

**RESULTADOS PRELIMINARES DEL CULTIVO *IN VITRO* DE  
PARAÍSO GIGANTE (*Melia azedarach* L. var. *gigantea*)  
MEDIANTE YEMAS AXILARES**

*Preliminar results of in-vitro culture of giant Chinaberry tree (*Melia azedarach* var. *gigantea*) from axillar buds*

**L. Taboada<sup>1</sup>**

**M. Gulotta<sup>1</sup>**

**C. López<sup>1</sup>**

**RESUMEN**

El paraíso gigante constituye un material genético de interés para la provincia de Santiago del Estero por su rapidez de crecimiento y las características tecnológicas de su madera. El objetivo de este trabajo es perfeccionar la técnica del cultivo *in vitro* de yemas axilares de este material con el fin de propagarlo clonalmente, ensayando y adaptando los protocolos previamente establecidos y mejorando algunos aspectos del pasaje a tierra. Para este fin fueron ensayados 30 combinaciones hormonales de IBA, BAP y GA<sub>3</sub> utilizando, como medio básico, el formulado de Murashige y Skoog (1962) en la "etapa I". Los tratamientos seleccionados en esta etapa fueron: T1 (0,00 mg// de IBA + 0,50 mg// de BAP) y T2 (0,01 mg// de IBA + 0,50 mg// de BAP). En la "etapa II" se utilizó el medio T2 y posteriormente se subcultivó al T1, no observándose variación en la tasa de multiplicación que fue de 3:1.

**Palabras clave:** Paraíso gigante, cultivo *in*

**ABSTRACT**

Giant Chinaberry tree constitutes a genetic material of interest for the Province of Santiago del Estero because of its fast-growing and the technological characteristics of its wood. The objective of this paper is to enhance the technique of *in-vitro* culture of axillar buds of such a material in order to propagate it clonally, testing and adapting previously established protocols and improving some aspects of ground implant. For this purpose, 30 hormone combinations of IBA, BAP and GA<sub>3</sub> were tested, utilizing the Murashige and Skoog (1962) formula as a basic medium in "stage I". The selected treatments in this stage were T1 (0,00 mg// of IBA + 0,50 mg// of BAP) and T2 (0,01 mg// of IBA + 0,50 mg// of BAP). In "stage II" T2 medium was used and later the material was sub-cultivated to T1. No variation was observed in the multiplication rate, which was 3:1.

**Key Words:** Giant Chinaberry tree,

**1. INTRODUCCIÓN**

Entre las especies exóticas que se adaptan a la provincia de Santiago del Estero, el paraíso gigante es una de las más importantes por su rapidez de crecimiento, las

<sup>1</sup> Instituto de Silvicultura y Manejo de Bosques, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Av. Belgrano (S) 1912, 4200 Santiago del Estero, Argentina.

características tecnológicas de su madera y, consecuentemente, su precio y demanda en el mercado.

Esta especie se propaga habitualmente por semilla; sin embargo, esta metodología conduce a una gran variabilidad en las plantaciones. Por otro lado, la heterogeneidad entre individuos coetáneos y la sensibilidad a las heladas son dos inconvenientes que disminuyen la rentabilidad en las plantaciones (Domecq, 1985). El cultivo *in vitro* permitiría paliar estos inconvenientes a través del clonado de ejemplares seleccionados respecto a características asociadas con la producción.

El cultivo *in vitro* de yemas de paraíso gigante fue realizado por diversos investigadores en el ámbito de nuestro país, lográndose distintos grados de eficiencia. Sin embargo, para implementar un plan de propagación masiva, es necesario seleccionar los genotipos mejor adaptados a las condiciones de la región. Esto implicará adaptar y ensayar los protocolos previamente establecidos y mejorar algunos aspectos del pasaje a tierra.

Los antecedentes más recientes relacionados con esta metodología lo constituyen los trabajos de Domecq (1988, 1985) en los cuales se acota la técnica de cultivo *in vitro* de yemas axilares y se ensayan distintos métodos de enraizamiento. Existen otros trabajos sobre este tipo de cultivo y enraizamiento de estacas, referidos a paraíso y otras especies forestales, realizados en el país (Dehle, 1985; Marcavillaca, 1987; etc.),

En este contexto, el objetivo de este trabajo es desarrollar o perfeccionar la técnica de cultivo *in vitro* de yemas axilares de paraíso gigante como un medio de propagar clonalmente esta especie.

Este proyecto prevé ensayar y adaptar los protocolos previamente establecidos y mejorar algunos aspectos del pasaje a tierra.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo forma parte de un plan de investigación elaborado en forma conjunta entre el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto de Silvicultura y Manejo de Bosques (INSIMA) de la Universidad Nacional de Santiago del Estero y el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional del Nordeste. Incluye la investigación de una especie nativa y una exótica, representadas en este caso por *Prosopis alba* Griseb y *Melia azedarach* L. var. *gigantea*, respectivamente.

El material vegetal para el presente ensayo se extrajo de ejemplares seleccionados provenientes de una plantación de paraíso gigante, ubicada en la localidad de El Zanjón, Prov. de Santiago del Estero, en terrenos pertenecientes al INSIMA.

La metodología utilizada comprende:

### Desinfección:

- \* Lavado con agua corriente + 1% de Tritón-x100 durante 15 minutos (en agitación).
- \* Pasaje por alcohol etílico 70% durante 3 minutos.
- \* Pasaje por solución de hipoclorito de sodio (2% de cloro activo) + 0,1% de Tritón x 100 durante 20 minutos.

\* Enjuague 3 veces con agua estéril bidestilada.

Como medio básico se utilizó el formulado de Murashige y Skoog (1962). El cultivo se realizó a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con fotoperíodo de 16 horas suministrado por tubos fluorescentes de tipo luz-día, con irradiancia de aproximadamente  $2,5\text{ W/m}^2$ . El pH de los medios se ajustó a 5,7 y se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 1,013 bar.

El ensayo fue establecido en primavera según un diseño factorial completamente aleatorizado, con 7 repeticiones y 30 tratamientos, resultantes de la combinación de 5 concentraciones de IBA [4-(3-indolilo) butírico] 3 de BAP (6- bencilaminopurina) y 2 de  $\text{GA}_3$  (ácido giberélico), abarcando las etapas que se describen a continuación:

**Etapla I:** Se utilizaron tubos de ensayo de 1,5 x 12 cm con 10 ml de medio cada uno y las concentraciones de hormonas utilizadas fueron: 0,00; 0,01; 0,05; 0,10 ó 0,50 mg/l de IBA como auxina, combinadas con 0,50; 0,25 ó 0,10 mg/l de BAP como citocinina, y 0,0 ó 0,10 mg/l de  $\text{GA}_3$  según la tabla 1.

**Etapla II:** Se emplearon frascos de 5 x 10 cm con 30 ml de medio cada uno, adicionados con 0,01 mg/l de IBA y 0,50 mg/l de BAP por un lado, y 0,00 mg/l de IBA y 0,50 mg/l de BAP por el otro, correspondientes a los medios T2 y T1 respectivamente, que resultaron seleccionados de la etapa I.

Evaluación del ensayo

En la primera etapa se evaluó mortandad (%), contaminación (%), crecimiento del explanto (expresado en mm y medido entre la base y el extremo del primordio foliar más largo), número de vástagos, proliferación del callo basal y normalidad del fenotipo (la forma de hoja fue caracterizada mediante categorías subjetivas que se corresponden con una escala numérica de 1 a 5).

Para el análisis de los resultados se tuvo en cuenta básicamente el crecimiento del explanto, el número de vástagos y el fenotipo de las hojas; es así que tratamientos que presentaban buen crecimiento y apreciable número de vástagos, fueron eliminados debido a su marcada anormalidad foliar.

Cabe destacar que los tratamientos con  $\text{GA}_3$  fueron eliminados debido a que los explantos resultaron todos anormales con folíolos y vástagos extremadamente alargados y débiles.

Los explantos que superaron los 10 mm de altura fueron transferidos a la etapa siguiente. En la segunda etapa se evaluó la tasa mensual de multiplicación. Los explantos que superaron los 20 mm de altura se utilizaron en la tercera etapa.

### Análisis estadístico

Se efectuó el análisis de la varianza de los datos medidos de las variables contempladas en la etapa I. Los datos correspondientes a la forma de hoja y número de vástagos, fueron transformados para verificar el cumplimiento de los presupuestos del ANAVA y aumentar la eficiencia de la prueba de "F". Paralelamente se realizó una comparación múltiple de medias a través de Duncan, para estudiar la significancia en el ordenamiento producido.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las cuatro etapas que involucra esta técnica, se reportan datos de las dos primeras, ya que en la etapa III ocurrió una gran contaminación atribuible a fallas operacionales. Se intentó el enraizamiento con IBA en dos fases (inducción y alargamiento), lográndose emisión y crecimiento de raíz en algunos casos, cuyo número no fue representativo.

#### Resultados del análisis la de variancia

La tabla 2 muestra la significancia de la prueba de "F" para los caracteres considerados, y la tabla 3 el ordenamiento de los tratamientos producido por Duncan.

El carácter forma de hoja manifiesta un comportamiento diferencial en los distintos medios utilizados; destacándose los tratamientos T1 y T2, en oposición al T4 que manifiesta un desempeño desfavorable.

Respecto al crecimiento del explanto se muestran superiores los tratamientos T15, T2 y T9.

En relación al número de vástagos, los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos T1, T2 y T6.

No se observaron diferencias significativas con respecto al tamaño de callo por lo cual no fue considerada como variable discriminante.

Sin embargo, la selección de los mejores tratamientos implica la evaluación conjunta de los caracteres considerados. En este sentido los tratamientos T2 y T1 son los que resuelven mejor esta situación de compromiso ya que muestran buen desempeño en cuanto a forma de hojas y número de vástagos y un crecimiento razonable; en comparación con el T15 que presenta el mejor crecimiento, pero menor desempeño en los restantes caracteres. Consideraciones semejantes a esta última son aplicables a los restantes tratamientos (Figura 1).

Fueron observados bajos niveles de contaminación y mortandad según revela en la tabla 4. Todos los explantos sobrevivientes de la etapa I se subcultivaron al medio T2 para iniciar la etapa II independientemente del medio original. La tasa de multiplicación fue de 3:1. Posteriormente se subcultivaron al medio T1 y no se observó variación en los resultados, pero disminuyó la formación de callo basal.

### 4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten arribar a la siguiente conclusión:

\* Las combinaciones hormonales T1(0,00 mg/l de IBA y 0,50 mg/l de BAP) y T2 (0,01mg/l de IBA y 0,50 mg/l de BAP) son las más convenientes para las etapas de crecimiento y multiplicación.

**Tabla 1.** Combinaciones hormonales probadas

| BAP   | IBA      |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
|   | 0,00     | 0,01     | 0,05     | 0,10     | 0,50     |
| 0,5   | T1 T1*   | T2 T2*   | T3 T3*   | T4 T4*   | T5 T5*   |
| 0,25  | T6 T6*   | T7 T7*   | T8 T8*   | T9 T9*   | T10 T10* |
| 0,1   | T11 T11* | T12 T12* | T13 T13* | T14 T14* | T15 T15* |
| * (corresponde a tratamientos adicionados con GA <sub>3</sub> ) |          |          |          |          |          |

**Tabla 2.** Significancia de la Prueba de "F"

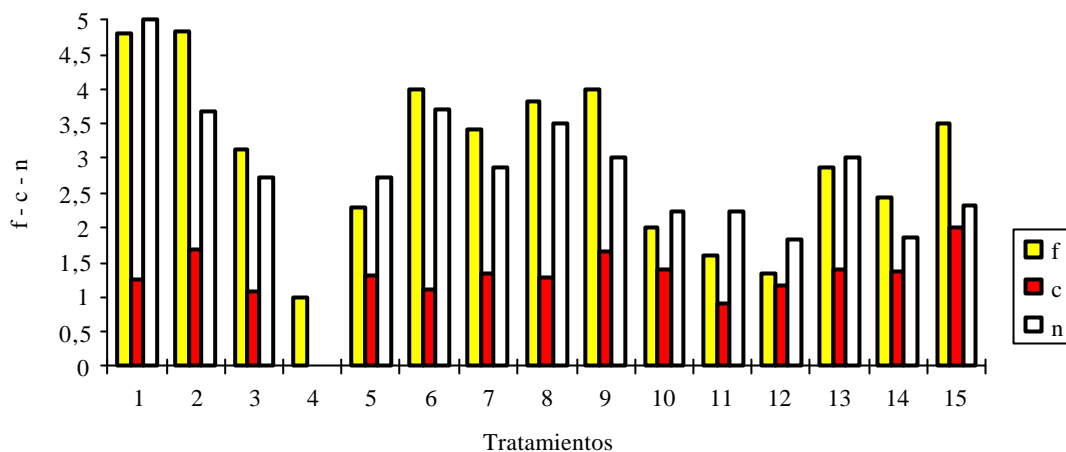
|               |                        |
|---------------|------------------------|
| Carácter      | Pr > F                 |
| Tamaño callo  | 0,6119 <sup>n.s.</sup> |
| Forma de hoja | 0,0001 <sup>**</sup>   |
| Crec.         | 0,4347 <sup>n.s.</sup> |
| N. vástgos    | 0,0110 <sup>**</sup>   |

**Tabla 3.** Ordenamiento de los tratamientos obtenidos mediante el Test de Duncan

| Forma de hoja |   |   |   |       | Número de vástagos |  |   |   |       |    |
|---------------|---|---|---|-------|--------------------|--|---|---|-------|----|
| DUNCAN        |   |   |   | Trat. | DUNCAN             |  |   |   | Trat. |    |
|               |   | A |   |       | 2                  |  | A |   |       | 1  |
|               |   | A |   |       | 1                  |  | A | B |       | 2  |
|               |   | A | B |       | 6                  |  | A | B | C     | 8  |
|               |   | A | B |       | 9                  |  | A | B | C     | 6  |
|               |   | A | B | C     | 8                  |  | D | B | C     | 9  |
|               | D | A | B | C     | 15                 |  | D | B | C     | 13 |
|               | D | A | B | C     | 7                  |  | D | B | C     | 3  |
| E             | D |   | B | C     | 3                  |  | D | B | C     | 7  |
| E             | D |   | B | C     | 13                 |  | D | B | C     | 5  |
| E             | D |   |   | C     | 14                 |  | D | B | C     | 10 |
| E             | D |   |   |       | 10                 |  | D | B | C     | 15 |
| E             |   |   |   |       | 5                  |  | D | B | C     | 11 |
|               |   |   |   |       | 11                 |  | D |   | C     | 14 |
|               |   |   |   |       | 12                 |  | D |   |       | 12 |
|               |   |   |   |       | 4                  |  |   |   |       | 4  |

**Tabla 4.** Mortandad y contaminación

| Expl. muertos | % | Explantos contamin. | %  | Expl. viables | %  |
|---------------|---|---------------------|----|---------------|----|
| 9             | 4 | 23                  | 11 | 178           | 85 |



**Figura 1.** Medias por tratamiento de las variables forma de hoja (f), crecimiento del explanto en mm (c) y número de vástagos (n)

## 5. AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Esther Casenave de Sanfilippo por su apoyo y asesoramiento.  
Al Ing. Daniel Werenitzky por su colaboración.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Dehle, R. 1985 Cultivo *in vitro* de tejidos de paraíso gigante (*M. azedarach* L. y de cedro misionero (*C. fissilis* Vell. = *C. tubiflora* Bert.). (Tesis de graduación)
- Domecq, C. 1985 Propagación en gran escala de paraíso gigante (*M. azedarach* L. var. *gigantea* mediante el cultivo *in vitro* de ápices caulinares. *Phyton*
- Domecq, C. 1988 Cultivo *in vitro* de yemas axilares de paraíso gigante (*M. azedarach* L. var. *gigantea*). *Phyton*.
- Marcavillaca, M. 1987 Método de multiplicación de paraíso gigante (*M. azedarach* L. var. *gigantea* cv. *Garrasino* INTA y M. Toosendan S. *et Z.*). Simposio 1987 (CIEF).

