



Grupo Calesa

HACIENDA LA ESTRELLA



II Simposio Científico CINAP

DESARROLLO DE UN PROTOCOLO DE MICROPROPAGACIÓN DE *Guadua angustifolia* USANDO BIORREACTORES DE INMERSIÓN TEMPORAL BITs, CON FINES DE REFORESTACIÓN

Heidi Hernández, Ismael Núñez, Luz Juárez, Prudencia Guevara, Angela Fuentes, Silvia López, Yumelis Saavedra, Iroel Rodríguez, Abby Guerra.

Gerencia de Operaciones Agrícolas
Departamento de CAMPO
Área de Agronomía
Sección de Biotecnología

OCTUBRE 2022



CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN
2. METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTOS
3. RESULTADOS
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
5. BIBLIOGRAFÍA

INTRODUCCIÓN

El bambú *Guadua* pertenece a la familia *Poaceae*, a la subfamilia *Bambusoideae* y al género *Guadua*.

Es una especie de bambú americano y reúne 30 especies. se distribuye desde México hasta el norte de Argentina, (0-1500 m).

Tiene múltiples beneficios para efectos de reforestación, construcciones, muebles, artesanías, pisos. La biomasa aporta al suelo materia orgánica, captura de CO₂, libera O₂ a la atmosfera, y almacena grandes cantidades de agua.

La Propagación de *G. angustifolia* se realiza particularmente de manera asexual y sin o con escasa técnica de multiplicación, y tiene restricciones por su baja efectividad. El objetivo de este estudio fue desarrollar un protocolo eficaz y económico para la micropropagación de *Guadua*, utilizando Biorreactores de Inmersión Temporal (BITs), como alternativa a la masificación de la producción de plantas.

Establecimiento *In vitro* de *Bambú Guadua angustifolia*



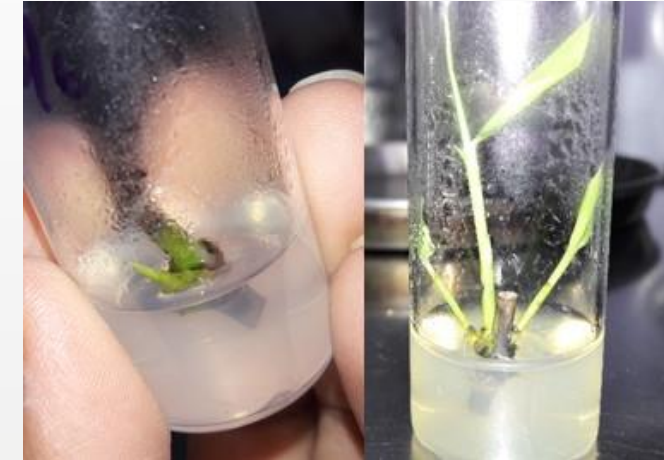
Material Donante. Rodal de *Guadua angustifolia*.



Explantos: Segmentos Nodales.



Explantos en etapa de desinfección superficial.



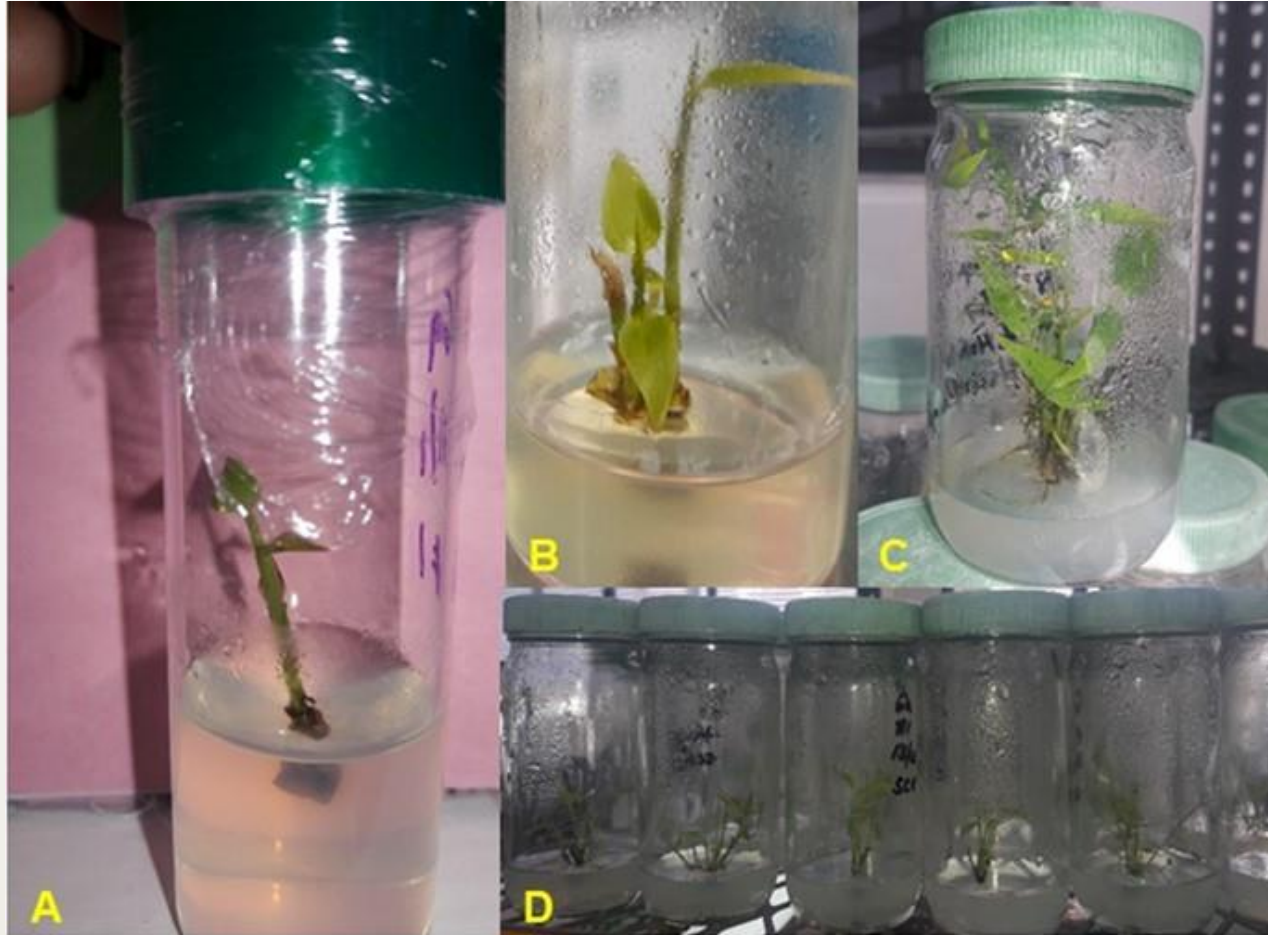
Segmento Nodal en *MS semisólido* +2 mg L⁻¹ BAP

Para la desinfección se utilizó 0.5% de NaCl / 1 h, detergente 5g en 250 ml / 5 min, 3% NaCl+ 2 gotas tween 20 / 10 min, seguidamente 48 horas en solución de 5 g L⁻¹ de Benomil 50WP + 5 mL L⁻¹ de Phyton 24SC.

Se utilizó medio Murashige y Skoog (MS, 1962),+ 2 mg L⁻¹ de BAP.

Se evaluó presencia de contaminantes a los 8, 15 y 22 días después de incubados

Multiplicación de bambú convencional



A y B Explantes (yemas basales e intermedias) en desarrollo y ahijamiento fase 1 (tubo), **C y D**. Planta en multiplicación inducida Fase 2

Para la multiplicación convencional se utilizaron plantas en cuarto subcultivo, se utilizó medio MS y se evaluaron 5 concentraciones de BAP 2, 3, 4, 5 y 6 mg L⁻¹. Igual se evaluó el coeficiente de multiplicación (CM) a los 8, 15 y 22 días.

METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO

Montaje de BITs de *Guadua angustifolia*



Selección de vitroplantas en 4to subcultivo iniciales para BITs.



Proceso de montaje de en Biorreactores de *Guadua Angustifolia*.

En fase de multiplicación en BITs se utilizó MS con 3 concentraciones de BAP 3, 4, 5 mg L⁻¹ y utilizaron 3 frecuencias de inmersión (3, 6 y 8 horas). Se evaluó la coeficiente de multiplicación CM y calidad de la planta.

Establecimiento In Vitro de Bambú *Guadua angustifolia*

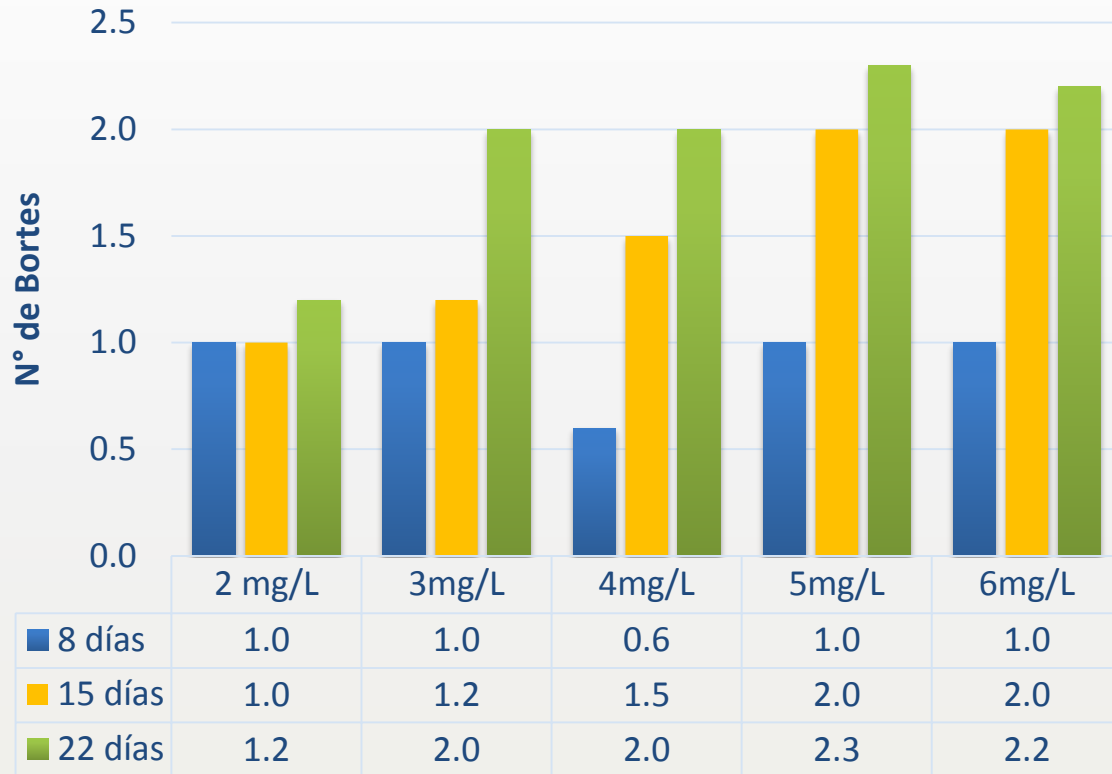


Brotación segmentos nodales **A**: Brotes de 15 días después de siembra en medio de cultivo MS con 2mg L⁻¹ de BAP. **B**. Brotación de yemas del explante inicial 2 meses de edad).

Porcentaje de Contaminantes y sobrevivencia

Hongo	Bacterias	Muertos	Vivos
34.7%	32.7%	14.3%	18.3%

Ensayo de Multiplicación con diferentes concentraciones de Bencilaminopurina - BAP



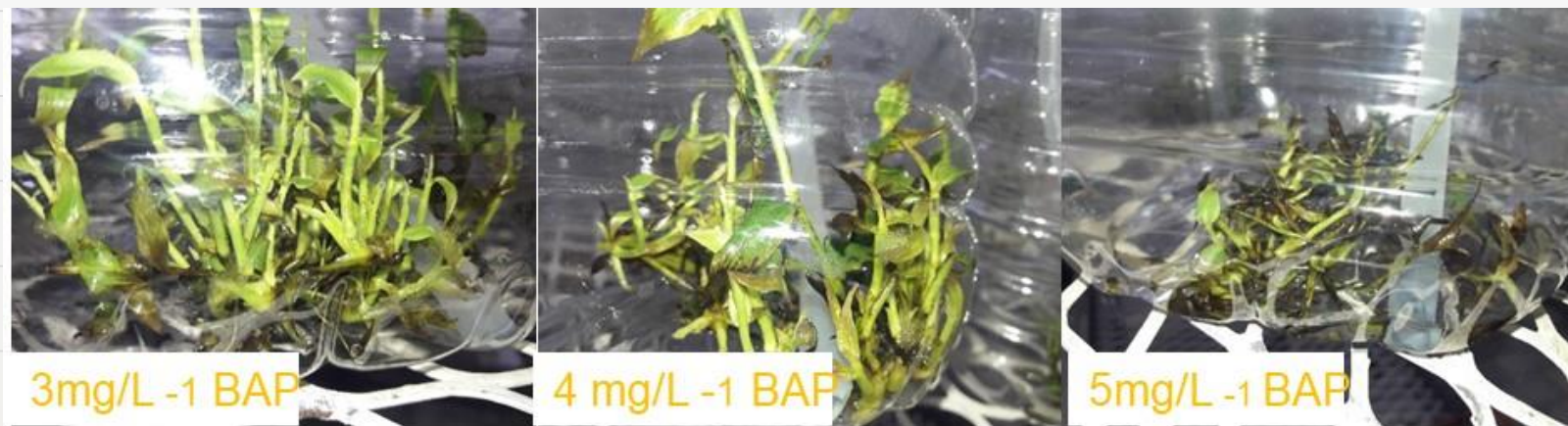
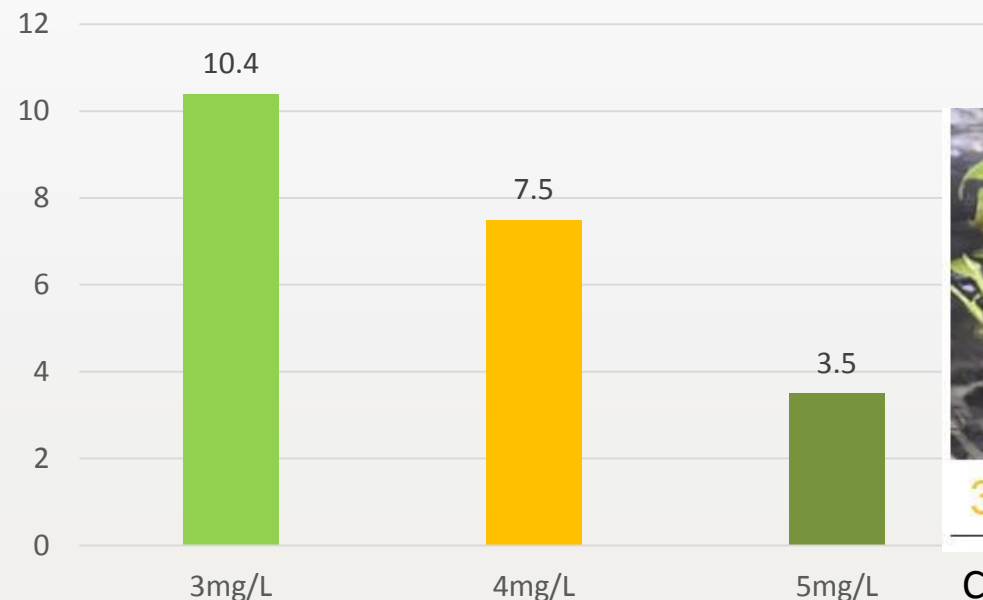
Plantas en micropropagación A y B, 3 mg L⁻¹

A partir de los 15 días, se obtuvieron coeficientes de 2 brotes por planta a concentraciones de 5 y 6 mg L⁻¹, mientras que a 3 y 4 mg L⁻¹ se obtienen a los 22 días.

RESULTADOS

Micropropagación en BITS, utilizando BAP

Multiplicación de Bambú Guadua a diferentes concentraciones de BAP



Con frecuencia de inmersión cada 3 horas

Se obtuvieron CM de 10.4, 7.5 y 3.5 para las concentraciones de 3, 4 y 5 mg L⁻¹ respectivamente. Concentraciones de 4 y 5 mg L⁻¹ presentaron fenolización del tejidos.

Diferentes Frecuencias de Inmersión en BITs y calidad de la Planta

Micropropagación de *Guadua angustifolia* en BITs

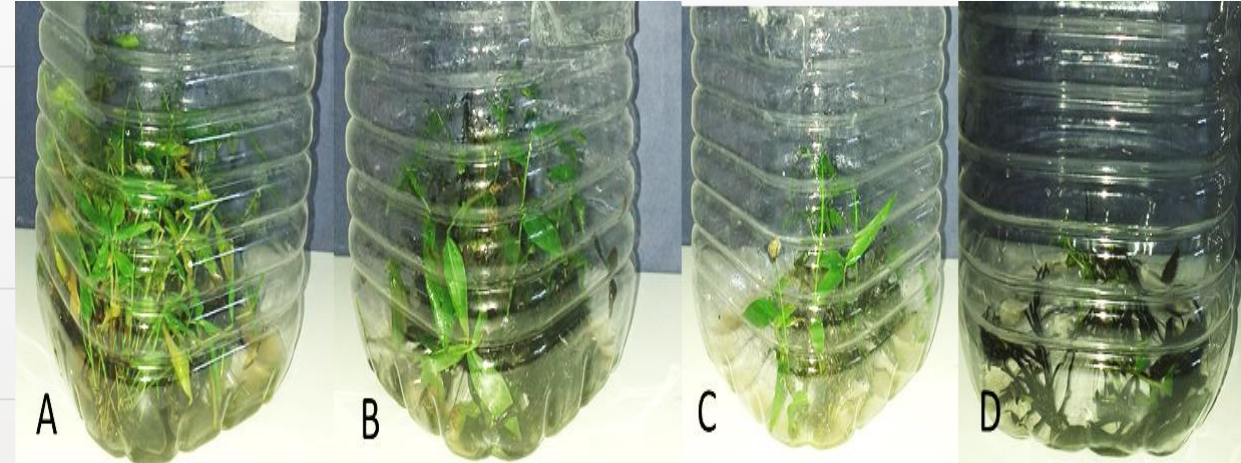
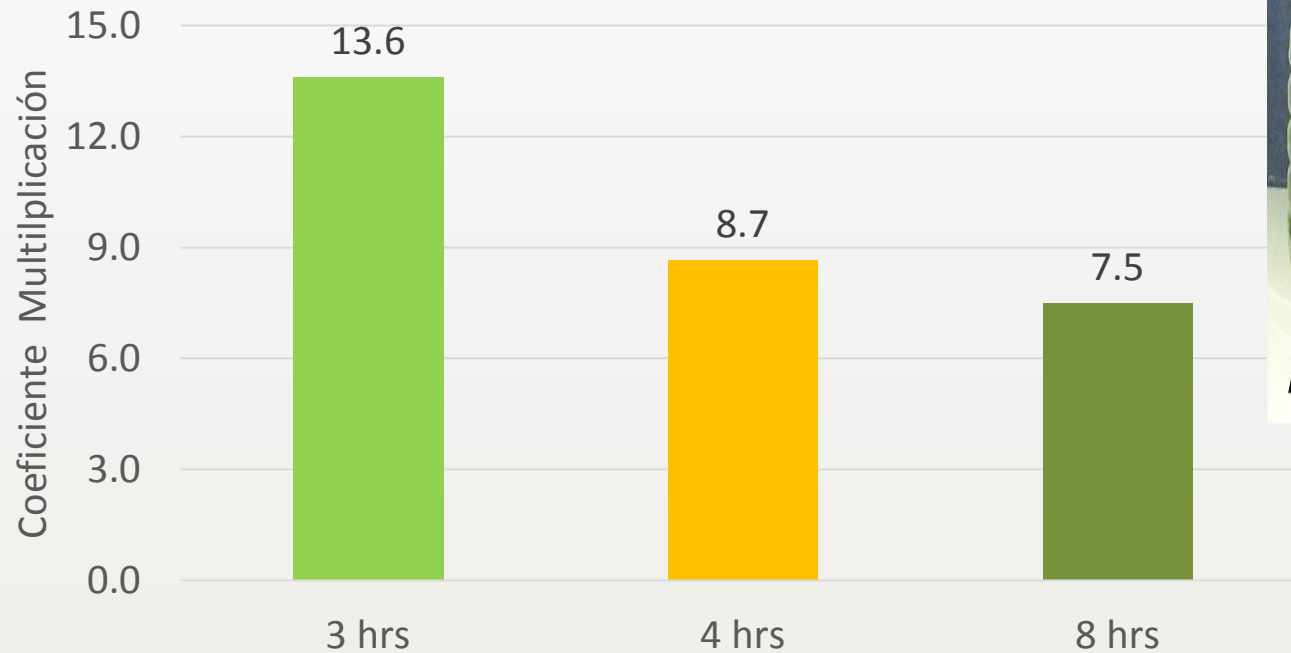
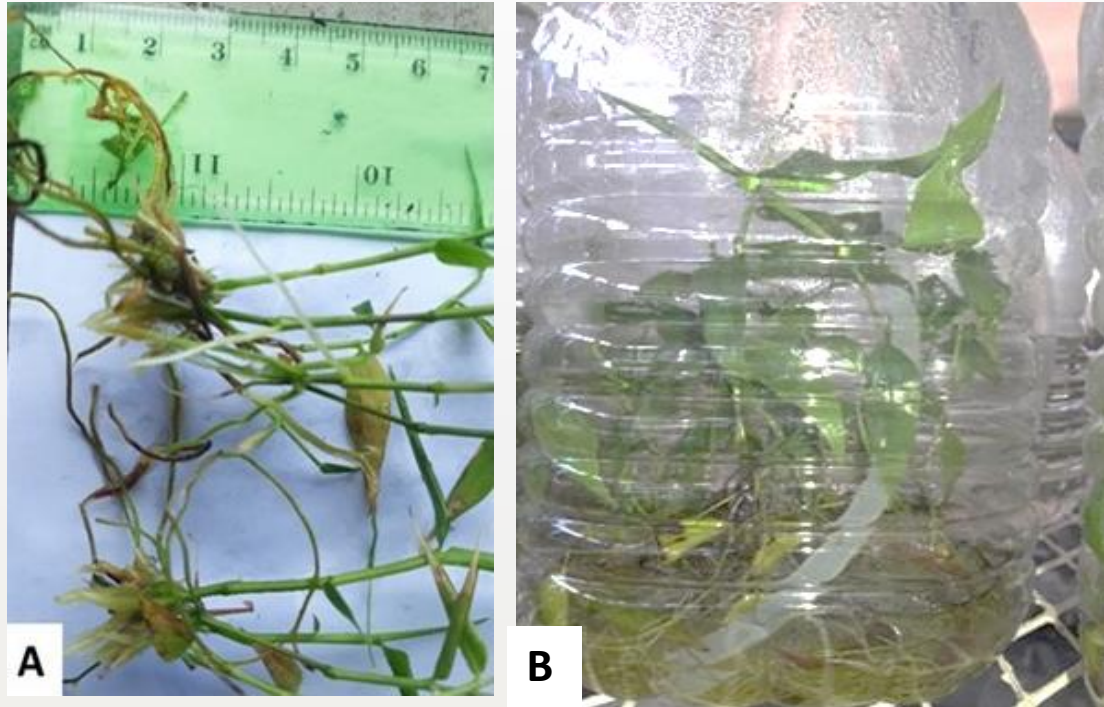


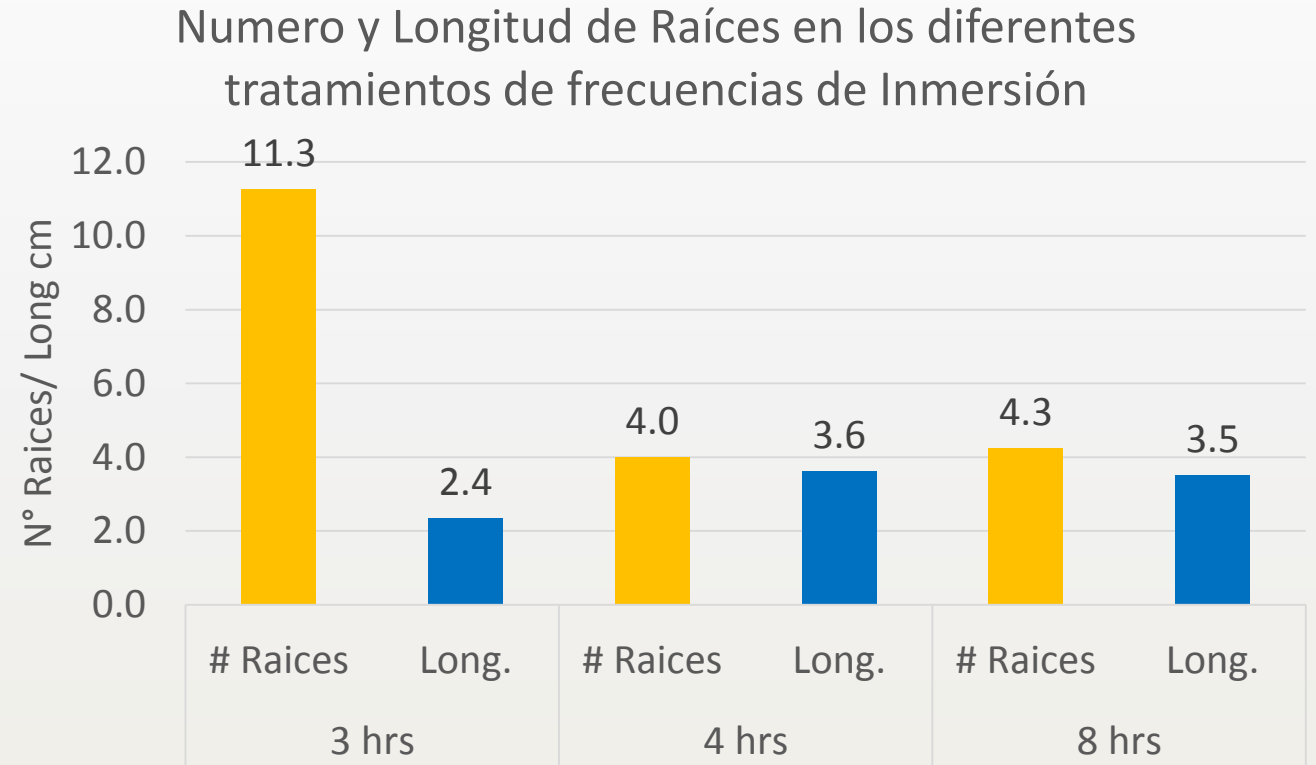
Figura 4. Respuesta en Biorreactores a diferentes frecuencias de inmersión A. 3 horas, B. 4 horas, C y D. Cada 8 horas, a los 22 días.

Promedio de brotes por explante (CM), obtenidos fue de 13.6, 8.7 y 7.5 para las frecuencia de inmersión cada 3, 4 y 8 horas respectivamente. La mejor respuesta se obtuvo usando la frecuencia de inmersión de 3 horas.

Enraizamiento para vitroplantas en BITs



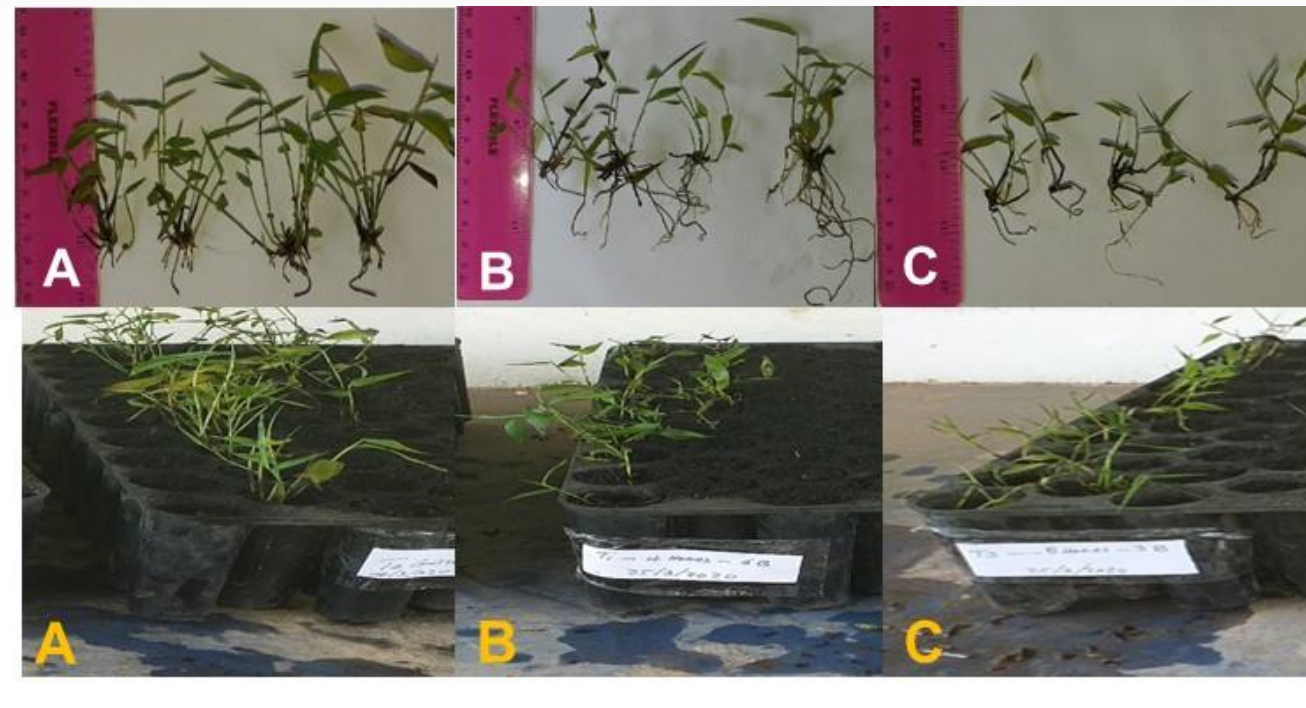
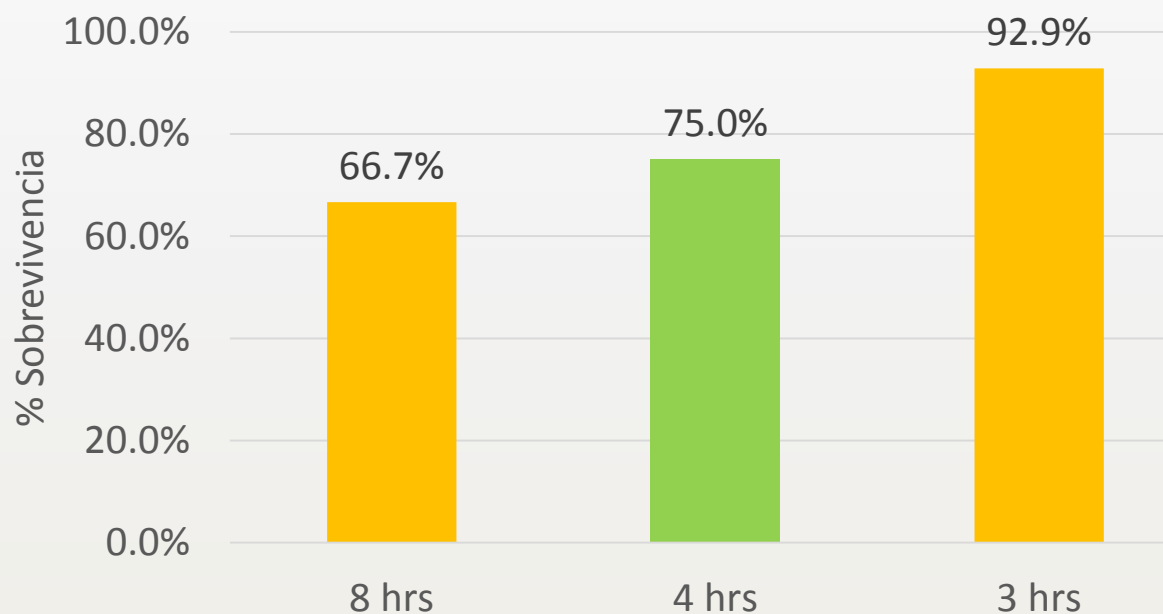
Vitro plántulas en BITs óptimas para aclimatación. A. Inicio de enraizamiento, B. vitroplantas enraizadas en BITs.



La mejor respuesta en cuanto a numero de raíces se obtuvo con el tratamiento de frecuencia de inmersión cada 3 horas, con promedio de 11.3 y en cuanto a longitud de raíces se obtuvo raíces de 4 cm de longitud con la frecuencia de inmersión de 4 h.

Sobrevivencia en fase de aclimatación de Plantas a diferentes frecuencias de Inmersión

Sobrevivencia de bambú Guadua en aclimatación



Aclimatación de plántulas A. frecuencia de 3 horas, B. frecuencia de 4 horas y C. frecuencia de 2 horas.

Las plantas obtenidas con frecuencias de inmersión cada 3 horas, se adaptaron mejor bajo condiciones ex vitro, obteniéndose un 92% de sobrevivencia vs 75 y 66%.

RESULTADOS

Aclimatación de Vitroplantas de bambú de BITs



Plantas aclimatadas después de 30 dds, fueron individualizadas y transplanta.

Se utilizó ceniza de bagazo de caña 100% como sustrato.

CONCLUSIONES

- ✓ Con concentración de 3mg L^{-1} de BAP, se obtienen los mejores coeficientes de multiplicación en Biorreactores de Inmersión temporal, para bambú Guadua.
- ✓ En promedio se obtienen un total de 13.6 plantas por brote inicial (explante) para una frecuencia de inmersión de 3 horas, mientras que se obtuvo 8.7 y 7.5 para 4 y 8 horas de inmersión, respectivamente.
- ✓ En un medio de cultivo Murashige & Skoog suplementado con 2.5 mg L^{-1} Sulfato de adenina se logró obtener vitroplántulas de Guadua con suficientes raíces en BITS en 30 días aproximadamente.
- ✓ Con frecuencia de inmersión de cada 3 horas (8 inmersiones en 24 horas), se logró obtener el mayor número de raíces.
- ✓ La mayor sobrevivencia en aclimatación (92%), se obtuvo en plantas cultivadas en BITS usando una frecuencia de inmersión de cada 3 horas.
- ✓ Hubo un incremento de 6.8 veces el coeficiente de multiplicación utilizando BITS, lo que reduce significativamente el costo de producción, aumenta la sobrevivencia y mejora la calidad de las plántulas.

RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda evaluar otras frecuencias de inmersión (2, 3, 4 horas), y diferentes volúmenes de medios de cultivos, respecto al número de explantes por biorreactor, para validar la respuesta y calidad de plantas.
- ✓ Evaluar diferentes concentraciones de BAP (bencilaminopurina), entre 3 a 5 mg L⁻¹ , en fase de multiplicación convencional, para validar protocolo y mejorar los coeficientes de multiplicación en BITs.
- ✓ Optimizar el proceso de aclimatación, puesto que son plantas muy delicadas y tienden a deshidratarse rápidamente.

- Londoño & P. M. Peterson Thiago Sanches Ornellas, Carolina Kades Marchetti, Gleison Henrique de Oliveira, Yohan Fritsche, Miguel Pedro Guerra. **Micropropagation of *Guadua chacoensis* (Rojas)**. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 49, e55450, 2019.
- P. Muthukumar, N. Saraswathy, S. Abarna, R. Kanthimathi, V. Monisha, N. Niranjana Devi, M. Raja Nivetha. **Protocol for Induction of Multiple Shoot through Nodal Explants Culture of *Bambusa bambos* for Biomass Production**. Department of Biotechnology, Plant Tissue Culture Laboratory, Kumaraguru College of Technology, Coimbatore- 641049, India. 2018.
- Luís Gonzaga Gutiérrez, Rodolfo López-Franco and Tito Morales-Pinzón. **Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) using a temporary immersion system RITA®** African Journal of Biotechnology. 2016
- M. Freire-Seijo, Y. García-Ramírez, M. Tejeda, G. Gallardo, L. Fajardo, M. Cruz-Martín, C. Sánchez-García, Y. Alvarado-Capó, M. Acosta-Suárez, B. Roque, M. Leiva-Mora. 2008. **Empleo de la biotecnología en la propagación de dos especies de Bambú** Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: marisolf@ibp.co.cu.
- Marta Leonor Marulanda, Maritza Carvajalino, Carolina Vargas, Ximena Londoño. 2002. **La biotecnología aplicada al estudio y aprovechamiento de la guadua**. Seminario - Taller Avances en la investigación sobre Guadua. Pereira, mayo 16-17 y 18 de 2002.
- Jiménez, V., Castillo, J., Tavares, E. et al. **In vitro propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation**. Plant Cell Tiss Organ Cult 86, 389–395 (2006). <https://doi.org/10.1007/s11240-006-9120>.
- Marta L. Marulanda, Luis G. Gutiérrez, María del Pilar Márquez. **MICROPROPAGATION OF *GUADUA ANGUSTIFOLIA* KUNTH**. Actual Biol 27 (82): 5-15, 2005



II Simposio Científico CINAP



GRACIAS POR SU
ATENCIÓN

