

Efecto de reguladores ANA, BAP y KIN en la inducción de bulbillos a partir de escamas de azucena (*Lilium* sp.)

Effect of ANA, BAP and KIN regulators in the induction of bulbils from scales of lily (*Lilium* sp.)

Carlos Eduardo Millones¹, Juan Carlos Neri Chávez² y Hauber Ramos Muñoz²

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó para evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento ANA (Ácido naftalenacético), BAP (Bencilaminopurina) y KIN (kinetina) en la inducción de bulbillos a partir de escamas de azucena (*Lilium* sp.). Se emplearon bulbos de azucena de 4 cm de diámetro, los que fueron lavados, desinfectados y colocados en soluciones de reguladores de crecimiento ANA, BAP y KIN en diferentes concentraciones. Posteriormente, se colocaron las escamas en bolsas negras con sustrato PROMIX en un ambiente a temperatura de 25 °C. Los resultados de número, diámetro y longitud de bulbillos, número de raíces y longitud de raíces fueron procesados, empleando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) para Windows V8. Los resultados mostraron que empleando 100 ppm de ANA + 100 ppm de BAP, en escamas de azucena, se obtiene el mayor porcentaje de escamas con inducción de bulbillos además del mayor número de raíces en los bulbillos inducidos.

Palabras clave: Inducción, reguladores, *Lilium* sp, bulbillos.

ABSTRACT

This research work was conducted to evaluate the effect of growth regulator ANA, BAP and KIN on induction of bulbils from scales of lily (*Lilium* sp.). It used bulbs of lily of 4 cm in diameter; which they were washed, disinfested and placed in solutions of ANA, BAP and KIN growth regulator in different concentrations. Then, scales were placed in black bags with PROMIX substrate at a temperature of 25 °C; results about number, diameter and length of bulbils, number of roots and root length were processed using the statistical package SAS (Statistical Analysis System) for Window V8. The results showed that using 100 ppm of ANA + 100 BAP ppm on lily scales, it gets the highest percentage of scales with induction of bulbils, also the highest root number in inducted bulbils.

Keywords: Induction, Growth regulator, *Lilium* sp., bulbils.

¹Biólogo. Docente de la UNTRM. e-mail: carlos.millones@untrm.edu.pe

²Ingeniero Agrónomo. Investigador del INDES-CES, UNTRM.

³e-mail: e-mail: juan.neri@untrm.edu.pe ⁴e-mail: hramos@indes-ces.edu.pe

I. INTRODUCCIÓN

El género *Lilium* incluye alrededor de 100 especies que son nativas tanto de Norte América como de Europa y Asia. Existe una gran diversidad dentro de estas especies con respecto a la arquitectura de la planta, formas de las flores, colores, tamaños, fragancias y morfologías del bulbo. Los cultivares, comúnmente populares, son originarios del Japón y China (Benschop *et al.*, 2010).

El *Lilium* es una flor de corte y de maceta muy apreciada por el consumidor, lo que asegura una buena demanda en el mercado. En Colombia, actualmente, los cultivos de *Lilium* se establecen, principalmente, en la sabana de Bogotá y Antioquia. Las exportaciones de estas van dirigidas principalmente al mercado norteamericano (Castro y Londoño, 2008).

El bulbo es una estructura que consiste en un tallo axial corto, carnoso y vertical, que lleva en su ápice un meristema o primordio floral, encerrado por escamas gruesas y carnosas. Es un órgano de reserva y es producido por plantas monocotiledóneas. Las escamas exteriores son carnosas y contienen nutrientes de reserva. En las axilas de estas escamas se desarrollan meristemas, que producen bulbos en miniatura, llamados bulbillos que, cuando alcanzan su tamaño completo, son llamados hijuelos (Hartmann y Kester, 1997).

Se han desarrollado muchas investigaciones referentes a la regeneración de bulbillos a partir de escamas (Varshney *et al.*, 2003). En la actualidad, los métodos de multiplicación para bulbos tunicados y no tunicados son: a) división de bulbos jóvenes, al ser cosechados muchos bulbos madre se encuentran acompañados de pequeños bulbos cuyo número es variable, y permanecen adheridos al bulbo madre por varios años. Este método puede ser usado en varios géneros cuyo número de bulbillos es suficiente, tales como *Tulipan*, *Lillium*, *Narcissus*; b) escamado, es un método importante de propagación de bulbos principalmente no tunicados, que consiste en utilizar escamas aisladas o escamas gemelas como propágulo; c) cultivo *in vitro*, tiene una amplia gama de aplicaciones según el objetivo e involucra la utilización de diversos órganos o tejidos de la planta, incluso la utilización de células. El género *Lilium*, al poseer un bulbo escamoso no tunicado, mantiene un sistema de propagación artificial a

través de la formación de bulbillos mediante escamas (García, 2002). El escamado consiste en separar del bulbo madre las escamas individuales, colocándose en condiciones de crecimiento adecuados y formándose bulbillos adventicios en la base de cada escama (Hartmann y Kester, 1997). Asimismo, la aplicación de las técnicas de cultivo *in vitro* a partir de la siembra de meristemas ofrece múltiples ventajas, entre ellas, la de recuperar el vigor y la productividad de las plantas y, a su vez, puedan contribuir a la producción de 'semilla' de alta calidad, debido a que permite la propagación de plantas libres de virus y cualquier otro patógeno (Albarrán *et al.*, 2003).

La azucena es una planta de importancia económica por su flor blanca grande y de fragancia característica. Es cultivada en las zonas alto andinas de la región Amazonas, principalmente en la localidad de Taquia, distrito y provincia de Chachapoyas. Cabe destacar que el cultivo es de buena aceptación en el mercado nacional e internacional, siendo altamente rentable (Arriaga *et al.*, 2009). Sus flores abastecen mercados locales y de la costa. Los productores de azucena de la región Amazonas manifiestan una dificultad en la disponibilidad de semilla, durante todo el año; además de pureza varietal y fitosanitaria, requiriendo. Por tanto, se hace necesario el desarrollo de tecnologías que ayuden a propagar semillas de buena calidad y disponibles durante todo el año. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento ANA, BAP y KIN en la inducción de bulbillos a partir de escamas de azucena (*Lilium* sp.).

II. MATERIAL Y MÉTODOS

En la presente investigación, se emplearon bulbos de azucena procedentes de campos de cultivo de productores de la localidad de Taquia, distrito y provincia de Chachapoyas, región Amazonas, los que fueron llevados al Laboratorio de Biología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas para los ensayos respectivos. Los bulbos de azucena fueron seleccionados de las mejores plantas madres, manejadas durante tres meses para realizar su control sanitario y abonamiento. Luego, se procedió a retirar los bulbos de las plantas seleccionadas por tama-

ño homogéneo, de 4 a 5 cm de longitud y de 4 cm de diámetro, teniendo en cuenta el aspecto y adecuado estado fitosanitario.

Los bulbos fueron lavados con agua corriente para eliminar los restos de tierra. Posteriormente, se sumergieron en una solución de lejía (Hipoclorito de sodio) al 10%, durante 30 minutos para su desinfección. Luego, se enjuagaron con agua corriente hasta remover por completo los restos de lejía. Una vez desinfectados los bulbos, se procedió a retirar las escamas de la periferia del bulbo madre y, nuevamente, fueron colocados en solución de lejía (Hipoclorito de sodio) al 5%, enjuagándose con agua. Finalmente, fueron colocados en soluciones de reguladores de crecimiento por 30 minutos, de acuerdo a los tratamientos planteados en la Tabla 1.

Después del tratamiento con reguladores de crecimiento, se colocaron 10 escamas en bolsas negras que contenían sustrato PROMIX y se introdujeron en contenedores plásticos, manteniéndose durante todo el experimento en un ambiente con temperatura de 25 °C. Para la evaluación del diámetro, longitud y número de bulbillos inducidos, número y longitud de raíces, se empleó un Diseño Completamente al Azar, con 15 tratamientos y un testigo, empleándose 10 escamas por tratamiento. En las comparaciones de medias de los tratamientos con el testigo, se empleó la prueba "C de Dunnett" al 95% de confianza. Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) para Window v.8.

Tabla 1. Efecto de los reguladores ANA, BAP y KIN en la inducción de bulbillos a partir de escamas de azucena (*Lilium sp.*) a la octava semana de evaluación¹.

Trat.	Reguladores de crecimiento (ppm)			% de escamas con inducción de bulbillos	Nº de bulbillos	Diámetro de bulbillos	Longitud de bulbillos	Nº de raíces	Longitud de raíces
	ANA	BAP	KIN						
Test.	----	----	----	60	1,56 a	0,75 a	0,87 a	2,75 a	4,44 a
T ₁	100	---	----	85	1,89 a	0,70 a	0,94 a	4,44 a	3,92 a
T ₂	200	---	----	45	1,67 a	0,87 a	1,04 a	4,33 a	4,11 a
T ₃	400	---	----	50	1,56 a	0,68 a	0,96 a	3,56 a	4,39 a
T ₄	100	100	----	95	2,10 a	0,90 a	1,06 a	6,00	3,66 a
T ₅	100	200	----	40	1,40 a	0,73 a	0,78 a	3,50 a	3,30 a
T ₆	200	100	----	60	1,60 a	0,72 a	0,73 a	4,50 a	4,59 a
T ₇	200	200	----	55	1,86 a	0,47 a	0,69 a	3,43 a	2,64 a
T ₈	400	100	----	55	1,89 a	0,76 a	0,80 a	3,29 a	3,78 a
T ₉	400	200	----	45	1,63 a	0,58 a	0,68 a	2,75 a	3,10 a
T ₁₀	100	----	100	40	1,57 a	0,61 a	0,87 a	2,50 a	3,21 a
T ₁₁	100	----	200	40	1,33 a	0,64 a	0,73 a	2,11 a	3,77 a
T ₁₂	200	----	100	45	1,11 a	0,52 a	0,68 a	1,22 a	2,83 a
T ₁₃	200	----	200	70	1,40 a	0,81 a	0,65 a	2,60 a	4,12 a
T ₁₄	400	----	100	50	1,50 a	0,83 a	0,73 a	2,78 a	3,13 a
T ₁₅	400	----	200	45	1,50 a	0,67 a	0,68 a	2,25 a	3,27 a

Medias seguidas por la letra "a" no se diferencian con el testigo de acuerdo a la prueba C de Dunnett al 5% de probabilidad.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestra el efecto de los reguladores de crecimiento ANA, BAP y KIN en la inducción de bulbillos adventicios, a partir de escamas de bulbos de azucena (Figura 1). El mayor porcentaje de escamas con inducción de bulbillos se registró en los tratamientos T₄ (95%) y T₁₁ (85%), superando al testigo, en el que se obtuvo un 60% de inducción (Tabla 1). Los tratamientos T₄ y T₁₁ también registraron el mayor número de bulbillos por escamas con respecto al testigo (Figura 2), aunque la prueba no fue significativa (Tabla 1). Fehlandt (1998) empleó 0,1 mg/L de ANA y 0,01 mg/L de BAP, obteniendo 2,2 bulbillos por escama de azucena en condiciones *in vitro*. Similares resultados fueron obtenidos en el presente trabajo, al emplear 100 ppm de ANA y 100 ppm de BAP pero en condiciones *in vivo*, logrando obtener 2,1 bulbillos por escama. Skoric *et al.* (2012) registró un 96,82 % de escamas con inducción de bulbillos en *Lilium artagon var. cattaniae*, cuando empleó 0,5 mg/L de AIA y 0,2 mg/L de BAP en condiciones *in vitro*. Análogos resultados fueron obtenidos en este trabajo, cuando se empleó 100 ppm de ANA y 100 ppm de BAP se obtuvo un 95% de escamas con inducción de bulbillos. Al respecto, Roman y Ester (2001) determinaron que los cultivares, en función de las variedades, responden de manera distinta, según el nivel de fitohormonas.

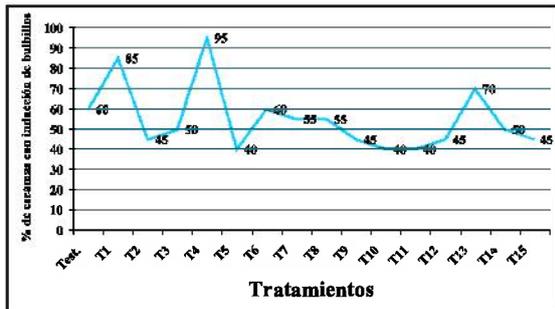


Figura 1. Efecto de los reguladores ANA, BAP y KIN en el porcentaje de escamas con inducción de bulbillos, a partir de escamas de azucena a la octava semana de evaluación.

El tratamiento T4 registró el mayor número de raíces con respecto al testigo (Figura 3), siendo la prueba significativa. En tanto, en los parámetros de diámetro y longitud de bulbillos, así como longitud de raíces, no se registraron diferencias significativas con respecto al testigo (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Gil (2015), quien menciona que los tratamientos con la variable diámetro de flor mostraron diferencias significativas. Para las variables longitud de tallo y diámetro de tallo no existieron diferencias significativas. Este mayor número de raíces, registrado en el tratamiento T4, permitiría un mejor establecimiento en campo durante las primeras etapas de desarrollo de los bulbillos.

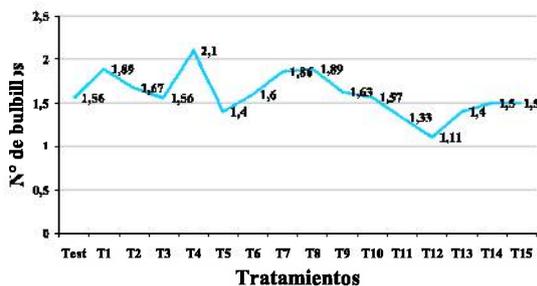


Figura 2. Efecto de los reguladores ANA, BAP y KIN en el número de bulbillos a partir de escamas de azucena a la octava semana de evaluación.

En cuanto a los tratamientos donde se adicionó KIN, los resultados fueron muy similares al testigo en cuanto a número, longitud y diámetro de bulbillos, y raíces. Este comportamiento es similar a los resultados obtenidos por Rodríguez *et al.* (2000), quien indica que la adición de KIN a concentraciones altas (2 y 5 mg/L)

genera el medio más eficiente para la regeneración de plantas; sin embargo, aún en los medios de mejor comportamiento, el número de brotes regenerados es bajo. Por otra parte, estos datos contrastan con el estudio realizado por Chamorro *et al.*, (2007), quien indica que para el manejo comercial sobre la multiplicación *in vitro* de *Limonium 'Misty blue'* se recomienda BAP o KIN a 0,5 mg · L⁻¹ cada una. Esto se explica porque el BAP ofrece una tasa de multiplicación que oscila entre 2,8 y 3,1, y la KIN entre 2,2 y 2,3 en un periodo de cuatro semanas. Finalmente, en un estudio realizado por Espinosa *et al.* (2007) en que utilizaron los mismos reguladores (ANA, BAP y KIN) sobre *Laelia anceps*, las plántulas fueron aclimatizadas en el invernadero con un 100% de tasa de sobrevivencia, después de tres meses.

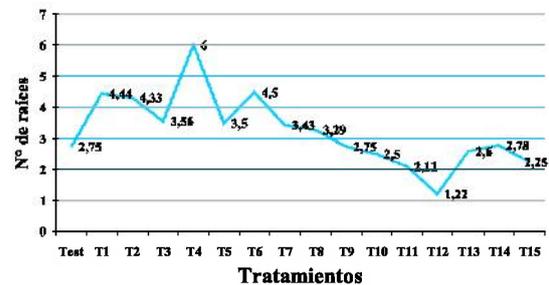


Figura 3. Efecto de los reguladores ANA, BAP y KIN en el número de raíces a partir de escamas de azucena (*Lilium sp.*) a la octava semana de evaluación.

IV. CONCLUSIONES

Luego de utilizar 100 ppm de ANA, 100 ppm BAP (T4) y 100 ppm ANA (T1), se registraron los más altos porcentajes de escamas con inducción de bulbillos en *Lilium sp.* Asimismo, el empleo de 100 ppm de ANA y 100 ppm BAP (T4) registró el mayor número de raíces por bulbo inducido, comparado con el testigo sin reguladores de crecimiento.

Por tanto, y a diferencia de otros estudios, se determina que las variedades de la misma especie responden diferente a la misma condición de cultivo. Además, es necesario mencionar que el tratamiento T4 es el más indicado para su instalación en campo definitivo, en relación a su futura y eficiente comercialización.

La mezcla de ANA y BAP o solamente la adición de

ANA son los responsables de la inducción, tanto de bulbillos y raíces en la multiplicación, denotándose como un factor de estos procesos fisiológicos, mediante las reacciones químicas que se producen dentro de los tejidos de la planta.

Finalmente, el presente estudio nos indica que la aplicación de concentraciones adecuadas de ANA y BAP, en conjunto con las funciones específicas que estas hormonas cumplen, dan origen a la inducción de bulbillos y raíces; obteniéndose, en menor tiempo, plantas viables para ser llevadas a campo, de manera definitiva.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarrán, J., F. Fuenmayor & M. Fuchs. *Propagación clonal rápida de variedades comerciales de yuca mediante técnicas biotecnológicas*. 2003.
- Arriaga, R., V. Olalde, B.G. Reyes & González. «Influencia de *Glomus fasciculatum* en el crecimiento y desarrollo de *Lilium* spp. cv orange pixie.» *Agricultura técnica en México*, 2009: 35(2), 201-210.
- Benschop, M., R. Kamenetsky, M. Le Nard & H. Okubo. «The global flower industry: production, utilization, reserach». *Horticulture Reviews*, 2010: 36. 116pp.
- Castro, D., & S. Londoño. *Producción in vitro de microbulbos de lirio (Lilium sp)*. *Temas Agrarios*, 13(1). 2008.
- Chamorro, J., S. L. Martínez & J. Fernández. *Evaluación de diferentes concentraciones de algunos reguladores de crecimiento en la multiplicación y enraizamiento in vitro de Limonium var Misty blue*. Colombia, 2007.
- Espinosa, H., A. L. Cerda & J. M. González. *Regeneración in vitro de Laelia anceps ssp. dawsonii*. *Revista Científica UDO Agrícola*, 2007.
- Fehlandt, S. *Propagación in vitro y aclimatación de tres cultivares híbridos asiáticos de Lilium x hybridum Hort*. Tesis Lic. Agr. Valdivia Chile: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, 1998.
- García, X. *Efecto del sustrato y del tamaño de la escama en la inducción de bulbillos de siete cultivares de Lilium x hybridum Hort*. Chile: Universidad Austral de Chile, 2002.
- Gil, A. *Producción de lilies (Lilium spp.) con porcentajes de solución nutritiva steiner en invernadero*. 2015.
- Hartmann, H. & Kester. «Propagación de plantas, principios y prácticas». *Continental, S.A. México*, 1997: 760p.
- Rodríguez, A., Z. Mayor & O. P. Díaz. *Estudio de la variabilidad inducida en células y plántulas de cebolla (Allium cepa, L.) cv. Caribe-71 regeneradas in vitro*. *Biotecnología Aplicada*, 17(4), 241-246, 2000.
- Roman, S. & B. Ester, *Propagación de cinco cultivares de Lilium híbridos mediante cultivo in vitro a partir de estructuras florales*. 2001.
- Skorić, M., M. Živković, B. Savić, J. Šiler & Sabo. «Efficient one-step tissue culture protocol for propagation of endemic plant.» *Lilium artagonvar cattaniae Vis*, 2012.
- Varshney, A., V. Dhawan & P. S. Srivastava. *A protocol for in vitro mass propagation of Asiatic hybrids of lily through liquid stationary culture*. 2003.