

EFFECTO MORFOGENETICO DEL PICLORAM EN APICES DE PEJIBAYE (*Guilielma gasipaes*) CULTIVADOS *in vitro*^{1/}*

Roberto Valverde **

Oscar Arias **

ABSTRACT

Morphogenetic effects of picloram on peach palm (*Guilielma gasipaes*) apices cultivated *in vitro*. The effect of five picloram levels: 0.06, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/L, on callus production of caulinar apices, was studied using a modified Murashige and Skoog medium. Tissue culture was performed under dark conditions during the first three months and then transferred into light conditions (46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}^*$) for an equal amount of time. Tissues were transferred monthly into fresh medium and removal of growth regulators was carried out at the beginning of the light incubation. The response to picloram concentrations was evaluated every four weeks; callus production was maximum at 0.5 and 4.0 mg/L. Callus obtained showed a marked variability in shape and consistency. However, the best results in callus appearance, though in low quantities, were observed at 2.0 mg/L. Callus obtained at 0.5 mg/L was bigger than that grown at 4.0 mg/L. Abundant growth was obtained with the latter concentration. Explant development was only detected at the lower concentration.

INTRODUCCION

Entre las palmas que se cultivan en la actualidad, una de las que presenta mayores beneficios por la gran cantidad de usos que se le conocen, es el pejibaye. Su fruto se utiliza para consumo de mesa y para la producción de harina, como posible sustituto del maíz en las raciones alimenticias para animales. El palmito, (corazón de la palma), es muy cotizado en el mercado internacional por su sabor y calidad; la madera se puede utilizar para parquet y para otros usos ornamentales.

La técnica del cultivo de tejidos ha permitido la propagación del pejibaye en condiciones *in vitro*; Arias y Huete (1983) demostraron que era posible obtener plantas por organogénesis, y que este fenómeno ocurría cuando se utilizaba una combinación de 2,4-D y 6-BAP. Posteriormente, se empleó picloram como fuente de auxina, en combinación con 6-BAP, y se logró la inducción de embriones somáticos a partir de ápices caulinares (Valverde *et al.*, 1987a).

Con el uso de auxinas sintéticas como el picloram, varios autores han logrado producir a gran escala, mediante organogénesis o embriogénesis somática, plántulas de cultivos como soya, té, *Gasteria* y frijol (Wright *et al.*, 1987; Frish y Camper, 1987; Beyl y Sharma, 1983; Hosfield y Saunders, 1986). Este fenómeno también parece ocurrir en pejibaye (Valverde *et al.*, 1987a), ya que se ha observado que aún sobre

^{1/} Recibido para publicación el 30 de marzo de 1989.

* Esta investigación se llevó a cabo con la ayuda de una subvención otorgada por el Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa, Canadá.

** Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

un mismo callo se forman embrioides y brotes de origen organogénico.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes dosis de picloram sobre la producción de callo a partir de ápices caulinares de pejibaye.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron plántulas de pejibaye de ocho semanas de edad, provenientes de semillas germinadas en el invernadero del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, según el método descrito por Mora (1979). Luego de la germinación, las semillas se colocaron en bandejas de fibra de vidrio, con vermiculita como sustrato y se mantuvieron allí durante ocho semanas. Después de este período se procedió a la eliminación de las raíces y parte de las hojas, hasta obtener una sección de aproximadamente 1,5 cm que se desinfectó de la siguiente manera: 1 min en etanol al 70%, 15 min en NaOCl al 2,5% con dos gotas de Tween 80 y tres enjuagues con agua destilada estéril. Con la disección, que se realizó en una cámara de flujo laminar, se obtuvo un ápice de 5 mm de largo por 3 mm de diámetro, que antes de colocarse en el medio de cultivo se mantuvo 3 seg en una solución de NaOCl al 0,5%.

El medio de cultivo empleado fue el MSCIA que consiste de las sales de Murashige y Skoog (1962), sustituyendo el NH_4NO_3 por 534,9 mg/L de NH_4Cl y aumentando a 2527,75 mg/L el KNO_3 ; en adición, el medio se suplementó con 0,4 mg/L de tiamina, 0,5 mg/L de ácido nicotínico, 0,5 mg/L de piridoxina, 100 mg/L de inositol, 500 mg/L de caseína hidrolizada, 1,0 g/L de glutamina, 120 mg/L de arginina, 2,0 g/L de glicina, 30,0 g/L de sacarosa, 1,6 g/L de gelrite y agua de coco al 15%.

Los tratamientos fueron los siguientes:

- a. 0,06 mg/L de picloram + 3 mg/L de 2ip
- b. 0,5 mg/L de picloram + 3 mg/L de 2ip
- c. 1,0 mg/L de picloram + 3 mg/L de 2ip
- d. 2,0 mg/L de picloram + 3 mg/L de 2ip
- e. 4,0 mg/L de picloram + 3 mg/L de 2ip
- f. 30,0 mg/L de 2,4-D + 5 mg/L de 6-BAP (testigo).

La dosis y el tipo de citocinina (3 mg/L de 2ip) fue la que en pruebas preliminares mostró ser

más eficiente en la producción de callo, al combinarla con otras auxinas.

Después de la inoculación en tubos de 18 mm X 150 mm, los explantes se incubaron durante tres meses a la oscuridad, con renovaciones mensuales del medio; al final de este período los tejidos se pasaron a un medio sin reguladores de crecimiento y a la luz, en una intensidad de 46 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, la cual fue una combinación de los tipos gro lux y cool white, con un fotoperíodo de 12 horas y una temperatura entre los 25 y los 28°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

A las cuatro semanas de cultivo, se observó un leve crecimiento del explante con la dosis de 0,06 mg/L de picloram, pero sin ningún indicio de formación de callo. A las ocho semanas, los tejidos en el tratamiento con 0,06 mg/L de picloram, habían duplicado su tamaño y en los tratamientos con 0,5 y 2,0 mg/L se observó el inicio de la formación de callo, que fue total a las 12 semanas de cultivo; también se encontraron gran cantidad de callos pequeños, pero muy uniformes en textura y color, con una apariencia general friable y casi cristalina con la dosis de 4 mg/L. A las 24 semanas se presentaron los mayores porcentajes de callo con las dosis de 0,5 y 4,0 mg/L de picloram (Figura 1). El callo, aparentemente, se formó del tejido subapical (Figura 2); un origen similar se observó con las dosis de 1,0 y 2,0 mg/L. Cabe destacar que con la dosis de 1 mg/L de picloram, la formación de callo fue visible hasta las 24 semanas.

La apariencia de los callos en cuanto a textura y color fue similar en los tratamientos con 1,0; 2,0 y 4,0 mg/L de picloram, donde se formaron callos friables y casi cristalinos; no así con el tratamiento de 0,5 mg/L donde el color fue cremoso y su aspecto compacto.

El resultado que se obtuvo cuando se aplicó 0,06 mg/L de picloram al medio, donde sólo hubo crecimiento del explante, difiere de lo observado en un trabajo previo (Valverde *et al.*, 1987a), en el cual se encontró que con esa concentración, se formaban callos con un gran potencial de multiplicación, a partir de los cuales se producían tanto brotes de origen organogénico como embrioides somáticos. La diferencia entre ambas respuestas se debe posiblemente al uso de 2ip en lugar de 6-BAP como se utilizó en el trabajo anterior.

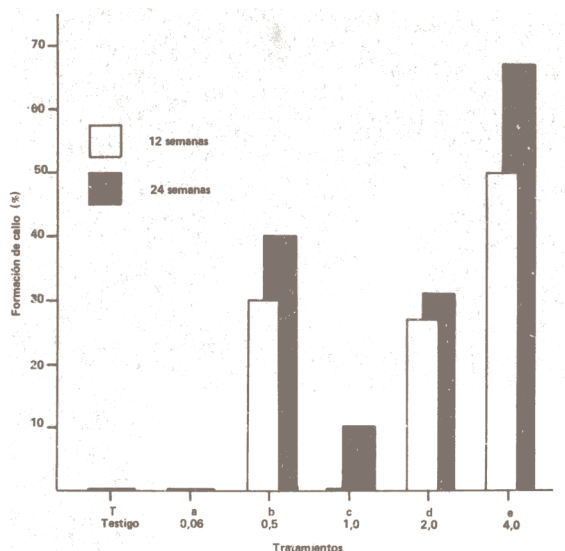


Fig. 1. Efecto de dosis crecientes de picloram sobre la producción de callo en ápices caulinares de pebibaye. T: Tratamiento testigo 30 mg/L 2,4 D, 5 mg/L 6-BAP; a,b,c,d,e: mg/L de picloran +3 mg/L de 2 ip.

Pareciera que en ápices, cuando se usan concentraciones inferiores a 0,1 mg/L de picloram, la formación de callo se favorece con la presencia en el mismo medio de cultivo de 6-BAP; al utilizar concentraciones superiores al 0,1 mg/L, la producción de callo es mayor si se suplementa el medio con 2ip (Pederson, 1986; Wright *et al.*, 1987).

En adición, el factor genético juega un papel de relevante importancia, ya que en trabajos anteriores con la misma palma (Pinedo, 1987; Stain, 1987; Valverde *et al.*, 1987a) se encontró, que aún cuando las condiciones de cultivo fueran iguales, la respuesta de los explantes era variable; se observó callos de diferente tipo, oxidación en diferente grado, casos esporádicos de organogénesis y/o embriogénesis y hasta ausencia de respuesta. Todo esto se atribuye al factor genético, en vista de que el material que sirvió como fuente de explantes, se produjo a partir de semilla, donde la heterogeneidad genética es alta.

Nótese que aunque los callos producidos con la dosis de 2,0 mg/L fueron grandes y de fácil separación, se produjeron en poca cantidad, en comparación con la dosis de 4,0 mg/L. Este resultado coincide con las observaciones de Beyl y Sharma (1983) quienes encontraron respuestas satisfactorias cuando usaron picloram en dosis de 2,0 y 3,0 mg/L, con lo que no sólo lograron la for-

mación de callo sino la inducción de embriogénesis somática en *Gasteria* y *Haworthia*.

Finalmente, cabe aclarar que el uso de auxinas sintéticas como el picloram, favorece la formación de callo y su posterior dediferenciación a plántulas (organogénesis o embriogénesis somática), en una gran cantidad de especies; el pebibaye parece responder en igual forma según se desprende de los resultados obtenidos en esta investigación y en trabajos anteriores (Valverde *et al.*, 1987a; 1987b).

RESUMEN

Se estudió el efecto de cinco concentraciones de picloram: 0,06; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 mg/L sobre la producción de callo en ápices caulinares de pebibaye (*Guilielma gasipaes*) en un medio de Murashige y Skoog modificado. Los tejidos se cultivaron tres meses en la oscuridad y tres meses en la luz, con renovaciones mensuales del medio y eliminación de los reguladores de crecimiento cuando se transfirieron a la luz. Se evaluó la respuesta de los cultivos cada cuatro semanas, observándose la mayor producción de callo con las dosis de 0,5 y 4,0 mg/L de picloram. Las características de los callos que se produjeron en cada tratamiento fueron variables; sin embargo, los de mejor apariencia se formaron con la dosis de 2,0 mg/L, aunque en baja cantidad; aquellos que crecieron en la dosis de 0,5 mg/L fueron de mayor tamaño que los de la dosis de 4,0 mg/L, donde hubo mayor cantidad pero de menor tamaño. Con 0,06 mg/L de picloram sólo se observó crecimiento del explante.

LITERATURA CITADA

- ARIAS, O.; HUETE, F. 1983. Propagación vegetativa *in vitro* del pebibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Turrialba 33(2):103-108.
- BEYL, C.; SHARMA, G. 1983. Picloram induced somatic embryogenesis in *Gasteria* and *Haworthia*. Plant, Cell, Tissue and Organ Culture (Netherlands) 2(2):123-132.
- FRISCH, C.; CAMPER, N. 1987. Effect of synthetic auxins on callus induction from tea steam tissue. Plant, Cell, Tissue and Organ Culture (Netherlands) 8(3):207-213.
- HOSFIELD, G.; SAUNDERS, J. 1986. Morphogenetic effects of 2,4-D, picloram, NAA and sucrose on Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaf explants. In International



Fig. 2. Efecto de dosis crecientes de picloram (mg/L) sobre la expresión morfológica de ápices caulinares de pejobaye cultivados *in vitro*.

- Congress of Plant Tissue and Cell Culture. (6., 1986, Minneapolis, Minn., EE.UU.). Abstracts. Minneapolis, Minn., EE.UU., University of Minnesota. p. 38.
- MORA, J. 1979. Método práctico para germinación de semillas de pejobaye. ASBANA (C.R.) 3(1):14-15.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1982. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* (Dinamarca) 15:473-487.
- PEDERSON, G. 1986. *In vitro* culture and somatic embryogenesis of four *Trifolium* species. *Plant Science* 45:101-104.
- PINEDO, M. 1987. Organogénesis directa en ápices caulinares de pejobaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 110 p.
- STEIN, K. 1988. *In vitro* culture of the pejobaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Tesis Mag. Sc. Iowa, EE.UU., Iowa State University. 187 p.
- VALVERDE, R.; ARIAS, O.; THORPE, T. 1987. Picloram-induced somatic embryogenesis in pejobaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.). *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture* (Netherlands) 10:149-156.
- VALVERDE, R.; GOMEZ, L.; ARIAS, O.; THORPE, T. 1987. Respuesta morfológica de los ápices de pejobaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.) cultivados *in vitro* en condiciones de luz y oscuridad. *Agronomía Costarricense* 11(1):97-102.
- WRIGHT, M.; WILLIAMS, M.; PIERSON, P.; CARNES, M. 1987. Initiation and propagation of *Glycine max*: plants from tissue-cultured epicotyls. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture* (Netherlands) 8(1):83-90.