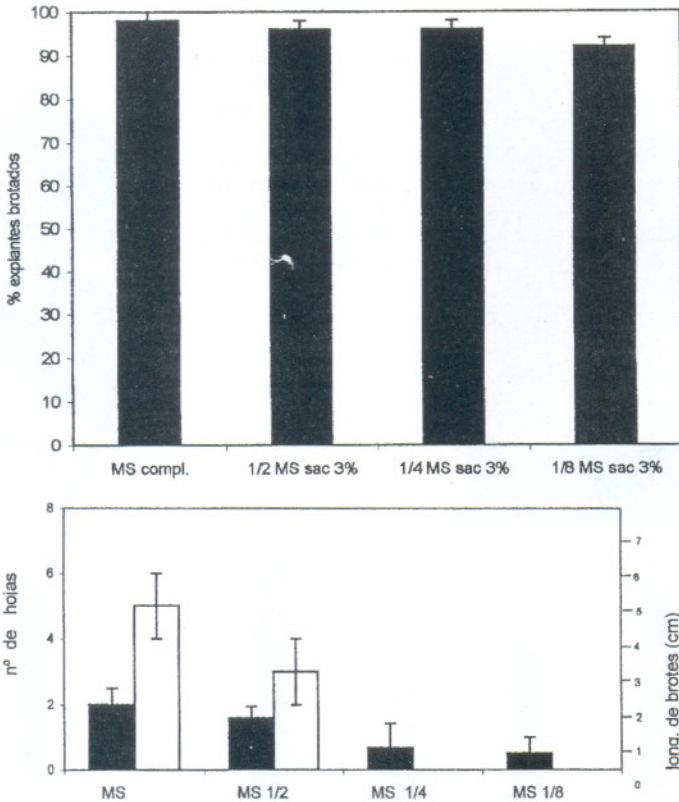


Fig. 4.- Efecto de la dilución del MS en la brotación de segmentos nodales de plantas de "aguai" (1 año de edad) cultivados *in vitro*. Las barras verticales indican la desviación estándar.

Fig. 5.- Regeneración de vástagos de "aguai" mediante el cultivo *in vitro* de segmentos nodales. Efecto de la dilución del MS en la longitud de los vástagos y en el número de hojas desplegadas (□). Las barras verticales indican la desviación estándar.

explantes del aguaí difiere de lo que generalmente se informa para plantas leñosas tropicales (3).

El porcentaje de brotación no varió significativamente con las diluciones del MS (Fig. 4), la longitud de los vástagos y el número de hojas fue mayor en el medio MS completo que en el diluido (Fig. 5). Estos resultados se apartan de los obtenidos en la mayoría de las especies leñosas, donde se suelen utilizar medios con concentración salina más baja que las del MS (1).

El amplio rango de concentraciones de sacarosa tampoco afectó mayormente el porcentaje de segmentos nodales brotados (Fig. 6), pero sí la longitud de los vástagos y el número de hojas (Fig. 7). Con 5 y 7% de sacarosa, las hojas fueron más pequeñas y hubo un mayor porcentaje de abscisión.

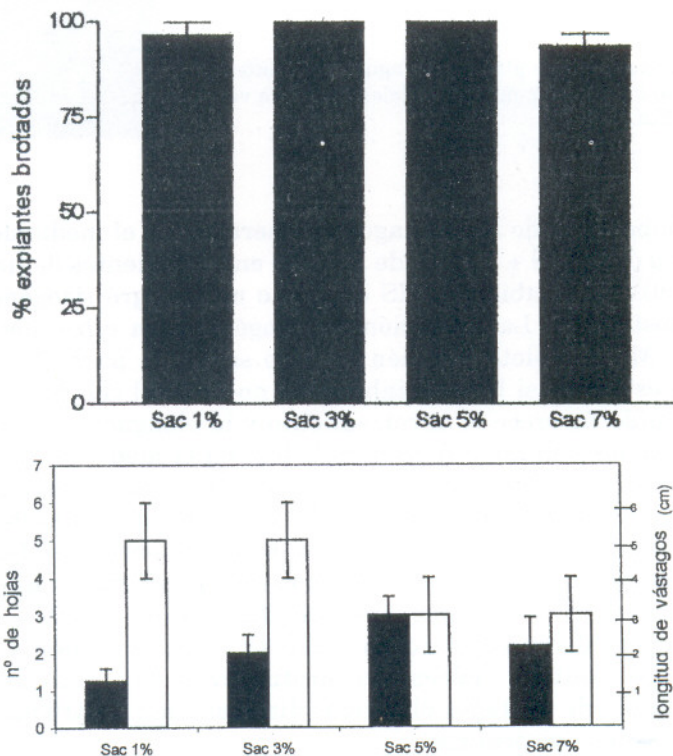


Fig. 6.- Efecto de 4 concentraciones de sacarosa en MS sobre la brotación de segmentos uninodales de "aguaí". Las barras verticales indican la desviación estándar.

Fig. 7.- Regeneración de vástagos de "aguaí" mediante el cultivo *in vitro* de segmentos nodales. Efecto de 4 concentraciones de sacarosa sobre la longitud de los vástagos (■) y sobre el número de hojas (□). Las barras verticales indican la desviación estándar.

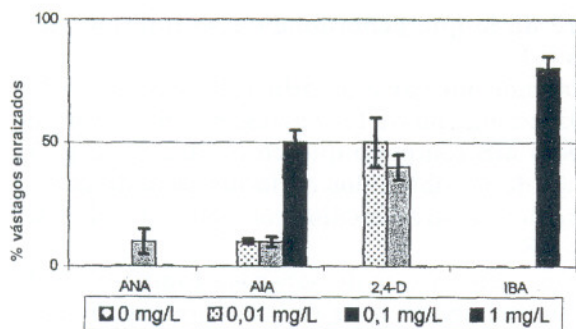
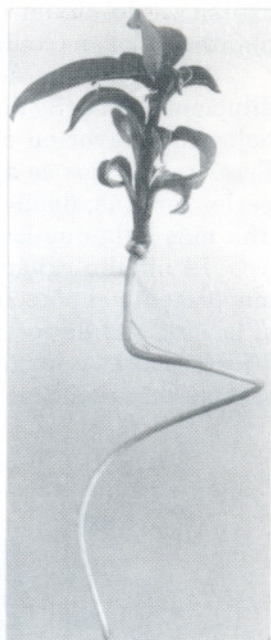


Fig. 8.- Efecto de 4 auxinas en el enraizamiento de los vástagos de "aguaí" regenerados por cultivo *in vitro* de segmentos nodales de plantas de 1 año de edad. Las barras verticales indican la desviación estándar.

Fig. 9.- Regeneración de plantas de "aguaí" mediante el cultivo *in vitro* de segmentos nodales. La barra vertical indica 1 cm.



El subcultivo de los vástagos regenerados en el medio de cultivo compuesto de $\frac{1}{4}$ MS + 1 mg/L de IBA dio enraizamientos de hasta 80% (Figs. 8, 9). En cambio con MS completo no se logró rizogénesis (datos no mostrados). La inhibición de rizogénesis *in vitro* mediante el empleo de MS completo también ha sido señalada para el café (6). En otras especies, si bien la inhibición no es total con MS completo, el MS diluido favorece el enraizamiento y la elongación de las raíces (5). Resultados similares fueron hallados con el medio de De Fossard (11), pero otros trabajos muestran que el efecto de la reducción salina sobre el enraizamiento depende del medio basal utilizado (5, 10) o bien, que la dilución al 50% del MS, si bien aumenta el sistema radical por favorecer la elongación de las raíces, no afecta su número (7). Estos efectos de la composición de los medios basales sobre el enraizamiento de vástagos regenerados *in vitro*, no tienen aún explicación. Es también necesario profundizar los estudios sobre enraizamiento de vástagos obtenidos directamente de árboles adultos o de sus brotes epicórmicos.

En conclusión, este trabajo muestra que es factible la regeneración *in vitro* de plantas enteras de aguaí mediante el siguiente procedimiento:

1) desinfección de los segmentos nodales extraídos de plantas de 1 año de edad mediante inmersión en etanol 70% (2 min) seguida de NaOCl al 2,4% (30 min).

2) Cultivo de los segmentos nodales en MS.

3) Enraizamiento de los vástagos obtenidos en $\frac{1}{4}$ MS + 1 mg/L IBA.

REFERENCIAS

1. Aitken J, M Connett, *In Kurate K, T Kozai*, eds. Trasplant Production System. (1992), p 163
2. Cassells AC, *In Debergh PC, RH Zimmerman*, eds, Micropropagation Kluwer Acad Publ, Dordrecht, The Netherlands (1991), p 31
3. Compton ME, JE Preece, *Newsletter IAPTC* (1986) 9
4. Cronquist A, *Bull Torrey Bot Club* 7 (1946) 286
5. Dimassi-Therieu K, *J Hort Sci* 70 (1995) 105
6. Kartha KK, LA Mroginski, K Pahl, NL Leung, *Plant Sci Lett* 22 (1981) 301
7. Karhu ST, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 48 (1997) 153
8. Meyer T, *Rev Agron Noroeste Argen* 2 (1957) 261
9. Murashige T, F Skoog, *Physiol Plant* 15 (1962) 473
10. Orlikowska T, *Biol Plant* 34 (1992) 45
11. Taji A, R Williams, *Plant Tissue Cult & Biotechn* 2 (1996) 202
12. Thorpe TA, IS Harry, PP Kuniav, in Debergh PC, RH Zimmerman, eds, Micropropagation. Kluwer Acad Publi, Dordrecht, The Netherlands (1991), p 311
13. Tressens S, *In: Flora Fanerogámica Argentina. Fasc. 30. Pro Flora. CONICET, Argentina* (1996), pp 1
14. von Arnold S, *Newsletter IAPTC* 56 (1988) 2