

Determinación de los Efectos del Pectimorf y C-751 Sobre la Multiplicación de Brotes de *Anthurium andreanum* Propagados en Biorreactores de Inmersión Temporal

Alejandra Lara¹, Osbel Mosqueda² y Justo González-Olmedo²

Resumen. La micropropagación de plantas ornamentales es el sector de mercado más atractivo para los laboratorios comerciales que aplican las tecnologías del cultivo *in vitro* de especies vegetales. Uno de estos es el *Anthurium*, su oferta y demanda como flor de corte crece todos los años. El Centro de Bioplantitas de la Universidad de Ciego de Ávila tiene mucho interés en la producción de *Anthurium*, para satisfacer esta demanda. Otro aspecto de singular importancia lo constituye el estudio de reguladores del crecimiento para hacer más eficientes los sistemas de propagación empleados, de ahí que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de tres concentraciones de Pectimorf y una concentración de C-751 en la calidad y coeficiente de multiplicación en *Anthurium*. Las concentraciones de Pectimorf utilizadas fueron 5, 10 y 15 mg L⁻¹ y 1 mg L⁻¹ de C-751 en forma individual y las mismas concentraciones combinadas con 8,9 µmol L⁻¹ BAP, además de un tratamiento con sólo BAP que fue el testigo. Se encontró que al utilizar 5 y 10 mg L⁻¹ Pectimorf + 8,9 µmol L⁻¹ BAP, aumenta el coeficiente de multiplicación, y mejora la calidad (altura, masa fresca y masa seca). No se encontró diferencia significativa en el número de hojas. En cuanto al C-751, se demostró que al combinarse con BAP mejoraron la calidad, y aumento el coeficiente de multiplicación.

Palabras clave: BAP, coeficiente de multiplicación, nuevos reguladores del crecimiento

Abstract. The micropropagation of ornamental plants is the most attractive market for commercial laboratories that utilize *in vitro* plant culture. Species of *Anthurium* are some of the most valuable ornamental plants used as cut flowers, with supply and demand growing yearly. The Bioplant Center of the Universidad de Ciego de Ávila is interested in the production of *Anthurium* to satisfy this demand. One important aspect is the study of growth regulators to make propagation systems more efficient. The objective of the present work was to determine the effect of three concentrations of Pectimorf and one concentration of C-751 on plant quality and multiplication rate of *Anthurium*. Experimental concentrations of Pectimorf were 5, 10 and 15 mg L⁻¹. C-751 was studied at the concentration of 1 mg L⁻¹ alone and at 5, 10 and 15 mg L⁻¹ in combination with 8.9 µmol L⁻¹ of 6-benzyloaminopurine (BAP). Control treatment was BAP alone. Multiplication rate increased and plant quality (height, fresh weight, and dry weight) improved with 5 and 10 mg L⁻¹ Pectimorf + 8.9 µmol L⁻¹ BAP, but there was no significant difference between this treatment and 5 mg L⁻¹ Pectimorf + 8.9 µmol L⁻¹ BAP. No significant differences in number of leaves were detected among treatments. C-751 combined with BAP was shown to improve plant quality and increase the multiplication rate.

Key words: BAP, new growth regulators, rate of multiplication.

¹ M.Sc. Alejandra Lara. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Apartado Postal #93, Tegucigalpa, Honduras.

² Ing. Osbel Mosqueda, Laboratorio Cultivo de Tejidos y Células, Centro de Bioplantitas, Universidad de Ciego de Ávila, Km 9, Carretera a Morón, CP 69450, Ciego de Ávila, Cuba

² Ph.D. Justo González Olmedo, Laboratorio Cultivo de Tejidos y Células, Centro de Bioplantitas, Universidad de Ciego de Ávila, Km 9, Carretera a Morón, CP 69450, Ciego de Ávila, Cuba. E-mail: justo@bioplantitas.cu

Introducción

La planta de *Anthurium andreamum* Linden pertenece a la familia *Araceae* (Strasburger *et al.* 1974). Es una planta perenne con una vida productiva de varios años, herbácea y monocotiledónea. Produce flores todo el año; la secuencia de hoja, flor y nueva hoja se mantiene a través de toda la vida de la planta y el intervalo entre cada nacimiento de una nueva hoja se acorta o alarga de acuerdo con los cambios en las condiciones ambientales (Murguía 1996).

Convencionalmente, el *Anthurium* es propagado por semilla, la cual pierde su viabilidad muy rápidamente y la capacidad germinativa bajo condiciones naturales es muy lenta. Los cultivares propagados por semillas son poco uniformes, presentan gran variabilidad en la producción de flores, fundamentalmente en el color (Geier 1990). La propagación convencional es sobre todo por división y por esquejes. Las semillas son menos usadas ya que produce poblaciones heterogéneas, pero varía en el color de las flores, tamaño y forma (Matsumoto y Kuenhle 1997). La propagación por semilla es un método largo que toma de 18 meses a tres años para que las plantas florezcan (Antionine 1994; Hartmann y Kester 1997).

La producción por medio de métodos *in vitro*, facilita la propagación clonal rápida de especies cuyos factores de producción se ven limitados por efectos ambientales y fisiológicos de la misma planta y ayuda a que éstas sean genéticamente y morfológicamente uniformes y que a su vez, sean producidas bajo estrictas reglas fitosanitarias, con lo que se logra una alta calidad (Escudero y Ramírez 1991). El objetivo de la micropropagación es obtener un gran número de plántulas genéticamente idénticas, fisiológicamente uniformes y con un desarrollo normal, preferiblemente con altas tasas fotosintéticas o fotoautotróficas (utilización del CO₂ ambiental como fuente de carbono), potencial para sobrevivir a las duras condiciones *ex vitro*, reduciendo el tiempo de este período y así disminuir los costos (Jeong *et al.* 1995).

Dentro de la micropropagación se ha trabajado en la germinación *in vitro* de semillas (Matsumoto y Kuenhle 1997; Chandrashekar y Singh 1994; Nirmala y Singh 1994), organogénesis directa (Matsumoto y

Kuenhle 1997; Geier 1990; Trujillo *et al.* 1999) e indirecta (Kunisaki 1980; Teng 1997), así como embriogénesis somática (Kuenhle *et al.* 1992; Matsumoto *et al.* 1996). En los últimos años la utilización de los sistemas de inmersión temporal ha aumentado las tasas de multiplicación, facilitando además la automatización de la embriogénesis y organogénesis (Teisson y Alvard 1995). Desde entonces, los BIT se han extendido a otras especies tales como *Hevea brasiliensis* (Etienne *et al.* 1997); *Citrus* (Cabasson *et al.* 1997); caña de azúcar (Lorenzo *et al.* 1998); piña (Escalona *et al.* 1999); té (Akula 2000); papa (Jiménez *et al.* 2000); *Phalenopsis* (Young *et al.* 2000); *Eucalyptus grandis* (Castro 2001); *Eucalyptus urograndis* (António 2001); yuca (Medero *et al.* 2001); microtubérculos de papa (Pérez *et al.* 1999; Etienne y Berthouly 2002) y embriones somáticos de café (Etienne y Berthouly 2002).

El manejo de los BIT es relativamente simple y fácil. Tiene como ventaja habilitar un contacto directo entre todas las partes del explante y el medio de cultivo, así como la renovación de la atmósfera del cultivo por una forzada ventilación, al propulsar el medio líquido hacia la planta. El material vegetal se puede colocar en los recipientes, sin necesidad de un material de apoyo (Etienne y Berthouly 2002). El sistema semi-automatizado para la propagación *in vitro* de brotes de piña, propuesto por Escalona *et al.* (1999), es capaz de suministrar los nutrientes y el aire a los mismos sin una tecnología compleja como en los biorreactores convencionales modificados para el cultivo de plantas. De modo que se caracteriza por ser eficiente, fiable, barato y fácil de manipular.

Otro aspecto de singular importancia lo constituye el estudio de diferentes biorreguladores del crecimiento con vistas a hacer más eficientes los sistemas de propagación empleados, como las oligosacarinas y dentro de éstas se encuentra el Pectimorf. Este es un nuevo biorregulador cubano obtenido a partir de residuos de la industria cítrica según una metodología desarrollada por el Laboratorio de Oligosacarinas del INCA, cuyo principio activo es una mezcla de oligosacáridos de origen péctico (Cabrera *et al.* 1998). Su efecto se ha estudiado en varios cultivos como: cítricos (*Citrus aurantium*) (Diosdado 1997); caña de azúcar (González *et al.*

1996); ajo (Izquierdo *et al.* 2003) y café (*Coffea canephora*) (Cevallos 2000).

Otro regulador de crecimiento que se ha estudiado por sus efectos similares a la citoquinina es la hormona C-751. Según Ruicheng (2000)³, es una hormona sintética, soluble en agua y su acción es similar a la de la citoquinina, aunque puede interactuar con otras hormonas (auxina y citoquinina) y ejerce un poder sinérgico. Puede estimular la división celular, inducir la formación de callos y tiene ciertos efectos en la inhibición de virus. También puede estimular el crecimiento, la diferenciación de brotes, la formación de raíces, ayuda en la activación de varias enzimas en plantas, induce la síntesis de proteínas, controla la expresión de un grupo genes y promueve la reproducción de células totipotentes. La dosis recomendada por el fabricante es de 1 mg L⁻¹.

Materiales y Métodos

Se utilizaron explantes de plantas donadoras de *Anthurium andreanum* variedad Tropical, posteriormente las plántulas micropropagadas se emplearon como inóculos en los experimentos correspondientes. Para la formación, la regeneración de callos y el mantenimiento del cultivo se siguieron los protocolos del instructivo técnico "Propagación masiva de plantas ornamentales y frutales mediante las técnicas *in vitro* y *ex vitro*" (2002) del Centro de Bioplasmas. Se usaron hojas jóvenes de plantas que crecieron en condiciones semi-controladas. Estas se lavaron con abundante agua y detergente comercial de 3-4 veces, y se dejaron en agua corriente durante 30 minutos. En la cámara de flujo laminar se desinfectaron con hipoclorito de calcio (Ca(OCl)₂) al 2% durante 30 minutos. Se enjuagaron con agua destilada estéril de 3-4 veces para eliminar los residuos del desinfectante. Las hojas se colocaron en placas de Petri con unos 10 mL de agua estéril, antes de cortarlas. Se cortó el borde del limbo foliar y se hicieron cortes formando discos con un diámetro de 1

cm². Los discos se sembraron con el haz en contacto con el medio Murashige y Skoog, 1962 (MS), suplementado con 100 mg L⁻¹ de Mío-inositol y 1 mg L⁻¹ de tiamina; 0,36 μmol L⁻¹ de ácido 2,4- dicloro fenoxiacético; 4,4 μmol L⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BA) y 2,8 g L⁻¹ de agar. El pH del medio se ajustó a 5,8 con NaOH (1 mol L⁻¹), y se esterilizó durante 20 minutos a 121 °C, con una presión de 1,2 kg cm². Los frascos se incubaron en una cámara oscura, con temperatura promedio de 25 ± 1 °C.

A los 60 días los callos estaban listos para inducir la formación de brotes. A estos se le efectuaron cuatro subcultivos con una periodicidad de 45 días y se multiplicaron en frascos de 150 mL en un medio MS suplementado con Mío-inositol (10mg L⁻¹), tiamina (1,0 mg L⁻¹), BA (8,9 μmol L⁻¹), sacarosa (30,0 g L⁻¹) y solidificado con agar (2,8 g L⁻¹). El pH del medio se ajustó a 5,8 con NaOH (1 mol L⁻¹), y luego se esterilizó durante 20 minutos a 121 °C. Los frascos se colocaron bajo un fotoperíodo de 16 horas luz con flujos de fotones fotosintéticos (FFF) de 80 μmol m⁻² s⁻¹. En todos los casos se utilizó un volumen de 20 mL de medio. Las plántulas crecidas bajo estas condiciones se utilizaron para inocular los biorreactores de inversión temporal (BIT), los cuales se describen a continuación.

Se utilizó un biorreactor de inmersión temporal modificado en el Centro de Bioplasmas, Ciego de Ávila, Cuba (Lorenzo *et al.* 1998; Escalona *et al.* 1999). Se utilizaron frascos translucidos con capacidad de 250 mL, los cuales se interconectaron por parejas mediante mangueras de silicona y con filtros hidrófobos de 0,2 μm; en un frasco se colocaron las plántulas y en el otro el medio de cultivo. Los frascos se conectaron a un sistema de entrada de aire proveniente de un compresor, el cual se accionó por un programador automático para el control de la frecuencia (cada 3 horas) y la duración (3 minutos) de las inmersiones. Las condiciones ambientales del estante de cultivo fueron: temperatura de 24°C ± 1, fotoperíodo de 16 horas y 80 μmol m⁻²s⁻¹ de FFF, a través de lámparas fluorescente (PHILIPS TL 40 W/54). El número de explantes, tiempo y frecuencia de la inmersión empleados en los experimentos son los utilizados actualmente por el Laboratorio de Producción del Centro de Bioplasmas.

³ Ruicheng, L. 2000. A brief introduction to a synthetic plant hormone C-751. (Correo postal), Beijing Xinyuan Company, China.

El volumen del medio fue de 200 mL y se inocularon cuatro explantes, cada uno consistía en una plántula individual. La composición del medio de cultivo se describió anteriormente con las modificaciones en las concentraciones de las hormonas, las cuales se describen a continuación.

Con el propósito de conocer los efectos de los nuevos reguladores del crecimiento (Pectimorf y C-751) en la multiplicación de los explantes, a quienes se les adjudican efectos de citoquininas (Ruicheng 2000; Cabrera *et al.* 1998), se realizaron primeros experimentos con modificaciones a los medios de cultivo (Tabla 1 y 2). El Pectimorf fue donado por el Laboratorio de Oligosacarinas del Insitituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), La Habana, Cuba, y la hormona C-751 por la compañía Beijing Xinyuan, China. Los donantes recomiendan la dosis de los productos empleados en los experimentos.

Tabla 1. Concentraciones utilizadas de 6-benciladenina (BA) y Pectimorf solas y combinadas en la etapa de multiplicación de *Anthurium andreanum* en los biorreactores de inmersión temporal.

BA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Pectimorf (mg L^{-1})
8,9	0,0
8,9	5,0
0,0	5,0
8,9	10,0
0,0	10,0
8,9	15,0
0,0	15,0

Tabla 2. Concentraciones utilizadas de 6-benciladenina (BA) y C-751 solas y combinadas en la etapa de multiplicación de *Anthurium andreanum* en los biorreactores de inmersión temporal.

BA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	C- 751 (mg L^{-1})
8,9	0,0
8,9	1,0
0,0	1,0

Al final de la fase de multiplicación (45 días) todos los tratamientos se elongaron en un medio de cultivo constituido por sales MS, tiamina (1 mg L^{-1}), suplementado con GA_3 a la concentración de $2,89 \mu\text{mol L}^{-1}$, donde permanecieron otros 30 días. Al final de esta fase se evaluaron las siguientes variables:

- Coeficiente de multiplicación = Número de plantas al final/Número de explantes al inicio
- Número de hojas
- Longitud de la planta (cm)
- Masas fresca y seca (g)

La masa seca en cada uno de los tratamientos experimentales se evaluó luego de permanecer 72 h a 80°C hasta que la masa final se mantuvo constante.

Cada experimento consistió en un monofactorial bajo un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones por tratamientos. De cada repetición se tomaron 10 plántulas para un total de 30 por tratamiento.

Resultados y Discusión

El empleo de las técnicas de cultivo de tejido vegetal siempre es necesario la adicción de reguladores del crecimiento al medio de cultivo que estimule la acción de la función que se desea desarrollar; por ejemplo la 6-benciladenina es una de las hormonas que más se emplean en la multiplicación de muchas especies (Daquinta 2002). En la tabla 3 se observan los efectos de BA y Pectimorf, solos y combinados sobre el coeficiente de multiplicación de *A. andreanum*.

Los resultados muestran que el Pectimorf aumenta la tasa de multiplicación al combinarse con BA, resultando la mejor combinación $8,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ BA + $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ Pectimorf, donde se aprecian diferencias significativas con los demás tratamientos evaluados. Por otra parte, la aplicación de Pectimorf solo a las dosis más baja ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$) y alta ($15,0 \text{ mg L}^{-1}$) muestran diferencias significativas entre ellas, la dosis media ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) es la que tiene mejores tasas de multiplicación.

Tabla 3. Efectos de la 6-benciladenina (BA) y Pectimorf sobre el coeficiente de multiplicación y algunas variables de calidad evaluadas en la etapa de elongación de plántulas de *Anthurium andreaeanum* propagadas en biorreactores de inmersión temporal.

Tratamientos		Coeficiente de multiplicación	No. de Hojas	Longitud (cm)	Masas (g)	
BA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Pectimorf (mg L^{-1})				Fresca	Seca
8,9	0,0	34,00 b [§]	3,16	1,94 b	0,064 c	0,009 b
8,9	5,0	35,50 b	3,41	2,42 a	0,110 ab	0,013 ab
0,0	5,0	19,42 d	3,13	1,72 b	0,070 bc	0,009 b
8,9	10,0	40,83 a	3,43	2,51 a	0,120 a	0,016 a
0,0	10,0	31,08 bc	3,20	1,66 b	0,060 c	0,010 b
8,9	15,0	29,83 bc	2,80	1,98 b	0,070 bc	0,008 b
0,0	15,0	25,50 c	3,10	1,77 b	0,089 bc	0,012 ab
Significancia		*	ns	*	*	*
E.E.x		1,53	0,0092	0,0058	0,005	0,00063

[§] Las medias con letras desiguales difieren estadísticamente (One-Way ANOVA, Tuckey, $P < 0,05$). Cada dato representa la media para $n=30$, excepto en la tasa de multiplicación la media es para $n=6$.

Al mismo tiempo, el tratamiento con $8,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BA + $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Pectimorf, con el posterior alargamiento con GA_3 mostró diferencias significativas en las variables de calidad evaluadas (altura, masa fresca y masa seca) con el resto de los tratamientos excepto con la combinación $8,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BA + $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Pectimorf. En el número de hojas por plántula no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos experimentales.

Un aspecto de singular importancia lo constituye el estudio de diferentes biorreguladores del crecimiento solos y combinados con vistas a hacer más eficientes los sistemas de propagación empleados. Con el empleo de Pectimorf (Montes y López 2001) se sustituyó completamente a BA en los medios de cultivo en la propagación de helechos (*Nephrolepis exaltata* var. *Teddy Junior*), y se logró mejora la calidad de las plántulas. Por otro lado, Montes *et al.* (2000) encontraron que los mejores resultados en la organogénesis directa a partir de hojas de vitroplantas de *Anthurium cubense* se obtuvieron con el empleo de $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Pectimorf solo que cuando se combinó con otros reguladores.

Los resultados alcanzados en *A. andreaeanum* muestran que el Pectimorf actúa como potenciador, al aumentar las tasas de multiplicación cuando se

combinó con BA y que ninguno de los tratamientos de Pectimorf estudiados por sí solos sustituyó a la citoquinina.

Como se conoce, el Pectimorf tiene como principio activo una mezcla de oligosacarinas de tipo pectinas (Cabrera *et al.* 1998), los mismos tienen efectos amplificadores de respuestas biológicas en cascada ante señales generadas, luego de la interacción de las hormonas con los receptores en membranas celulares. De esta forma se interpretan sus efectos sinérgicos con la acción de BA para incrementar los coeficientes de multiplicación y efectos secundarios positivos con GA_3 , pues parece prevalecer sus efectos por la asimilación de los brotes durante la elongación.

Las influencias secundarias de Pectimorf sobre la elongación de las plántulas lo distinguen como producto efectivo en la inducción de la multiplicación, pues generalmente la acción de los multiplicadores antagoniza en la calidad de los brotes propagados, lo que obliga el empleo de elongantes.

Otra hormona que ha sido sujeta a estudios por sus efectos similares a la citoquinina es la C-751. En la tabla 4 se pueden apreciar los resultados alcanzados en la combinación con BA y de su aplicación como regulador del crecimiento independiente. En combinación con GA_3 potenció las variables de

crecimiento evaluadas en *A. andreaeanum*. El regulador del crecimiento C-751 no estimuló la tasa de multiplicación, aún cuando se combinó con BA.

Los mejores resultados fueron alcanzados con la aplicación de BA solo, el cual mostró diferencias significativas con los demás tratamientos y fue el correspondiente con la aplicación sólo del nuevo bioproducto (C-751) el que menor tasa de multiplicación alcanzó (4,75).

En las variables de calidad, las plántulas propagadas en medios con la hormona C-751 alcanzaron mayor altura y masa seca, con diferencia estadística con respecto al tratamiento donde se empleó sólo BA. Sin embargo se encontraron diferencias significativas con la combinación de BA + C-751 en las número de hoja y masa fresca que fueron menores, con respecto al tratamiento con sólo C-751.

Ruicheng (2000) recomienda la aplicación de C-751 a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, para alcanzar resultados similares en la tasa de multiplicación a los inducidos por la citoquinina. Además, sugiere que el C-751 puede interactuar con otras hormonas (auxina y citoquinina) y elevar el efecto de las mismas por ser un potenciador sinérgico de la actividad. En *A. andreaeanum* bajo las condiciones del experimento actuó como estimulador del crecimiento y desarrollo de las plántulas y no como inductor de su multiplicación. Por lo tanto, su efecto estuvo más cercano al de una auxina que una citoquinina, comportándose así más como una auxina que citoquinina.

Se puede plantear que el C-751 potenció el efecto del GA_3 en las variables de crecimiento y desarrollo evaluadas en las plántulas de *A. andreaeanum* propagadas en BIT. El tratamiento con sólo C-751 registró los máximos valores alcanzados en ambos experimentos (Tabla 5 y 6) para el número de hojas, la altura y la masa fresca de las plántulas. No obstante el reducido número de brotes que se cultivaron en biorreactores, debido al nulo efecto de la hormona sobre la multiplicación, debió favorecer la disponibilidad del medio de cultivo por planta y mejorar la calidad.

Al comparar los resultados de los tratamientos Pectimorf ($15,0 \text{ mg L}^{-1}$) y la combinación BA + C-751, ambos con similares coeficientes de multiplicación, se demuestran los efectos sinérgicos que de modo

secundario ejerció C-751 con GA_3 durante la fase de elongación.

Se puede plantear que en *A. andreaeanum*, al combinar BA con Pectimorf ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$), se eleva el coeficiente de multiplicación, mientras que la hormona C-751 sólo mejora la calidad de las plántulas propagadas en BIT. Ambos productos tuvieron efectos secundarios de sinergismo con GA_3 , pero fueron divergentes las influencias con respecto a las acciones de BA; Pectimorf las potenció y C-751 las antagonizó.

Conclusiones

El Pectimorf tuvo efectos sinérgicos con BA, potenció los efectos de la citoquinina al aumentar las tasas de multiplicación cuando se combinaron. En las dosis de $5,0$ - $15,0 \text{ mg L}^{-1}$ el Pectimorf no sustituyó al BA en la multiplicación de brotes de *A. andreaeanum* var. Tropical.

La hormona C-751 ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) antagonizó los efectos de BA en la multiplicación de brotes de *A. andreaeanum* var. Tropical.

El Pectimorf a una concentración de $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ y C-751 tuvieron efectos secundarios positivos con GA_3 que mejoraron la calidad de los brotes *A. andreaeanum* var. Tropical.

Bibliografía

- Akula, A., D. Becker y M. Bateson. 2000. High yielding repetitive somatic embryogenesis and plant recovery in a selected tea clone, "TRI-2025", by temporary immersion. *Plant Cell Rep* 19:140-145.
- Antionine, R. 1994. Commercial production of *Anthurium* cut flowers in Mauritius. En: J. Prakash y K.R. Bhandary (eds). *Floriculture*, New Delhi. P 25.
- António, G. 2001. Incremento de la calidad de los explantes de *E. urograndis* (*E. grandis* x *E. urophylla*) propagadas mediante BIT y su efecto en la aclimatización. Trabajo de Diploma, Universidad de Ciego de Ávila, Cuba. 52 p.
- Cabasson, C., D. Alvard, D. Dambier, P. Ollitrault y C. Teisson. 1997. Improved citrus somatic embryo development by temporary immersion. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 50:33-37.

Tabla 4. Efectos de la 6-benciladenina (BA) y C-751 sobre el coeficiente de multiplicación y algunas variables de calidad evaluadas en la etapa de elongación en plántulas de *Anthurium andreaeanum* propagadas en biorreactores de inmersión temporal.

Tratamientos		Coeficiente de multiplicación	No. de hojas	Longitud (cm)	Masas (g)	
BA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	C-751 (mg L^{-1})				Fresca	Seca
8,9	0,0	34,00 a [§]	3,10 b	1,90 b	0,065 b	0,009 b
8,9	1,0	25,75 b	3,10 b	3,11 a	0,106 b	0,013 a
0,0	1,0	4,75 c	3,83 a	2,88 a	0,228 a	0,014 a
Significancia		*	*	*	*	*
E.E.x		4,32	0,102	0,1095	0,012	0,0005

[§] Las medias con letras desiguales difieren estadísticamente (One-Way ANOVA, Tuckey, $P < 0,05$). Cada dato representa la media para $n=30$, excepto en la tasa de multiplicación la media es para $n=6$.

- Cabrera, J.C. R. Iglesias, A. Gutiérrez, S. González, E. Diosdado, P. Garbey, R. Gómez, D. Agramonte, H. Izquierdo, y J. González. 1998. Pectimorf: un bioregulador cubano para la biotecnología vegetal. En: Seminario Científico, INCA. La Habana. 11:133.
- Castro, D. 2001. Propagación mixotrófica de *E. grandis* Hill ex maiden en BIT. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. Cuba. 75 p.
- Cevallos, M. 2000. Proceso de embriogénesis somática en *Coffea canephora*, var. Robusta. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrarias. Cuba. 235 p.
- Chandrashekar, M.S. y F. Singh. 1994. Effect of growth regulators on *in vitro* germination of *Anthurium andreaeanum* Lind. seeds. En: J. Prakash y K.R. Bhandary (eds). Floriculture, New Delhi. p 25.
- Daquinta, M.; L. Ramos, I. Capote, Y. Lezcano, R. Rodríguez y M. Escalona. 2002. Inducción de callos y regeneración de plantas en *Tectona grandis* L. Revista Biotecnología Vegetal 2(1):15-19.
- Diosdado, E. 1997. Efecto de bioreguladores sobre la embriogénesis somática y el cultivo de protoplastos de naranjo agrio (*Citrus aurantium*). Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de La Habana. Cuba. 95 p.
- Escalona, M., J.C. Lorenzo, B. González, M. Daquinta, J. González-Olmedo, Y. Desjardins y C.G. Borroto. 1999. Pineapple (*Annanas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. Plant Cell Rep. 18:743-748.
- Escudero, F. y M. Ramírez. 1991. Propagación *in vitro* de *Anthurium andreaeanum* Lind. Micropropagación vegetal en México. Avances y Resultados III. FIRA. Boletín informativo 24 (232):3-11.
- Etienne, H. y M. Berthouly. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 69:215-231
- Etienne, H., N. Lartaud, N. Michaux-Ferriere, M. Carron, M. Berthouly y C. Teisson. 1997. Improved somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (MULL-ARG.) using the temporary immersion technique. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 33:81-87.
- Geier, T. 1990. *Anthurium*. En: P.V. Ammirato, D.A. Evans, W.R. Sharp y Y.P.S. Bajaj (eds). Handbook of Plant Cell Culture, vol 5, McGraw-Hill, New York, p 228-252.
- González, S., P. Garbey, Y. Alvarez y D. Benitez. 1996. Actividad peroxidasa en callos de caña de azúcar tratados con oligopectato. En: seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. p 38.
- Hartmann, H.T. y D.E. Kester. 1997. Propagación de plantas. Trad. por Antonio Marino. Sed. Compañía Editorial Continental, México, 760 p.
- Izquierdo, H., M. Nuñez, Y. Quiñones, R. Disotuar, D. Pedroso, y J. Cabrera. 2003. Nuevos bioreguladores cubanos del crecimiento vegetal para la biotecnología y agronomía en ajo (*Allium sativum* L.). Libros de reportes cortos. BioVeg 2003. p 46.
- Jeong, B.R., K. Fujiwara Y T. Kozai. 1995. Environmental control and fotoautotrophic micropropagation. En : T. Kozai, Y. Kitaya, C. Kubota (eds). Enviromental control in micropropagation. Japan. p 133.

- Jiménez, E., N. Pérez, M. De Fera, R. Barbon, A. Capote, M. Chavez, E. Quiala y J.C. Pérez. 2000. Improved production of potatoes microtubers using temporary immersion systems. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 59: 19-23.
- Kuenhle, A.R., F.C. Chen y N. Sugii. 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andreanum* hybrids. *Plant Cell Rep.* 11:438-442
- Kunisaki, J.T. 1980. *In vitro* propagation of *Anthurium andreanum* Lind. *Hort. Sci.* 15 (4):508-509.
- Lorenzo, J.C., B.L. González, M. Escalona, C. Teisson, P. Espinosa y C. Borroto. 1998. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 54:197-200.
- Matsumoto, T.K., D.T. Webb y A.R. Kuenhle. 1996. Histology and origin of somatic embryos derived from *Anthurium andreanum* Linden ex André lamina. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121 (3):404-407.
- Matsumoto, T.K. y A.R. Kuenhle. 1997. Micropropagation of *Anthurium*. En: Y.P.S. Bajaj (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol 40. High Technology and Micropropagation VI. Springer Verlag, Berlin, Alemania. p 154-168
- Medero, V., S. Rodriguez, C. Borroto, R. Gómez, J. López, J.; M. De la Fera, M. García, L. Del Sol, M. Cabrera, C. Pons, G. Cortés, G. González, M. Martínez, M. Álvarez y J. García. 2001 Micropropagación de la yuca por inmersión temporal. Libro de Reportes Cortos. *BioVeg* 2001. p 106.
- Montes, S. y M. López. 2001. Contribución del Pectimorf a la propagación acelerada del helecho *Nephropelis exaltata* var Teddy Junior. Libro de Reportes Cortos. *BioVeg* 2001. p 76.
- Murguía González, J. 1996. El cultivo de *Anthurium*. Textos universitarios, Universidad Veracruzana. 10 p.:473-497.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revise medium for fast growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant.* 15
- Nirmala, K.S y F. Singh. 1994. Studies on *in vitro* seed germination in *Anthurium andreanum* Lind. En: J. Prakash y K.R. Bhandary (eds). *Floriculture*, New Delhi. p 426-427.
- Pérez, N., M. De Fera, E. Jiménez, A. Capote, M. Chávez, Y E. Quiala. 1999. Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L. var. Atlantic) en sistemas de inmersión temporal y estudio de su comportamiento en campo. Libro de Reportes Cortos. 5to. Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal. Cuba. p 142-146.
- Strasburger, E., F. Noll, H. Schenck y A.F.W. Schimmoer. 1974. Tratado de Botánica. Trad. Oriol de Bolós. Editorial Marín, S.A. España. 799 p.
- Teisson, C. y D. Alvard. 1995. A New concept of plant *in vitro* cultivation liquid medium: temporary immersion. En: M. Terzi, R. Cella y A. Falavigna (eds). *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology*. Kluwer Academic Publishers. p 105-109
- Teng, W.L. 1997. Regeneration of *Anthurium* adventitious shoot using liquid or raft culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 49:153-156.
- Trujillo, R., M. Daquinta, L. Nápoles, O. Concepción y M. Balsameda. 1999. Micropropagación de variedades de *A. andreanum* de interés comercial. *Agrícola Vegetal* 216:793-796.
- Young, P. S., H.N. Murthy y P.K. Yoeup. 2000. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalenopsis*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 63 (1):67-72.

Recibido para publicación el 10 de noviembre de 2005.