

39  
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

CULTIVO IN VITRO DE 4 ESPECIES DEL GENERO  
Dracaena MEDIANTE SEGMENTOS NODALES  
Y YEMAS AXILARES.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**INGENIERO (A) AGRICOLA**  
**P R E S E N T A N**  
**MA. NIEVES TRUJILLO TAPIA**  
**EUSTACIO RAMIREZ FUENTES**

ASESOR: DR. HECTOR GONZALEZ ROSAS

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1995

FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAINE KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Cultivo in vitro de 4 especies del género Dracaena  
mediante segmentos nodales y yemas axilares "

que presenta la pasante: Ma. Nieves Trujillo Tapia  
con número de cuenta: 8228443-1 para obtener el TÍTULO de:  
Ingeniera Agrícola ; en colaboración con :  
Eustacio Ramírez Fuentes.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente; otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de abril de 1995

PRESIDENTE	<u>Dr. Hector González Rosas</u>	
VOCAL	<u>Ing. Francisco Cruz Pizarro</u>	
SECRETARIO	<u>Biol. Elva Martínez Holguín</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Ing. Roberto Guerrero Agama</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Ing. Guillermo Basante Butrón</u>	

UAE/DEF/VAP/02

FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN N. A. M.  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR FACULTAD DE ESTUDIOS  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE  
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Cultivo in vitro de 4 especies del género *Dracaena*  
mediante segmentos nodales y yemas axilares"

que presenta el pasante: Eustacio Ramfres Fuentes  
con número de cuenta: 8207484-3 para obtener el TITULO de:  
Ingeniero Agrícola ; en colaboración con :  
Ma. Nieves Trujillo-Lopia

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de abril de 1995

PRESIDENTE Dr. Héctor González Rosas

VOCAL Ing. Francisco Cruz Pizarro

SECRETARIO Biol. Elva Martínez Holguín

PRIMER SUPLENTE Ing. Roberto Guerrero Agaña

SEGUNDO SUPLENTE Ing. Guillermo Basante Butrón

*[Handwritten signatures and dates]*  
27/03/95

UAE/DEF/VAF/02

FALLA DE ORIGEN

**"Sembrar la tierra con semillas de conciencia  
para cosechar nuevas sociedades"**

**Ing. Agrícola**

#### AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser la Institución en donde nos formamos como profesionistas.

Al Dr. Héctor Gonzalez Rosas, por su confianza, su amistad y su gran enseñanza sobre la vida.

Al Biologo Alejandro Ramos Villaseñor, por su apoyo brindado en la realización del presente trabajo.

Al Jurado que participó en la mejor presentación del trabajo.

**DEDICATORIAS.**

**A mis padres. Por enseñarme el camino de la vida. GRACIAS**

**A mi esposo. Por darme el mejor apoyo que necesito para  
continuar. SU AMOR**

**A mis hijos. Isabelita y Pablito.  
Dos luceros que iluminan mi vida y me  
inyectan energía para seguir luchando por  
ellos.**

**A Pedro Trujillo. Por enseñarme que el éxito sólo se  
consigue con disciplina y tenacidad. Gracias  
por su cordialidad.**

**A Barbarita. Por su apoyo y su amor incondicional.**

**A la Familia Ramírez Fuentes.**

**Por su amistad brindada. Gracias**

#### DEDICATORIAS.

A mi padre Eustacio Ramirez Becerra, quien siempre me dió la confianza para terminar mi carrera y el cual desearía se encontrara en estos momentos conmigo.

A Barbarita ( mi madre) por ser la persona más incondicional que con su apoyo y cariño nos impulsa a ser mejores.

A mi compañera Nieves, por todo lo que significa en mi vida y deseando que siempre sigamos caminando juntos.

A dos pequeñitos que han representado lo más hermoso de mi vida, a mis hijos Ana Isabel y Pablo Eustacio.

A mis hermanos (as): Martha, Isabel, Cristina, Antonio, Marisa, Soledad, Jacinto, Barbara, Patricia, Jorge y Gabriela; a ellos (as) con mucho cariño y agradecimiento por ayudarme a crecer.

A mis sobrinos (as): Isabel, Martha, Marcela, Daniel Antonio, Aura, Paco, Priscila, Augusto, Jose Antonio, Carolina, Barbarita, Joel, Cristinita, Paulina, Jamid, Lorelain, y Magdala; deseando dejar un ejemplo positivo en ellos.

A mi Mamalin por su cariño que siempre nos ha brindado.

A mis cuñados (as): Jesus, Angel, Patricia, Francisco, Luis Miguel, Elba, Joel, Lorenzo y Andres; con respeto.

A los compañeros y amigos por brindarme su amistad.

CONTENIDO.

INDICE DE CUADROS . . . . .	I
INDICE DE FIGURAS . . . . .	II
RESUMEN . . . . .	III
I. INTRODUCCIÓN . . . . .	1
2. OBJETIVOS . . . . .	4
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA . . . . .	5
3.1. <i>Dracaena</i> sp. . . . .	5
3.1.1. Habitat y distribución geográfica. . . . .	5
3.1.2. Descripción botánica. . . . .	5
3.2. Multiplicación asexual. . . . .	8
3.2.1. Generalidades de la multiplicación asexual. . . . .	8
3.2.2. Métodos convencionales de propagación de las <i>Dracaenas</i> . . . . .	10
3.3. Cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	11
3.3.1. Generalidades del cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	11
3.3.2. Factores que intervienen en el cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	14
3.3.2.1. Selección del inóculo. . . . .	14
3.3.2.2. Medio de cultivo. . . . .	17
3.3.2.3. Reguladores de crecimiento. . . . .	19
3.3.2.4. Condiciones de cultivo. . . . .	28
3.3.3. Mecanismos de morfogénesis y organogénesis. . . . .	30
3.3.4. Técnicas del cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	32
3.3.4.1. Método de segmentos nodales. . . . .	34
3.3.4.2. Método de yemas axilares. . . . .	35

4. MATERIALES Y MÉTODOS . . . . .	37
4.1. Material biológico. . . . .	37
4.2. Establecimiento del cultivo aséptico (Fase I). . . . .	37
4.2.1. Obtención del inóculo. . . . .	37
4.2.2. Desinfección y siembra. . . . .	38
4.2.3. Medio de cultivo. . . . .	39
4.2.4. Establecimiento del inóculo. . . . .	41
4.3. Multiplicación del inóculo (Fase II). . . . .	42
4.4. Enraizamiento de los brotes (Fase III). . . . .	42
4.5. Establecimiento en suelo. . . . .	43
4.6. Análisis estadístico. . . . .	43
4.6.1. Toma de datos . . . . .	43
4.6.2. Diseño experimental . . . . .	44
5. RESULTADOS. . . . .	45
5.1. Establecimiento del inóculo (Fase I). . . . .	45
5.2. Multiplicación del inóculo (Fase II). . . . .	48
5.2.1. Longitud de brotes. . . . .	60
5.3. Enraizamiento de las plántulas (Fase III). . . . .	68
5.4. Establecimiento en suelo. . . . .	68
6. DISCUSIÓN . . . . .	70
7. CONCLUSIONES . . . . .	75
8. BIBLIOGRAFÍA . . . . .	76

INDICE DE CUADROS.

CUADRO		PÁGINA
1	Medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962), soluciones concentradas.	40
2	Combinación de ANA/BA (mg l <sup>-1</sup> ) adicionado al medio MS en la fase de establecimiento	41
3	Efecto Hormonal en la producción de brotes de <i>D. deremensis</i> y <i>D. sanderiana</i>	51
4	Producción de brotes en inóculo de <i>D. marginata</i> var. "tricolor" cultivada en BA/ANA.	54
5	Respuesta del inóculo de <i>D. marginata</i> var. "tricolor" cultivado en cinetina.	54
6	Efecto hormonal en la producción de brotes en <i>D. fragans</i> .	58
7	Efecto de ANA y BA en la longitud de brote de <i>D. deremensis</i> y <i>D. sanderiana</i>	60
8	Efecto de ANA/BA en la longitud de brotes de <i>D. marginata</i> var. "tricolor"	62
9	Longitud de brote de inóculo cultivado en Cinetina de <i>D. marginata</i> var. "tricolor"	64
10	Longitud de brote de inóculo de <i>D. fragans</i> cultivadas en ANA y BA.	66

INDICE DE FIGURAS.

FIGURA		PÁGINA
A	Tallo mostrando la yema axilar que sirvió como inóculo.	49
B	Proliferación del inóculo.	49
1	Gráfica del Efecto Hormonal en la producción de brotes de <i>D. deremensis</i> y <i>D. sanderiana</i> .	52
2	Gráfica de la Producción de brotes en inóculo de <i>D. marginata</i> var. "tricolor" cultivada en BA/ANA.	55
3	Gráfica de la Respuesta del inóculo de <i>D. marginata</i> var. "tricolor" cultivado en cinetina.	56
4	Gráfica del Efecto hormonal en la producción de brotes en <i>D. fragans</i> .	59
5	Gráfica del Efecto de ANA y BA en la longitud de brote de <i>D. deremensis</i> y <i>D. sanderiana</i> .	61
6	Gráfica del Efecto de ANA/BA en la longitud de brotes de <i>D. marginata</i> var. "tricolor".	63
7	Gráfica de la Longitud de brote de inóculo cultivado en Cinetina de <i>D. marginata</i> var. "tricolor".	65
8	Gráfica de la Longitud de brote de inóculo de <i>D. fragans</i> cultivadas en ANA y BA.	67
C	Enraizamiento de plántula de <i>D. marginata</i> var. tricolor.	69
D	Plántula de <i>D. deremensis</i> establecida en suelo.	69

---

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue investigar la capacidad de 4 especies del género Dracaena para ser propagadas in vitro, y de manera específica, establecer la mejor condicional hormonal para inducir la brotación múltiple y el enraizamiento.

Por lo anterior, se utilizaron plantas de invernadero de 4 especies: D. deremensis var. "warneekki", D. sanderiana, D. marginata var. "tricolor" y D. fragans.

Para la fase de establecimiento aséptico, el tallo fue cortado en segmentos de 10 cm, los cuales se lavaron con detergente y agua corriente de la llave. Los trozos fueron sumergidos en alcohol al 70%, durante 30 segundos, posteriormente se enjugaron con agua destilada, en seguida dentro de la cámara de flujo laminar los trozos se sumergieron en hipoclorito de sodio y agua en una relación de 3:1 y 2 gotas de tween 20 durante 15 minutos, finalmente se dieron 3 enjuagues con agua destilada esterilizada a 3 tiempos (5, 10 y 15 minutos). Una vez realizada la desinfección, los trozos de tallo fueron seccionados en rodajas de aproximadamente 0.5 cm.

---

---

Las especies de *D. fragans* y *D. deremensis* var. "warneekki" fueron sumergidas en una solución de ácido ascórbico y ácido cítrico a una concentración de 150 mg/l para evitar la oxidación del tejido.

La siembra se realizó en frascos "gerber" conteniendo 20 ml de medio de cultivo. En cada frasco se depositaron de 3 a 4 segmentos de tallo. El medio contenía las sales minerales de Murashige y Skoog (1962), adicionado con 2 ml/l de Glicina, 10 ml/l de Mio-inositol, 5 ml/l de Ac. nicotínico, 5 ml/l de Piridoxina-HCL, 4 ml/l de Tiamina-HCL, 30 g/l de Sacarosa y 7.5 g/l de Agar. El pH utilizado fue de 5.7 +/- 0.1. Los frascos conteniendo los inóculos se colocaron en un cuarto de incubación a una temperatura de 25 +/- 2°C y con una intensidad lumínica de 3000 lux proporcionada por lámparas de luz blanca fluorescente por 16 hrs.

En la fase de establecimiento se adiciona al medio la combinación de los reguladores de crecimiento de ANA+BA ; ANA+BA+ Agua de coco; ANA+K y ANA+K+ Agua de coco para cada especie.

La multiplicación se realizó en diferentes concentraciones de ANA+BA y ANA+k. Los inóculos se obtuvieron de los brotes obtenidos en la fase de establecimiento.

---

---

El enraizamiento se indujo en brotes de 1.5 cm o más y se transfirieron a medio nutritivo conteniendo ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) sin citocinina.

Las plantas enraizadas se sumergieron en una solución de agua y captan (1.0 gl<sup>-1</sup>) y se plantaron en una mezcla de tierra de monte y hojarasca en vasos de unicel cubiertos con una bolsa de plástico.

Los mejores resultados se presentaron al emplear la benciadenina (BA) en combinación con ácido naftalenacético (ANA) para la formación y longitud de brotes. Dicha hormona se comportó de mejor manera que la cinetina. El nivel endógeno de auxina presentado en el inóculo resultó ser suficiente para inducir la rizogénesis, excepto para *D. marginata* var. "tricolor", la cual si necesitó la adición de auxina para su enraizamiento.

En conclusión, si es posible la obtención de plantas del género *Dracaena* por cultivo in vitro a partir de segmentos nodales y yemas axilares.

---

## I. INTRODUCCIÓN

El origen de la industria de las plantas de follaje es poco clara en cuanto a que inicialmente la mayoría de las plantas utilizadas en interiores eran recolectadas y no existía una industria comercial organizada.

La definición más cercana para las plantas de follaje es: cualquier planta cultivada primeramente por su follaje y utilizada para la decoración de interiores o con propósitos de paisaje interior, esto sin considerar que pueda tener flores, aspecto secundario siempre y cuando se comprenda que el follaje es su principal atractivo.

Debido al desarrollo acelerado que existe en el campo florícola, las necesidades actuales de aumentar los volúmenes de producción y calidad, el mejoramiento genético, conservación de especies, la creación de nuevas variedades, resistencia a enfermedades entre otras; son condiciones primordiales para poder competir con el mercado de E.U. y Canadá.

---

La mayoría de las plantas de follaje son relativamente fáciles de propagar y los productores están interesados en las prácticas que controlan calidad, porcentajes y velocidad de enraizamiento.

Existen plantas ornamentales que son muy cotizadas en el mercado por su elegancia y resistencia a climas de interiores; por lo cual el género Dracaena es uno de los más apreciados, dado a que soporta bajas intensidades de luz, bajos requerimientos de agua, conservando sus características de crecimiento y elegancia.

Los métodos de propagación utilizados para plantas de follaje incluyen esquejes, semillas, acodos, esporas, división y cultivo de tejidos. El método de propagación vía cultivo de tejidos, es un procedimiento viable para reducir tiempo de producción, aumentando la cantidad de plantas producidas por individuo y certificando la calidad de la producción.

## 2. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene los objetivos siguientes:

### OBJETIVO GENERAL

Investigar la capacidad de 4 especies del género Dracaena para ser propagadas in vitro.

### OBJETIVO ESPECÍFICO

Establecer la condicional hormonal para inducir la brotación múltiple y el enraizamiento.

### HIPÓTESIS

- == La adición de las citocininas permite la brotación múltiple.
- == La eliminación de la yema apical en un racimo de brotes estimula la brotación múltiple.
- == El uso de auxinas en el medio de cultivo puede estimular el enraizamiento.

---

### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Dracaena sp.

##### 3.1.1. Habitat y distribución geográfica.

El género Dracaena abarca unas 20 especies de las zonas tropicales y subtropicales, desde las islas Canarias hasta Australia pasando por Africa y Asia.

##### 3.1.2. Descripción botánica.

Las Dracaenas son monocotiledóneas y pertenecen a la familia de las liliáceas.

Los troncos de las formas leñosas llegan a medir hasta 20 metros en sus lugares de origen; no forman estolones. Las hojas son lanceoladas y según la especie, crecen rígidas hasta arriba o cuelgan en arco; pueden ser verdes o abigarradas, también existen especies con hojas "normales" que forman arbustos muy ramificados. Es frecuente confundir el género Dracaena con Cordyline, pero aunque están estrechamente emparentados se distinguen con facilidad, observando en Cordyline sus raíces blancas con tubérculos almacenadores, mientras que las Dracaenas tienen color amarillo anaranjado. (Jiri, 1988; Schubert, 1980).

---

La disposición a florecer en el género *Dracaena* es muy variable; por lo general sólo florecen los ejemplares viejos. La inflorescencia es una umbela o una panícula poco densa con flores blancas o blancas verdosas. El pedúnculo floral aparece junto al centro de crecimiento, por lo que estas plantas no mueren tras la floración. (Schubert, 1980).

El género *Dracaena* comprende muchas especies y cultivares los cuales son valiosos y populares como plantas ornamentales de interior; son tolerantes a las bajas intensidades de luz y poseen una atractiva roseta terminal densa de hojas con franjas. (Plumridge, 1976).

*Dracaena deremensis*, es la dracaena de Derema, de la región africana oriental de Usambara, prácticamente ya no se cultiva, en cambio son apreciadas sus dos variedades de hojas abigarradas, *Bausei* y *Warneekii*. (bandas blancas). Crece hasta 1.20 m, y sus hojas abren hasta 40 cm. Estas miden de largo hasta 40 cm por 6 cm de ancho y tienen la parte central dos tiras blancas que vienen desde el tallo hasta la punta de las hojas. Necesitan luz indirecta y prefieren temperaturas más bien cálida.

---

### 3. Revisión bibliográfica.

***Dracaena fragans***, es una planta con tronco que se desarrolla mejor en invierno cálido; si se le cuida adecuadamente puede vivir como ornamental de interiores; sus hojas anchas, incluso muy anchas de 50-70 cm de longitud cuelgan formando amplios arcos. Los ejemplares viejos desarrollan flores deliciosamente perfumadas y se considera que la variedad "Rotania" es la mejor dracaena de interiores; no exige demasiada luz; sus hojas tienen 70-80 cm de longitud por unos 7 cm de anchura; son coriáceas, de color verde oscuro con borde blanco; a intervalos irregulares de tiempo producen maravillosas flores. (Kramer, 1992; Jiri, 1988; Schubert, 1980).

***Dracaena marginata***, de Madagascar, tiene unas hojas especialmente estrechas, con nervios pardos rojizos, de hasta 30-40 cm de largo; la planta alcanza una altura de hasta 2 m. La variedad más apreciada en el mercado es la "tricolor". (Kramer, 1992; Jiri, 1988; Schubert, 1980).

***Dracaena marginata* "tricolor"**, es una planta arcoíris, popular para interior porque es tolerante a las bajas intensidades de luz y de una atractiva roseta terminal densa de hojas con franjas blanco-cremoso entre verde y rojo-rosado en sus márgenes. Este cultivar se encontró en Japón y fue propagado en Puerto Rico y Florida e introducido como cultivo comercial a los Estados Unidos en 1973. (Chua, 1981).

---

La más pequeña y elegante Dracaena de interior, planta de invernadero cálido procedente del Congo se llama Dracaena ganderiana; con su hermoso follaje abigarrado en blanco, se adapta aún a las grandes ventanas tropicales. (Kramer, 1992; Jiri, 1988; Schubert, 1980).

### 3.2. Multiplicación asexual.

#### 3.2.1. Generalidades de la multiplicación asexual.

La propagación asexual consiste en la reproducción de individuos a partir de porciones vegetativas de las plantas (tallos, hojas, raíces, entre otras). Tiene por objeto reproducir exactamente las características de la variedad en todas sus partes (Hartman, 1984; Tamaro, 1979).

La multiplicación asexual que también podemos llamar vegetativa se puede realizar por medio de estacas, injertos, vástagos, acodos, bulbos, tubérculos, cormos, raíces tuberosas y rizomas. (Pidi, 1981; Hartman, 1984).

La propagación asexual reproduce clones. Esa propagación implica la división mitótica de las células en la cual, de ordinario, hay una duplicación íntegra del sistema cromosómico y del citoplasma asociada de la célula progenitora, para formar dos células hijas. En consecuencia,

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

las plantas propagadas vegetativamente reproducen, por medio de réplica del DNA toda la información genética de la planta progenitora. El proceso de reproducción asexual tiene importancia especial en horticultura, por que la composición genética (genotipo) de la mayoría de los cultivares, de los frutales y de las plantas ornamentales más valiosas, es sumamente heterocigota y las características que distinguen a esos tipos se pierden de inmediato al propagarlos por semilla. (Hartman, 1984).

Se pueden tener plantas nuevas partiendo de una sola célula. Cualquier célula viva de una planta tiene toda la información genética necesaria para regenerar al organismo completo. (Hartman, 1984).

En los últimos años las técnicas de multiplicación se han perfeccionado mucho, haciendo posible progresos inimaginables hasta hace poco tiempo. Mientras que el lugar para la multiplicación hasta ayer era exclusivamente el vivero y el semillero, hoy se practica más y más en laboratorio. (Pidi, 1981).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

### 3.2.2. Métodos convencionales de propagación de las Dracaenas.

La propagación por esquejes es uno de los métodos más populares y tradicionales para propagar dracaenas; y puede ser también por: rizomas, esquejes terminales, yemas sencillas y dobles o tallo. (Larson, 1988; Guevara, 1987)

La mayor parte del material vegetativo propagado es importado de Centro y Sudamérica o Africa, donde las plantas madres son cultivadas. Anteriormente el productor podía obtenerlos de las plantas que estaban por salir al mercado, pero recientemente los nuevos cultivares ya no presentan un rizoma vigoroso, trayendo consigo que el material disminuya en calidad y cantidad. (Guevara, 1992; Debergh, 1990).

Por otro lado se tiene, problemas fitosanitarios al momento de sembrar el material, pues el rizoma es atacado por un complejo de patógenos, lo cual ocasiona grandes pérdidas. (Kagiwata, 1988; citado por Duran, 1993).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

### 3.3. Cultivo in vitro.

#### 3.3.1 Generalidades del cultivo in vitro.

Desde hace 120 años aproximadamente, en la investigación de fisiología vegetal se ha utilizado la técnica del cultivo de tejidos; ésta se define como el cultivo sobre un medio nutritivo, en condiciones estériles, de plantas, semillas, embriones, órganos, explantos, tejidos, células y protoplastos de plantas superiores. (Pierik, 1990; Street, 1977).

En la propagación in vitro de las plantas se llevan a cabo los procedimientos siguientes:

= Fase 0. Establecimiento del cultivo aséptico, mediante el pre-tratamiento correcto del material vegetativo inicial, manteniendo las plantas libres de enfermedades.

= Fase 1. En ellas se realiza el aislamiento estéril de los explantos. En ésta fase se requiere sólo una condición importante: llevar a cabo un crecimiento y desarrollo sin contaminación.

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

= Fase 2. Es la etapa de multiplicación; el objetivo en ella es conseguir la propagación sin perder la estabilidad genética.

= Fase 3. La transferencia de brotes a medio de cultivo en condiciones para la inducción y el alargamiento de la raíz, preparando las plántulas para su transferencia a suelo.

= Fase 4. Es la pre-adaptación de las plantas obtenidas in vitro desde el tubo de ensaye al suelo antes de su establecimiento. Generalmente durante ésta fase pasan las plantas del estado heterótrofo al estado autótrofo. (Pierik, 1990; Yeoman, 1986; Agricultura de las Américas, 1985).

Murashige (1978), menciona tres categorías generales del cultivo de tejidos vegetales relacionados a actividades agrícolas: a) es importante en los programas de mejoramiento genético, porque acelera la disponibilidad de nuevas variedades, además de ser útil en la conservación de germoplasma; b) se utiliza en la obtención de plantas libres de enfermedades; y c) permite incrementar notablemente el intervalo de multiplicación de cultivares. (Duran, 1993)

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

El uso extendido del clonado in vitro es un buen indicador de sus ventajas: (Pierik, 1975; Van Assche, 1983; Gebkard et al, 1983; Kuneman-Kooij, 1984; citados por Pierik, 1990).

1. La multiplicación in vitro es más rápida que la multiplicación in vivo.

2. A veces es posible propagar especies in vitro, que no pueden ser propagadas in vivo.

3. El crecimiento de las plantas propagadas in vitro es frecuentemente más vigoroso que el de las clonadas in vivo.

4. Utilizando el cultivo in vitro es posible conseguir una multiplicación libre de enfermedades.

5. Ya que se necesita una cantidad de material relativamente pequeña para iniciar un cultivo in vitro, se puede realizar una cuidadosa selección del mismo antes de iniciar el cultivo.

6. La propagación in vitro implica que las plantas son cultivadas con su propio sistema radical, haciendo, por tanto, innecesario el injerto, y ahorrando una gran cantidad de trabajo.

### 3.3.2. Factores que intervienen en el cultivo in vitro.

#### 3.3.2.1 Selección del inóculo.

La teoría celular de Schman y Schleiden (1838-1839) en la cual la célula se describe como la unidad biológica más pequeña a la que se puede considerar totipotente, ha sido respaldada por el cultivo de tejidos: una célula aislada es capaz de transformarse en una planta completa. (Pierik, 1990).

El cultivo in vitro de plantas es realizado partiendo de fragmentos tomados del vegetal completo. Estos pedazos de tejido que se usan son llamados comúnmente explantes. La parte de la planta de la cual son obtenidos van a depender de:

1. El tipo de cultivo que se va a iniciar.
2. El propósito del cultivo.
3. La especie vegetal que se utilice. (Guevara, 1987).

Para seleccionar un explante adecuado se deben considerar los aspectos siguientes:

#### a. Genotipo

Las dicotiledóneas generalmente se regeneran mejor que las monocotiledóneas. Existen grandes diferencias en cuanto a la capacidad de división celular y regeneración, entre plantas de una misma especie. A veces existen profundas diferencias entre la capacidad regenerativa *in vivo* e *in vitro*. (Pierik, 1990).

#### b. Edad de la planta

Conforme una planta envejece, su capacidad regenerativa suele disminuir, y por eso se tiende a utilizar material procedente de plantas juveniles, mejor que de plantas adultas, especialmente en el caso de árboles y arbustos. (Pierik, 1990; Yeoman, 1986).

#### c. Edad del órgano o tejido

Los tejidos jóvenes, no lignificados, por lo general son más apropiados para el cultivo *in vitro*. Conforme envejece el órgano, a partir de que se toma el explante, el número de divisiones celulares y la capacidad de regeneración disminuye. (Pierik, 1990; Conger, 1987).

---

#### d. Estado fisiológico

Este tiene un fuerte efecto sobre la división celular y la regeneración *in vitro*. En general los fragmentos de plantas en estado vegetativo, regeneran *in vitro* con más facilidad que los fragmentos de plantas en estado generativo. Las yemas que se encuentran todavía en estado de reposo son más difíciles de cultivar *in vitro* que las que proceden de plantas que ya no están durmientes. (Pierik, 1990).

#### e. Estado sanitario

Existen más probabilidades de éxito en el cultivo *in vitro* si la planta está libre de patógenos en el momento del aislamiento. (Pierik, 1990).

#### f. Posición del inóculo dentro de la planta

Merece la pena destacar, que callos originados de explantos procedentes de diferentes parte de la planta, como raíces, vástagos, peciolos, entre otras, pueden reaccionar de forma idéntica a sus órganos originarios cuando se cultivan *in vitro*. (Barker, 1969; citado por Pierik, 1990).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

#### g. Tamaño del explanto

En términos generales se puede decir que es mucho más difícil el crecimiento en estructuras muy pequeñas como células, agregados de células y meristemos, que en estructuras más grandes, como explantos de hoja, tallo o tubérculo. Cada fracción aislada de una planta tiene su propia porción de reservas y hormonas, y es obvio que cuanto mayor sea el fragmento vegetal, más fácil es inducir el crecimiento y su regeneración. (Pierik, 1990; Conger, 1987).

#### 3.3.2.2. Medio de cultivo.

El éxito que se obtenga en un cultivo de tejidos vegetales, depende del uso del medio nutritivo adecuado, como también del empleo de tejidos viables, incubación, calidad de reactivos, por mencionar algunos. Usando las sustancias químicas necesarias y las combinaciones apropiadas de nutrientes, ha sido posible establecer cultivos para casi todas las partes de una planta en diversas especies vegetales. (Hurtado, 1991; Conger, 1987).

---

Los nutrimentos son esenciales para el desarrollo de la planta. Sin agua ni nutrimentos minerales una planta no puede vivir in vitro o in vivo. También se deben añadir azúcares al medio de cultivo, ya que las plantas no son completamente autotróficas cuando se desarrollan en éstas condiciones. (Pierik, 1990; Conger, 1987; Yeoman, 1986).

Los minerales constituyen el grupo más importante de sustancias nutritivas en el cultivo in vitro. Generalmente se utilizan soluciones madre concentradas para la preparación de los medios nutritivos, aunque a veces se puede disponer de soluciones preparadas para su uso inmediato. (Pierik, 1990).

La fórmula de Murashige y Skoog (1962), es la más empleada, pues se ha demostrado que es el medio adecuado para una gran variedad de especies, así como para diferentes partes de una planta. Esta fórmula contiene grandes cantidades de macronutrientes; también contiene una alta concentración de nitrógeno en forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$ . (Hurtado, 1991; Conger, 1987; Yeoman, 1986).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

El azúcar es un componente muy importante en cualquier medio nutritivo y es esencial para el crecimiento y desarrollo in vitro, ya que el crecimiento tiene lugar en condiciones poco apropiadas para la fotosíntesis o incluso en la oscuridad. La sacarosa es la fuente de carbono más frecuentemente utilizada en concentración de 1 a 5 %, ya que éste azúcar se sintetiza y se transporta en forma natural por las plantas. (Hurtado, 1991; Pierik, 1990; Conger, 1987).

La única vitamina que ha demostrado tener importancia en cultivos de células y órganos es la tiamina. Muchas preparaciones de composición indefinida han sido empleadas para enriquecer los medios de cultivo, ejemplo de éstas preparaciones son: leche de coco, jugo de tomate, puré de plátano, entre otras. (Hurtado, 1991; Conger, 1987).

#### 3.3.2.3. Reguladores de crecimiento.

El crecimiento en las plantas, es un proceso dinámico complejo y que está rigurosamente controlado, en el que los reguladores del crecimiento vegetal (RCV), juegan un papel principal en el control del crecimiento, no únicamente dentro de las plantas como un universo, sino también a nivel de órgano, tejido y célula. (Wareing y Phillips, 1973; mencionadó por Hurtado, 1991).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

En el cultivo in vitro de las plantas superiores, los reguladores, especialmente las auxinas y citoquininas, juegan un papel muy importante. Se puede decir que el cultivo in vitro, es generalmente imposible sin reguladores. (Pierik 1990).

Las hormonas son, por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores, que influyen sobre el crecimiento y desarrollo; actúan generalmente en lugar diferente a donde son producidos y se encuentran presentes y activas en muy pocas cantidades. (Pierik, 1990).

Actualmente se reconocen cinco tipos básicos de sistemas químicos de reguladores de crecimiento vegetal, dividido en tres grupos vegetales : Leopold y Kriedmann 1975; citado por Hurtado, 1991).

- a) Promotores del crecimiento: auxinas, citocininas y giberelinas.
- b) Inhibidores del crecimiento: ácido abscísico.
- c) Etileno.

---

### 3. Revisión bibliográfica.

En la actualidad existe evidencia para postular dos hechos básicos sobre la acción fundamental de las fitohormonas: 1) Las fitohormonas no actúan directamente a nivel del organismo sino de célula, p.e. sobre la mitosis, el alargamiento celular, etc., de modo que sus efectos se hacen sentir en todos los fenómenos fisiológicos que se basen en los procesos citológicos afectados. 2) La acción básica de las hormonas ocurre sobre los ácidos nucleicos a nivel de la transcripción del mensaje (ADN-ARN) o de su traducción (ARN-aminoácido). (Rojas, 1987).

Los procesos del desarrollo descansan sobre fenómenos celulares que es donde actúan las hormonas y en cierta forma todos los procesos del desarrollo están influenciados, en diverso modo e intensidad, por todas las hormonas de la planta. (Rojas, 1987).

En general los fenómenos controlados por las hormonas vegetales son muchísimos. Tizio (1980), citado por Rojas, (1987) los ha clasificado en: 1) De correlación, como multiplicación y alargamiento celular, dominancia apical, actividad de las yemas, abscisión de órganos, letargo. 2) De sensibilidad o movimiento, como los tropismos y nastias. 3) De reproducción como floración, polinización y desarrollo del fruto.

---

### 3. Revisión bibliográfica.

### Auxinas.

La fitohormona químicamente corresponde al ácido indol-3-acético y es bajo esta forma que manifiesta su actividad (Grajales, 1985).

La auxina se sintetiza principalmente en el ápice del tallo y ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes y en general en los meristemas. El IAA es transportado como IAA-inositol principalmente. El transporte de las auxinas endógenas es basipétalo, por el floema con los productos sintetizados. Así, el lugar donde va a actuar se desliga y pasa a auxina libre que se adhiere a la proteína receptora para efectuar su acción. Cuando se sintetiza en el ápice de la raíz tiene transporte acropétalo. (Grajales, 1985 ; Rojas, 1987).

Aunque su biosíntesis es ubicuota (a través de toda la planta), se ha detectado que las enzimas para la conversión de triptofano hacia IAA, la mayor actividad se localiza en las regiones de gran actividad metabólica, como son meristemas, hojas en expansión y frutos. (Grajales, 1985).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

El movimiento polar de las auxinas está muy relacionado con ciertas respuestas de la planta, tales como: dominancia apical, activación cambial e inducción de raíces en plantas jóvenes. (Grajales, 1985).

Las principales funciones de las auxinas son: alargamiento celular y expansión de los tejidos, división celular (formación de callo), y formación de raíces adventicias; inhibición de la formación de vástagos axilares y adventicios, y frecuentemente embriogénesis en los cultivos en suspensión. (Vidaile, 1986 ; Pierik, 1990).

Las auxinas, en interacción con otras hormonas, ejercen un efecto característico sobre la diferenciación celular, promoviendo la formación de órganos adventicios. se dice que promueven además una desdiferenciación celular retornando las células a una fisiología de meristemo, tomando diversos caminos de rediferenciación o formando masas de células indiferenciadas, verdaderos tumores que desorganizan la anatomía de los órganos, pudiendo causar la muerte como sucede con los herbicidas auxínicos. Como algo concomitante al efecto sobre el alargamiento, división y diferenciación celular se tiene la acción de la auxina sobre la dominancia apical y los tropismos. (Rojas, 1987).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

El mecanismo de acción de las auxinas es básicamente el siguiente:

A) Todas las respuestas fisiológicas inducidas por las auxinas requiere de la presencia constante de la hormona.

B) Las auxinas son activas a bajas concentraciones.

C) Es necesaria la síntesis continua de ARN y de proteínas para las respuestas de elongación celular que ocurre en lapsos de varias horas. La habilidad de las auxinas para mejorar el tiempo de elongación celular depende de la síntesis de novo de ARN y proteínas (Fase G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> del ciclo celular).

D) Algunas de las respuestas de las auxinas ocurren aparentemente muy rápido para que este involucrada la activación genética (no activa en la fase S del ciclo celular) como en la elongación en secciones de tallo. (Grajales, 1985).

---

## CITOCININAS

El nombre genérico de las citocininas es empleado para aquellas sustancias químicas que pueden estimular principalmente la división celular o citocinesis, son derivados de la adenina. (Grajales, 1985).

Se caracterizan por su capacidad de intervenir junto con el IAA en la activación de la división celular en cultivo de células vegetales empleando medios artificiales (in vitro) y especialmente por su propiedad de influir en la diferenciación tisular. (Gil, 1977; citado por Armenta, 1989).

Las citocininas se sintetizan principalmente en la raíz, y su presencia en las yemas del tallo, donde tienen efecto hormonal. (Friedrich et al, 1971), puede ser por transporte de la raíz, pero hay informes de su síntesis en las hojas. Por tener adenina en su molécula, se cree que provenga parcialmente de productos de hidrólisis, de fracciones de ácidos nucleicos; en el callo de tabaco se ha visto que otra fracción proviene del isopentenil fosfato. (Cheu, 1982; citado por Rojas, 1987).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

Para que las citocininas ejerzan sus efectos fisiológicos en forma óptima éstas deberán acompañarse de las auxinas. En ausencia de citocininas, la síntesis de ADN continua mientras se encuentren las auxinas, sin embargo, las células no alcanzan a dividirse. Las citocininas son requeridas por algún proceso que ocurre después de la replicación completa del ADN (Fase S) y antes de que la mitosis empiece realmente. Este proceso puede ser la producción de proteínas requeridas para la división celular, así como la réplica del ARN (Fase G<sub>2</sub> del ciclo celular). (Grajales, 1985).

Aún cuando todas las hormonas activan la división celular, lo hacen indirectamente como efecto de la activación metabólica; la citocininas son, típicamente las "hormonas de la división celular" y activan el proceso directamente. Otro efecto es determinar la dominancia apical, por lo que el crecimiento de las ramas se supedita al del tallo en velocidad y dirección, en éste fenómeno no interaccionan con las auxinas. (Rojas, 1987).

---

Para que la división celular tenga lugar, deben de sucederse una cadena de fenómenos (síntesis y duplicación del ADN, síntesis ARN, traducción del ARNm y biosíntesis de proteínas), los cuales preceden la mitosis, pero requieren la presencia de las citocininas para llevarla a cabo; además, si la citocinina está presente en concentraciones elevadas, puede volverse limitante, por lo menos en uno de los tres pasos necesarios para la división celular. (Bidwell, 1979; citado por Hurtado, 1991).

Las citocininas se utilizan frecuentemente para estimular el crecimiento y el desarrollo; siendo las más comunes: Kinetina (K), Benciladenina (BA), e isopentiladenina (2iP). Generalmente estimulan la división celular sobre todo si van en compañía de una auxina. En concentraciones elevadas (1 - 10 mg l<sup>-1</sup>) pueden inducir la formación de vástagos adventicios; sin embargo, generalmente se inhibe la formación de raíces. Las citocininas promueven la formación de vástagos axilares, porque disminuye la dominancia apical, también retardan el envejecimiento (Pierik, 1990; Grajales, 1985).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

#### 3.3.2.4. Condiciones de cultivo.

Son muchos los factores externos que tienen un efecto sobre el crecimiento y desarrollo del material vegetativo en el cultivo in vitro. (Hughes, 1981).

El agar es un derivado de una alga marina, que se obtiene en forma de pílora y que se usa como agente gelificante en la mayor parte de los medios nutritivos. El crecimiento in vitro puede ser afectado de forma negativa si la concentración del agar es demasiado elevado. (Stolz, 1967; mencionado por Pierik, 1990).

Se conoce poco la influencia del pH del medio nutritivo en el cultivo in vitro. Se supone que el pH en el rango 5.0 - 5.6 es apto para el crecimiento, con un máximo alrededor de 6.0. Un pH bajo (menor de 4.5) o alto (mayor que 7.0), generalmente frena el crecimiento y desarrollo in vitro. (Pierik, 1990).

La luz es un importante factor externo que controla crecimiento y diferenciación de las células de las plantas, cultivo de tejidos y órganos. La influencia de la luz en el crecimiento de callos y diferenciación de brotes ha estado ampliamente demostrado. Hay también muchos reportes mostrando el control de la luz en la formación de raíces *in vitro*. (Viterhalter et al., 1990).

Adicionando luz puede tener efectos directos de activación de los pigmentos receptores asociados directamente con la fotosíntesis. Diversos estudios recientes tienen indicado que la luz aparentemente absorbida por los pigmentos de la fotosíntesis juegan un papel muy importante en la inducción de morfogénesis del cultivo *in vitro*. (Conger, 1987; Yeoman, 1986; Hughes, 1981).

Se considera que la intensidad luminica óptima va de los 3,000 a los 5,000 lux y con una duración de 16 a 18 hrs/día, proporcionados por tubos de luz fluorescente blanca. La temperatura se mantiene generalmente constante de 24 a 26°C. A veces dependiendo de la especie experimental, se elige una temperatura más baja o más alta. (Pierik, 1990; Yeoman, 1986).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

### 3.3.3. Mecanismos de morfogénesis y organogénesis.

Normalmente, dos procesos muy importantes de desarrollo acompañan al crecimiento: la morfogénesis y la diferenciación. La morfogénesis es el desarrollo de las formas de células y órganos. La diferenciación consiste en la adquisición gradual de características estructurales y de funciones diferentes por las células, que en su origen forman parte de una población celular relativamente uniforme no especializada de meristemo. (Peter, 1975).

Esau, (1976), menciona que el fenómeno de la morfogénesis se manifiesta en distintos niveles de organización y se puede hablar de morfogénesis de la planta, de los órganos, de los tejidos, de las células y hasta de los componentes de las células.

El crecimiento y la diferenciación, que ocurren durante la ontogenia (desarrollo de un individuo) de la planta, están coordinados y regulados de manera que la planta resultante tenga una forma específica; en otras palabras, la planta en desarrollo presenta el fenómeno de la morfogénesis (origen de la forma; palabras griegas para forma y origen). (Esau, 1976; Bernard, 1976).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

La diferenciación fue interpretada como la evolución de las células derivadas de los meristemas en elementos de diversos sistemas de tejidos del cuerpo de la planta. (Esau, 1976).

La diferenciación celular comienza dentro del meristemo. Muy cerca de la punta de éste se vuelven aparentes algunas diferencias en densidad del protoplasma, tamaño de los núcleos y de las vacuolas y otras más. (Thorpe, 1981).

Muchas células llegan a ser tan modificadas durante la diferenciación que alcanzan un estado irreversible. Tal estado se halla asociado a una profunda alteración del protoplasto o a su completa desaparición. En este caso la célula pierde la capacidad de desdiferenciarse y recuperar la actividad meristemática. (Esau, 1976).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

---

### 3.3.4. Técnicas del cultivo in vitro.

Es posible distinguir los siguientes tipos de cultivo aséptico de origen vegetal.

- A) Cultivo de plántulas a partir de semillas.
- B) Cultivo de embriones. A partir de embriones maduros e inmaduros.
- C) Cultivo de órganos. A partir de órganos aislados (incluye derivados de ápices de raíz, ápices de tallo, primordios foliares o partes inmaduras de la flor).
- D) Cultivo de células o suspensiones o agregados celulares.
- E) Cultivo de tejidos: epidermis, cambium.
- F) Cultivo de protoplastos. Células separadas de su pared celular. (Atkinson, 1991; Pierik, 1990; Hurtado, 1987; Guevara, 1987;).

---

### 3. Revisión bibliográfica.

Esta subdivisión corresponde de una cierta manera a la parte o la estructura de la planta que se pone en cultivo. Pero, a partir de estos fragmentos podemos orientar el desarrollo subsecuente de tres maneras principales:

- 1) Estimular la formación directa de órganos (organogénesis), llegando a regenerar plantas completas. Esto generalmente ocurre con órganos preformados.
- 2) Estimular la proliferación de las células del tejido inicial, creando una base de células que se multiplica y crece en forma desorganizada (callo).
- 3) Creación de nuevas variedades. Esto se puede lograr a través de cultivo de plantas haploides y fusión de protoplastos. (Guevara, 1987).

---

#### 3.3.4.1. Método de segmentos nodales.

El cultivo de segmentos nodales se conoce al aislamiento de una yema, junto con la porción de tallo, para obtener un vástago a partir de yema. Este es el método más natural de propagación vegetativa de las plantas in vitro. Cada una de las yemas que se encuentran en las axilas de las hojas, idénticas a la del ápice del tallo, pueden ser aisladas sobre un medio nutritivo, intentándose así su desarrollo in vitro, realizándose los recultivos cuando son necesarios. (Pierik, 1990).

Cuando se aplica éste método se deberían tener en cuenta los siguientes puntos:

1. El aislamiento por éste método es prácticamente imposible cuando se trata de plantas de roseta (Bromeliáceas, entre otras.) y cuando las posibilidades de infección son altas.
2. Para reducir las posibilidades de infección, es mejor aislar yemas cerradas. En el caso de que existan infecciones internas, éste método es impracticable, siendo necesario acudir al cultivo de meristemas.

3. La velocidad de propagación depende del número de yemas disponibles. (Pierik, 1990).

El primer trabajo de investigación sobre aislamiento de yemas y el consiguiente enraizado de los vástagos, se llevó acabo con espárrago. (Galston, 1947; Gorter, 1965; Andreassen y Elison, 1967, citados por Pierik, 1990).

#### 3.3.4.2. Método de yemas axilares.

Es muy similar al de los segmentos nodales, siendo la diferencia más importante el que en éste último caso se utilizan casi exclusivamente plantas con tallos largos y que generalmente no se necesita la citoquinina para el desarrollo de las yemas. (Pierik, 1990).

El método de los vástagos axilares fue utilizado por primera vez por Hackett y Anderson (1967) para clavel, después por Adams (1972) y Boxus (1974); y por Pierik *et al* (1975) y Murashige (1974) para gerbera. ( Pierik, 1990).

En la práctica el método de explantos nodales se usa generalmente en combinación con el método de yemas axilares, se permite a una yema que se desarrolle y posteriormente se añade citoquinina para inducir la formación de vástagos axilares. (Pierik,1990).

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de embriogénesis del Centro de Fruticultura del Colegio de Postgraduados, Chapingo, Estado de México.

##### 4.1. Material biológico.

Se utilizaron plantas de 4 especies de *Dracaena*; *D. sanderiana*, *D. Marginata* var. "tricolor", *D. deremensis* var. *warneekii* y *D. fragans*, traídas de invernadero de entre 40 a 50 cm de altura.

##### 4.2. Establecimiento del cultivo aséptico (Fase I).

###### 4.2.1. Obtención del inóculo.

El tallo fue cortado en segmentos de 10 cm a partir del ápice de la planta. Las hojas se eliminaron y posteriormente se lavaron los tallos con agua de la llave y un detergente comercial, se enjugaron con abundante agua de la llave cuidando de no dejar residuos del detergente.

#### 4.2.2. Desinfección y siembra.

Para la desinfección, los trozos de tallo fueron sumergidos en alcohol al 70% durante 30 segundos, se enjugó con agua destilada por 2 o 3 veces; posteriormente dentro de la cámara de flujo laminar, los trozos se sumergieron en hipoclorito de sodio (cloro comercial) y agua en una relación de 3:1, más 2 gotas de tween 20 (como detergente, para romper la tensión superficial) durante 15 minutos; enseguida se procedió a dar 3 enjuagues con agua destilada esterilizada a 3 tiempos (5, 10 y 15 minutos).

Después de haber realizado la desinfección, los segmentos de tallo de *D. sanderiana* y *D. marginata* var. "tricolor" se cortaron en rodajas de aproximadamente 0.5 cm respetando en cada caso la yema y sembrados 4 segmentos de tallo en frascos de Gerber con 20 ml de medio de cultivo, y en tubos de ensayo un segmento de tallo con 10 ml de medio de cultivo cada uno respectivamente. La siembra se hizo respetando la polaridad de la planta.

---

Para las especies de *D. fragans* y *D. deromensis* var. "warneekii", después de la desinfección se sumergieron en una solución de ácido ascórbico y ácido cítrico a una concentración de  $150 \text{ mg l}^{-1}$ , para evitar la oxidación del tejido de las dos especies, y posteriormente se sembraron 4 segmentos de tallos en frascos de gerber con 20 ml de medio de cultivo a cada uno. Los frascos conteniendo los inóculos se colocaron en un cuarto de incubación a una temperatura de 25 más menos  $2^{\circ}\text{C}$  y con una intensidad lumínica de 3000 lux proporcionada por lámparas de luz blanca fluorescente por 16 horas.

#### 4.2.3. Medio de cultivo.

El medio de cultivo empleado en éste experimento fue el de Murashige y Skoog (1962) cuadro (1); adicionado con  $30 \text{ gl}^{-1}$  de sacarosa, y  $7.5 \text{ gl}^{-1}$  de agar. El pH fue ajustado a  $5.7 \pm 0.1$ , utilizando HCL y NaOH al 0.1 N. La esterilización del medio de cultivo fue en autoclave a  $120^{\circ}\text{C}$  y a  $1.14 \text{ kg/cm}^2$  de presión durante 20 minutos.

CUADRO ( 1 )  
Medio de cultivo de Murashige & Skoog (1962).  
Soluciones concentradas.

SALLES INORGANICAS.

MACROELEMENTOS mg/l	MICROELEMENTOS mg/l
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 1,650	MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O 22.3
KNO <sub>3</sub> 1,900	ZnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O 8.6
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O 370	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O 0.025
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O 440	KI 0.83
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 170	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O 0.025
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O 27.81	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> 6.2
Na <sub>2</sub> EDTA 37.31	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O 0.25

COMPUESTOS ORGANICOS mg/l

Glicina	2.0
Ac. Nicotínico	0.5
Patidoxina-HCL	0.5
Tiamina-HCL	0.1
Mio-inositol	100.0
Sacarosa	30,000.0
Agar	7,500.0

pH 5.7 +/- 0.1

#### 4.2.4. Establecimiento del inóculo.

En el experimento uno, el medio de cultivo MS utilizado para las cuatro especies de *Dracaena*, de le adicionó la combinación hormonal de ANA/BA; ANA/BA + AC, (Cuadro 2), probando 5 concentraciones para cada hormona y 150 ml de agua de coco (AC), haciendo un total de 25 tratamientos con 2 repeticiones por tratamiento para cada combinación.

En el segundo experimento se empleó la combinación de ANA/K y ANA/K + AC, haciendo un total de 25 tratamientos por combinación, con 2 repeticiones por tratamiento. (ver cuadro 2).

Cuadro 2.

Combinación de ANA/BA ( $\text{mg l}^{-1}$ ) adicionado al medio MS en la fase de establecimiento.

BA/ANA	0.0	0.1	0.5	1.0	2.0
0.0	1	2	3	4	5
0.1	6	7	8	9	10
0.5	11	12	13	14	15
1.0	16	17	18	19	20
2.0	21	22	23	24	25

#### 4. Materiales y Métodos.

---

#### 4.3. Multiplicación del inóculo (Fase II).

En ésta fase se utilizaron los brotes obtenidos en la fase de establecimiento; los tallos se seccionaron y se transfirieron a medio MS suplementado en las combinaciones hormonales en las cuales se logró la formación de brotes, en el experimento uno con la combinación de ANA/BA. Las concentraciones variaron según la especie; de la misma forma en el experimento dos, las concentraciones de ANA/K variaron. Como se verá más adelante por especie. Para ambos experimentos la siembra se realizó en frascos de "gerber" con 20 ml de medio de cultivo, con 2 repeticiones por tratamiento. La incubación se hizo en las condiciones mencionadas anteriormente. Se hizo la eliminación de la yema apical de la plantula dominante.

#### 4.4. Enraizamiento de los brotes (Fase III).

El enraizamiento se indujo en los brotes de 1.5 cm o más y se transfirieron a medio nutritivo conteniendo ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftalenacético (ANA), a una concentración de 0.5 y 1.0 mg/l.

#### 4.5. Establecimiento en suelo.

Una vez obtenidas las plantas enraizadas se sumergieron las raíces en una solución de agua y captan ( $1.0 \text{ gl}^{-1}$ ), se plantaron en vasos de unisel en una mezcla de tierra de monte y hojarasca (previamente esterilizada), y se cubrieron con una bolsa de plástico para control de humedad y dos semanas después se pasaron al invernadero.

#### 4.6. Análisis estadístico.

##### 4.6.1. Toma de datos.

Las observaciones y toma de datos se realizaron una vez que hubo respuesta en los explantos.

Se tomaron días y semanas para la obtención de callo y brotes. En el caso del número de brotes se contabilizaron aquéllos que estuvieron diferenciados y posteriormente originaron tallos. De igual manera se tomaron la longitud del brote a las 15-17 semanas de iniciada la siembra del inóculo primario.

Para la fase de enraizamiento se contabilizaron las plantas enraizadas.

#### 4.6.2. Diseño experimental.

El diseño experimental empleado en los experimentos de laboratorio es el diseño completamente al azar, ya que en este diseño los tratamientos son asignados aleatoriamente, de tal manera que cada unidad experimental tiene la misma oportunidad de recibir cualesquiera de los tratamientos.

Los datos obtenidos en la fase de multiplicación del inóculo, fueron utilizados para obtener los promedios.

---

## 5. RESULTADOS.

### 5.1. Establecimiento del inóculo (Fase I).

#### Dracaena deremensis var. warneekii y D. sanderiana.

En éstas dos especies, la formación de callos se observó a partir de las 10 semanas de la siembra del inóculo, principalmente en los tratamientos con ANA + BA en diferentes combinaciones, como son:

ANA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ); ANA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ).

Otros tratamientos fueron ANA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ); ANA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) y ANA (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ); ANA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ). También se indujo la formación de callo en ANA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$  y 2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ).

En los tratamientos donde se empleó cinetina (K), la formación de callo se obtuvo a las 10 semanas después de la siembra en los tratamientos K (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) + ANA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ); K (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) + ANA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ); K (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ) + ANA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) y K (2.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) ; ANA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ).

En los tratamientos donde a los medios se les agregó agua de coco solamente se obtuvo callo en BA (2.0 mg l<sup>-1</sup>) + ANA (0.1 mg l<sup>-1</sup>); BA (0.1 mg l<sup>-1</sup>) + ANA (1.0 mg l<sup>-1</sup>). El tiempo de formación fue de 12 días.

Los inóculos sembrados en medio MS suplementado con ANA + K + agua de coco no se obtuvieron resultados excepto en la combinación de ANA (1.0 mg l<sup>-1</sup>) + K (2.0 mg l<sup>-1</sup>), sin embargo el callo que se produjo fue compacto de color verde y de lento crecimiento.

*Dracaena marginata* var. "tricolor".

La formación de callo se dio a las 9 semanas, después de iniciada la siembra, en los tratamientos donde sólo se empleó BA (0.1, 0.5 y 2.0 mg l<sup>-1</sup>) y en la combinación de ANA + BA en las concentraciones de 0.1 mg l<sup>-1</sup> de ANA + 0.1 mg l<sup>-1</sup> de BA; 0.1 mg l<sup>-1</sup> de ANA + 0.5 mg l<sup>-1</sup> de BA; 0.1 mg l<sup>-1</sup> de ANA + 1.0 mg l<sup>-1</sup> de BA. La aparición de las yemas se dio a las 10 semanas aproximadamente. Los callos fueron del mismo aspecto que los observados en las especies *D. deremensis* y *D. sanderiana*.

---

Los tratamientos en cinetina (K); la formación de callo se observó en las concentraciones de 0.1, 0.5, 1.0 y 2.0  $\text{mg l}^{-1}$  a las 9 semanas después de iniciada la inoculación. La iniciación de brotes apareció entre las 10-12 semanas.

En los tratamientos donde el medio básico se complementó además de las hormonas, con agua de coco, no se indujo ni la formación de callo ni de yemas o brotes.

#### Dracaena fragans.

En ésta especie la respuesta del inóculo a la formación de callo se dio a las 10 semanas de iniciarse el cultivo del tallo. Los tratamientos que respondieron fueron: 0.5 y 1.0  $\text{mg l}^{-1}$  de BA y cuando se combinó con ANA, se indujo el callo con las concentraciones de ANA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ); ANA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ); ANA (0.1  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ) y ANA (0.5  $\text{mg l}^{-1}$ ) + BA (1.0  $\text{mg l}^{-1}$ ). El tipo de callo que se obtuvo fue moderadamente compacto y amarillento.

La diferenciación de yemas se observó a las 12 semanas después de la siembra.

---

#### 5. Resultados.

Cuando se empleó la cinetina, la formación de callo se logró a las 11 semanas y la diferenciación de yemas se dio entre las 12 y las 13 semanas. Ambas respuestas se indujeron en las concentraciones de 0.5 y 1.0 mg l<sup>-1</sup> de cinetina (K). El tipo de callo que se formó fue similar a *D. deremensis* y *D. sanderiana*.

En los tratamientos donde el medio de cultivo se complementó con agua de coco, no se observó ni la formación de callo ni la iniciación de brotes adventicios.

## 5.2. Multiplicación del inóculo (Fase II).

### *Dracaena deremensis* y *D. sanderiana*.

La multiplicación de éstas especies fue obtenida (Fig. B) en las concentraciones de ANA (0.5 mg l<sup>-1</sup>) + BA (1.0 mg l<sup>-1</sup>) y ANA (0.5 mg l<sup>-1</sup>) + BA (2.0 mg l<sup>-1</sup>). Los valores promedios de ambos tratamientos fueron de 19-22 y 18-20, respectivamente. Las restantes concentraciones no mostraron un número de brotes significativo. Cuadro (3). (Fig. 1)

Fig. A

Tallo mostrando la yema axilar que sirvió como inóculo.



Fig. B

Proliferación del inóculo. Obsérvese el número de brotes.



En los tratamientos en donde se adicionó cinetina (K) al medio de cultivo, no se produjo un número promedio significativo de brotes, la máxima producción fue de 7 y sucedió en la combinación K ( $2.0 \text{ mg l}^{-1}$ ) + ANA ( $0.1 \text{ mg l}^{-1}$ ). Este valor concuerda con lo informado por Chua et al (1981), que menciona que inóculos de Dracaena cultivados en medio complementado con K el número de brotes fue muy bajo y en algunos tratamientos no se presentó. Cuadro no. (3). (Fig. 1).

En cuanto a la combinación ANA + K + agua de coco, se indujo la formación de callo, pero no la diferenciación de brotes; suponemos que el agua de coco puede estimular la división celular, pero no la diferenciación.

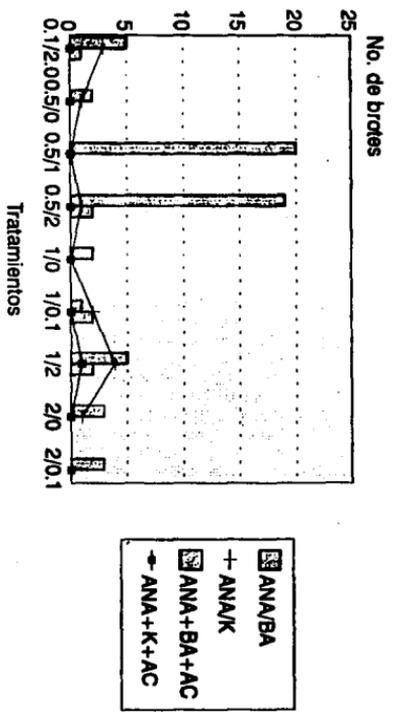
CUADRO ( 3 ).

Efecto hormonal en la producción de brotes (promedio)  
de *Dracaena deremensis* y *Dracaena sanderiana*.

TRATAMIENTO		REGULADORES DEL CRECIMIENTO			
AUXINA	CITOCI.	ANA/BA	ANA/K	ANA/BA/G	ANA/K/G
0.1	2.0	5	3	1	0
0.5	---	2	1	0	0
0.5	1.0	19-22	0	0	0
0.5	2.0	18-20	1	2	0
1.0	---	2	0	0	0
1.0	0.1	1	2	2	0
1.0	2.0	5	2	2	1
2.0	---	3	0	0	0
2.0	0.1	3	0	0	0

G= agua de coco.

**Fig. 1**  
 Efecto hormonal en la producción de brotes de *D. deremensis* y *D. sardentiana*



AC = Agua de coco

**5. Resultados.**

D. marginata var. "tricolor"

En ésta especie se observó que la multiplicación del brote se indujo en medios complementados con ANA y BA, y solamente en K.

En los tratamientos con ANA y BA, la adición de 2.0 mg $l^{-1}$  de BA y 0.5 mg $l^{-1}$  de ANA produjo el mayor número promedio de brotes con 25, y el menor fue el tratamiento con 2.0 mg $l^{-1}$  de BA con 4.5. Cuadro ( 4 ). (Fig. 2).

Por otro lado, brotes separados del callo de 9 semanas de cultivo, se incrementó el número cuando se retrasplantaron al medio adicionado con K. Los tratamientos fueron cuatro y son: 0.1 mg $l^{-1}$  de K, que produjo el número más pequeño (promedio) de brotes con 1.8 y 0.5 mg $l^{-1}$  de K dio el promedio mayor de brotes con 27.8. Las restantes concentraciones de K dieron valores significativos al compararse con D. deremensis y D. ganderiana. Los datos fueron más consistentes en producción de brotes. Estos resultados son contrastantes en los mostrados por Chua et al (1981), quienes sólo produjeron 7 brotes por inóculo. Este resultado puede deberse a que el inóculo primario fue Dracaena fragans realizado con 2,4-D, auxina muy energética. Cuadro no. (5). (Fig. 3).

---

5. Resultados.

CUADRO ( 4 )

Producción de brotes en inóculo de *Dracaena marginata* var. "tricolor" cultivada en BA/ANA.

TRATAMIENTO (mg l <sup>-1</sup> )		No. inóculo con callo.	No. de brotes por inóculo <sup>1</sup>
ANA	BA		
---	2.0	18	4.5
0.1	2.0	12	9.0
0.1	2.0	14	25
1.0	2.0	17	20
2.0	0.1	15	10

CUADRO (5)

Respuesta del inóculo de *Dracaena marginata* var. "tricolor" cultivado en cinetina (K).

TRATAMIENTO (mg l <sup>-1</sup> ) K	Número de inóculo	No. de brotes por inóculo <sup>1</sup>
0.1	18	1.8
0.5	17	27.8
1.0	19	18.8
2.0	14	4.8

<sup>1</sup> El número de brotes es un promedio.

Fig. 2

Producción de brotes en inóculo de *D. marginata* var. "tricolor" cultivada en BA/ANA

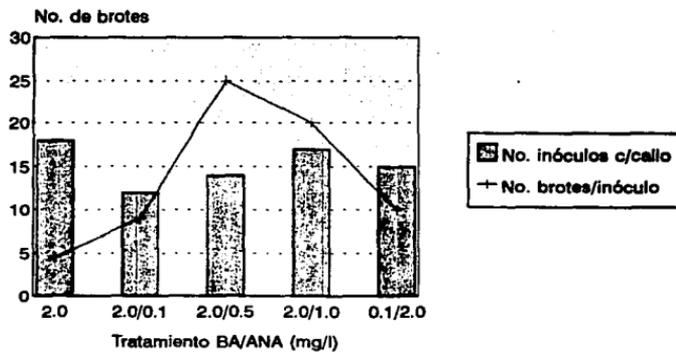
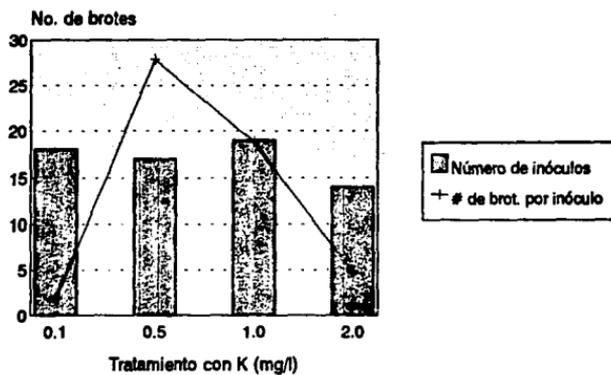


Fig. 3

Respuesta del inóculo de *D. marginata* var. "tricolor" cultivado en cinetina.



---

***Dracaena fragans.***

Esta especie fue la que menos respondió a los tratamientos de propagación, aunque si hubo respuesta cuando los callos y brotes obtenidos en la fase de establecimiento fueron cultivados o resembrados en la combinación ANA y BA.

Los tratamientos en los cuales se observó la multiplicación más alta fue : ANA (0.5 mg/l) y BA (0.5 mg/l) con 3.5 brotes en promedio. Cuadro no. (6). (Fig. 4).

Los demás tratamientos dieron valores no significativos o fueron de menor producción.

Los inóculos obtenidos en 0.5 y 1.0 mg/l de K en los cuales se observó la formación de callo y brotación, no se pudo ni incrementó en el número de brotes ni alargamiento de los tallos. aparentemente el crecimiento se detuvo, probablemente por la oxidación del tejido.

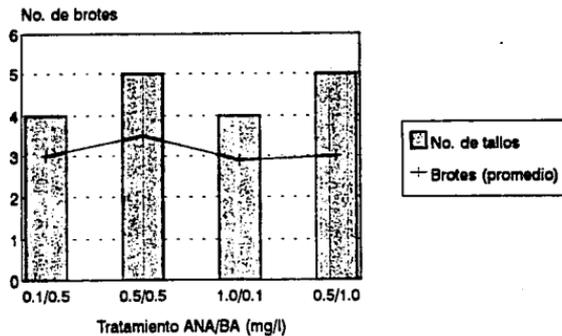
CUADRO ( 6 )  
Efecto hormonal en la producción de brotes en *Dracaena fragans*.

TRATAMIENTO (mg l <sup>-1</sup> )		No. de tallos.	No. de brotes. <sup>1</sup>
ANA	BA		
0.1	0.5	4	3
0.5	0.5	5	3.5
1.0	0.1	4	2.9
0.5	1.0	5	3

<sup>1</sup>. El número de brotes es un promedio.

#### 5. Resultados.

**Fig. 4**  
**Efecto hormonal en la producción de brotes en *D. fragans*.**



### 5.2.1. Longitud de brotes.

#### ***Dracaena deremensis* y *D. sanderiana***

La comparación de los valores promedio, para el caso de *D. deremensis* y *D. sanderiana* señala que el tratamiento de 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de ANA y 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de BA causó la mayor longitud del brote (5.58 cm). En la dosis de 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de ANA y 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de BA, los brotes que se midieron fueron, en promedio, de 4.24 cm de longitud, dándose una diferencia de 1.34 cm; los demás tratamientos no mostraron valores promedio significativo. Cuadro no. (7). (Fig. 5).

CUADRO ( 7 )

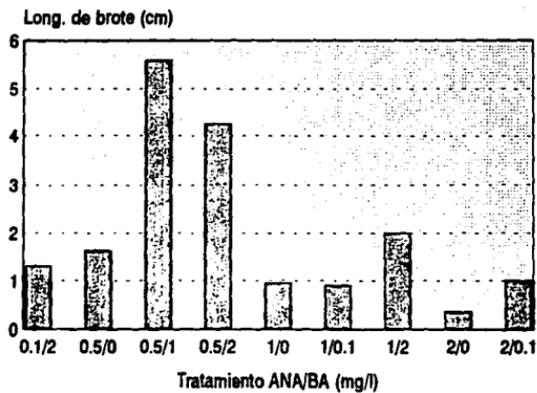
Efecto de ANA y BA en la longitud del brote de *Dracaena deremensis* y *Dracaena sanderiana*.

TRATAMIENTOS (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )		Longitud del brote. <sup>2</sup>
ANA	BA	
0.1	2.0	1.3
0.5	---	1.62
0.5	1.0	5.58
0.5	2.0	4.24
1.0	---	0.95
1.0	0.1	0.90
1.0	2.0	2.0
2.0	---	0.35
2.0	0.1	1.0

<sup>2</sup>. La longitud del brote es un promedio.

Fig. 5

Efecto de ANA y BA en la longitud de brote de *D. deremensis* y *D. sandieriana*.



***Dracaena marginata* var. "tricolor"**

La respuesta en crecimiento de los propágulos o brotes fue observada en los tratamientos siguientes: 2.0 mg l<sup>-1</sup> de BA + 0.1 mg l<sup>-1</sup> de ANA resultó ser el que presentó mayor longitud promedio de brote con 5.5 cm y el menor crecimiento fue 0.1 mg l<sup>-1</sup> de BA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> de ANA con 0.35 cm, sin embargo en la concentración de 2.0 mg l<sup>-1</sup> de BA una plántula tuvo una longitud de 5.0 cm. Suponemos que éste dato se debe a la poca competencia entre los brotes adventicios que se formaron en dicho tratamiento, puesto que en éste se dio el menor número de brotes. Esta tendencia se percibe, pues a mayor número de brotes el crecimiento o alargamiento del tallo fue menor. Cuadro no. (8). (Fig. 6).

CUADRO ( 8 )

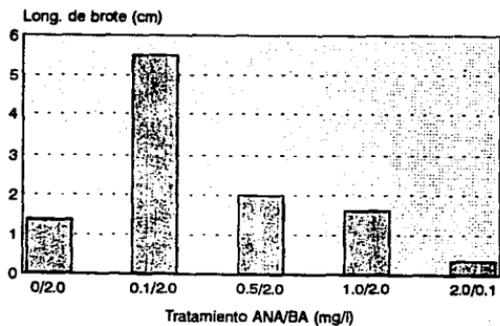
Efecto de ANA/BA en la longitud de brotes de *Dracaena marginata* var. "tricolor".

TRATAMIENTOS (mg l <sup>-1</sup> )		Longitud de plántula. <sup>1</sup>
ANA	BA	
---	2.0	1.38
0.1	2.0	5.50
0.5	2.0	2.00
1.0	2.0	1.62
2.0	0.1	0.35

<sup>1</sup>. La longitud de plántula es un promedio.

Fig. 6

Efecto de ANA/BA en la longitud de brotes de *D. marginata* var. "tricolor".



En relación a la respuesta de los brotes cultivados en cinetina, los datos muestran que los tratamientos  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  y  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  de K, que produjeron mayor número de brotes, tuvieron en promedio, valores de 4.65 cm y 4.70 cm, de longitud respectivamente. De la concentración de  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  de K, una plántula tuvo un crecimiento de 5.0 cm, pero el promedio fue de 1.62 cm. Al igual que en la condición hormonal de ANA y BA, la tendencia es a mayor número de brotes, la longitud es menos. Cuadro (9). (Fig. 7).

Aparentemente la cinetina es la promotora del crecimiento o desarrollo de los brotes.

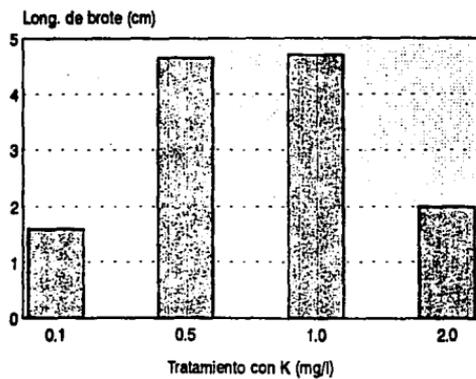
CUADRO ( 9 )

Longitud del brote (cm) obtenido de inóculo cultivado en cinetina de *Dracaena marginata* var. "tricolor".

Tratamientos ( $\text{mg l}^{-1}$ ) K	Longitud de brotes.
0.1	1.6
0.5	4.6
1.0	4.7
2.0	2.0

Fig. 7

Longitud del brote de inóculo cultivado en Cinetina de *D. marginata* var. "tricolor".



***Dracaena fragans***

Los brotes adventicios que se resembraron en los mismos medios para multiplicación mostraron uniformidad en el crecimiento o alargamiento del tallo. Los datos promedio obtenidos para cada tratamiento se observan en el cuadro no. (10). (Fig. 8).

Sin embargo, los valores promedio señalan una velocidad de crecimiento menor que las otras tres especies estudiadas en éste trabajo. Aún cuando los brotes fueron más vigorosos que otras especies.

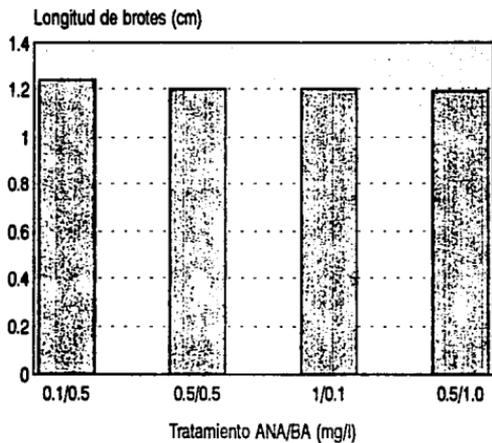
CUADRO ( 10 )

Longitud de brote (cm) obtenido de inóculos de *Dracaena fragans* cultivadas en ANA y BA.

Tratamiento (mg/l)		Longitud de brotes.	No. de tallos.
ANA	BA		
0.1	0.5	1.24	15
0.5	0.5	1.24	15
1.0	0.1	1.20	10
0.5	1.0	1.19	15

Fig. 8

Longitud del brote obtenido de inóculos de *D. fragans* cultivados en ANA y BA.



### 5.3. Enraizamiento de las plántulas (Fase III).

En términos generales, con excepción de *D. marginata* var. "tricolor" que requirió de AIB o ANA en concentración de 0.5 y 1.0 mg l<sup>-1</sup> de cada una para la formación de raíz, en las *D. doremensis*, *D. sanderiana* y *D. fragans* no requirieron de hormonas para su enraizamiento. (Fig. C).

### 5.4. Establecimiento en suelo.

El establecimiento de la plántula en suelo se hizo cuando la raíz tuvo una longitud de 3 cm. La respuesta de las plántulas fue positiva, necesitando aproximadamente 3 semanas de adaptación en vaso de unicel tapadas con bolsa de plástico; se fue retirando poco a poco la bolsa para evitar cambios bruscos en el nuevo ambiente de la plántula y así provocar la muerte de la misma. (Fig. D).

Fig. C

Enraizamiento de las plántulas de *D. marginata* var. "tricolor" obtenidas en la fase II (proliferación).



Fig. D

Plántula de *D. deremensis* de 7 meses establecida en suelo



## 6. DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos tenemos que la capacidad de propagación in vitro de las 4 especies del género *Dracaena* (*D. deremensis* var. "warneekii"; *D. sanderiana*; *D. marginata* var. "tricolor" y *D. fragans*) fue positivo; todas las especies estudiadas respondieron adecuadamente. Existieron diferencias en cuanto al tiempo de respuesta para la formación de callo y brotación de yemas, así como para el número de brotes y la longitud de éstos; sin embargo dichas diferencias no son tan marcadas.

Para la fase de establecimiento del inóculo (fase I), en donde se pretende obtener desarrollo del inóculo, se observó que la concentración de ácido naftalenacético (ANA) y benciladenina (BA) son mejores promotores del desarrollo, que la combinación de ácido naftalenacético (ANA) y cinetina (K). Chua obtuvo respuesta para *D. marginata* var. "tricolor" después de las 10 semanas en diferentes concentraciones con cinetina, con un promedio de 2 a 7 brotes para 1.0 mg l<sup>-1</sup> y menor número para el caso de 0.5 mg l<sup>-1</sup>. De manera similar obtuvimos respuesta del inóculo entre las 10 y 12 semanas de cultivados los inóculos en las concentraciones de ANA+k. La utilización del agua de coco (complejo natural) no respondió favorablemente, descartando el uso de ésta en el caso específico de las *Dracaenas* utilizadas.

---

Las concentraciones en las cuales se obtuvo respuesta para la inducción de callo y yema fueron variadas, no encontrándose una concentración específica para la respuesta, esto debido a que se utilizaron partes del tallo basal, medio y apical. Vinterhalter (1989) obtuvo callo después de 6 a 8 semanas de cultivo en medio conteniendo 0.25, 0.5 mg l<sup>-1</sup> de 2,4-d.

En este trabajo la respuesta para la formación de callo fueron en promedio a las 10 semanas para todas las especies, y de 11 semanas promedio para la brotación de yemas.

Los datos anteriores contrastan con los citados por Chua (1981), quien menciona que empleando 2,4-D la respuesta del inóculo se dio a las 4 semanas de sembrado, por tanto podemos considerar que la diferencia se debe al tipo de auxina. Así mismo, Evaldsson (1985) y Welander (1988), citados por Duran (1993), mencionan un tiempo de 4 a 5 semanas en la inducción de brotes de inóculos de Cordyline terminalis, empleando el medio MS adicionado con BA y un tiempo de 6 semanas cuando se aplican las mismas concentraciones pero de K.

En la fase de multiplicación (fase II), las combinaciones que dieron mejores resultados fueron ANA (0.5 mg l<sup>-1</sup>) y BA (1.0 mg l<sup>-1</sup>); ANA (0.5 mg l<sup>-1</sup>) y BA (2.0 mg l<sup>-1</sup>), con un promedio de 20 brotes para D. deremensis y D. sandariana. Las combinaciones de ANA + K, no respondieron favorablemente. Para D. marginata var. "tricolor" los tratamientos con BA y ANA produjeron el mayor número de brotes con un promedio de 13. Chua (1981) obtuvo en promedio de 2 a 7 brotes, sin embargo, la hormona utilizada fue la cinetina. Los tratamientos en los cuales se observó la mayor multiplicación para D. fragans fue igualmente la combinación de ANA y BA, confirmando lo citado por Vinterhalter (1989), en donde la multiplicación eficiente de brotes solo se llevo acabo si el medio contenía IBA o ANA con adición de BA. Las concentraciones de benciladenina (BA) fueron mayores que las de ácido naftalenacético (ANA), teniendo una relación de baja concentración de auxinas y alta concentración de citocininas, confirmando lo citado por la literatura.

El promedio de brotes obtenidos en Cordyline terminalis fue de 27 y 18 en medio de cultivo adicionado solamente con la Benciladenina(BA) en concentración de 0.3 y 0.5 mg l<sup>-1</sup> respectivamente. La diferencia de número de brotes puede ser debido al potencial intrínseco de cada una de las especies.

---

#### 5. Discusión.

La longitud de los brotes entre las diferentes especies fue variable, sobre todo de D. deremensis var. "warneekii"; D. sanderiana y D. marginata var. "tricolor" con respecto a D. fragans; ya que se tuvieron como promedios de 5 cm de las tres primeras y de 1 cm de la última. Esto es debido probablemente a características propias de cada especie; ya que la D. fragans tiene un tallo más grueso, no así las demás especies. La adición de BA o K al medio de cultivo es indispensable para el alargamiento de los brotes. Evaldsson (1985); Welander (1988) citados por Duran (1993) obtuvieron longitudes de 5 cm aplicando la concentración de 0.3 mg l<sup>-1</sup> de BA. De igual manera Paek (1985) citado por Duran (1993) registró un alargamiento de brotes de 2-3 cm. aplicando la concentración de 1.0 mg l<sup>-1</sup> de K. En este rubro no existió una diferencia tan marcada entre las especies del género Dracaena y el género Cordyline.

Para el enraizamiento en D. deremensis; D. sanderiana y D. fragans, no se necesitó ninguna concentración de auxinas. En el caso de D. marginata var. "tricolor" fue necesario la adición de IBA y ANA en concentración de 0.5 y 1.0 mg l<sup>-1</sup>. Chua (1981) reporta la adición de auxinas para el enraizamiento de D. marginata var. "tricolor". La hipótesis

---

## 6. Discusión.

---

planteada respecto a la inducción de rizogénesis no se cumple para las primeras tres especies, pero así para la última especie mencionada.

El establecimiento en suelo fue positivo, ya que del total de plantas enraizadas, las mismas se adaptaron a suelo (se colocaron en tierra esterilizada y posteriormente se pasaron a invernadero). Chua et al (1981) y Vinterhalter (1989) reportan de igual manera la adaptación sin problemas de las plantas enraizadas in vitro de D. marginata var. "tricolor" y D. fragans respectivamente. El porte de éstas plantas fue vigoroso, aunque cabe aclarar que el crecimiento de las plantas de éste género es muy lento.

---

## 6. Discusión.

---

## 7. CONCLUSIONES

- = Es posible la obtención de plantas del género *Dracaena* por cultivo in vitro a partir de segmentos nodales y yemas axilares.
  
- = Los mejores resultados se presentaron al emplear la benciladenina (BA) para la formación y longitud de brotes; incluso la benciladenina (BA) sola promovió la brotación.
  
- = El nivel endógeno de auxina presentado en el inóculo resultó ser suficiente para inducir la rizogénesis en los tratamientos en donde no se adicionaba auxina al medio de cultivo, lo anterior fue para *D. deremensis* var. "warneekii" ; *D. sanderiana* y *D. fragans*; no así para *D. marginata* var. "tricolor", la cual si necesitó la adición de auxina para su enraizamiento.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Ammirato, P. V. 1983. Embriogénesis in: Hand Book of Plant Cell Culture. Vol. I, Macmillan Publishing Co. New York. USA.
- Armenta, P. Ma. del C. 1989. Producción *in vitro* de plantas de Gerbera (Gerbera jamesonii Bolus). Tesis FES-C. UNAM.
- Ashworth, J. M. 1976. Diferenciación celular. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España.
- Atkinson, B. and Mavituna, F. 1991. Biochemical Engineering and Biotechnology Hand Book. 2a. edition. Ed. Stockton Press. New York, USA.
- Banner, W. 1991. Ball Red Book. 15th Ed. Geo J. Ball. West, Chicago.
- Bernard, S. M. y Donald, B. A. 1976. Introducción a la Fisiología Vegetal. Ed. Universitaria de Buenos Aires.
- Boss, J. J. 1984. Dracaena in West Africa Agricultural University Wageningen.
- Castillo, Ma. A. 1988. Plantas de Interior de Fácil Cultivo. Tesis. Universidad Autónoma de N.L.

---

Carbajal, H. C. y Olmos, N. P. 1986. Obtención in vitro de embriones somáticos a partir de ovulos fecundados de Carica papaya L. y su ontogenia. Tesis. FES-C, UNAM.

Chua, B. V. and Kunisaki, J. and Sagawa, Y. 1981. Propagation of Dracaena marginata var. "tricolor". Hort Science 16(4):494.

Conger, B. V. 1987. Cloning agricultural plants via in vitro Techniques. 5a Ed. CRC Press. Florida.

Deberg, P. C. A. and Maene, L. J. 1990. Cordyline and Dracaena in: Hand book of plant cell culture. vol. V Sharp, W. R.;

Duran, G. J. 1993. Cultivo in vitro de Cordyline terminalis a partir de segmentos nodales Tesis FES-C UNAM

Grajales, M. O. 1990. Apuntes de Fisiología Vegetal. FES-C, UNAM.

Guevara, B. 1987. Memoria del II curso de cultivo de tejidos. IICA, Catieterrialba, Costa Rica.

- Hartman, H. T. y Kester, D. 1984. Propagación de plantas. Principios y prácticas. 4a edición. Cia. Ed. Continental, S.A. México.
- Hughes, W. K. 1982. Exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture systems. Environmental and experimental botany. vol. 24. ns. 314.
- Hurtado, V. D. 1991. Cultivo de tejidos vegetales. Ed. trillas. México.
- Jiri, V. H. 1988. Plantas de interior. Susaeta ediciones. Madrid.
- Esau, K. E. 1976. Anatomía Vegetal. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España.
- Kramer, J. 1992. The news gardener's.. Handbook and dictionary. John Wiley Sons, Inc. New York, USA.
- Larson, R. A. 1988. Introducción a la floricultura. AGT editor, S.A.
- Loma, L. 1963. Genética general y aplicada. UTEHA, A.S. de C.V.
- Marcotrigiano, M. 1990. Biotechnology in Agriculture and Forestry. vol. 11. Somaclonal variation in crop improvement. I. ed. by Y.P.S. Bajaj.

- Peter, M. R. 1975. La planta viviente. Cia. Editorial Continental, S.A. de C.V. México.
- Pierik, R. L. M. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Versión española. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Plumridge, J. 1976. How to propagate plants Lothian Publishing Co. PTY. LTD.
- Read, P. E. 1990. Enviromental effects in micropopagation in: Hand book of plant cell culture. vol. V Sharp,
- Rojas, G. M. 1987. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Noriega editores. Ed. Limusa. México, D.F. p 237 1a edición
- Schubert, M. and Harwing, R. 1980. Guía de las plantas de interior. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España.
- Thorpe, A. T. 1981. Plant tissue culture, methods and aplication in agriculture. Academic Press Alberta, Canadá.
- Vaughn, K. C. 1983. Chimeras and Variegation. Problems in propagation. Hort Science. vol. 12 (6):845- 847.

---

B. Bibliografía.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Vinterhalter, D. V. 1989. In vitro propagation on green foliated *Dracaena fragans* T. Plant cell Tissue and organ culture. 17:13-19.

Watkin, W. \_\_\_\_\_. Principios de Genética y Mejora de Plantas. Ed. Acribia.

Yeoman, M. M. 1986. Plant cell culture technology. Blackwell scientific publications.

\_\_\_\_\_ 1985. Cultivo de tejidos vegetales. Agricultura de las Americas. Año 6 no.34

Vidalie, H. 1986. Cultivo in vitro. Editorial científica. México. 190 p.