

UNIVERSIDAD: Universidad Nacional de Entre Ríos

NUCLEO DISCIPLINARIO: Ingeniería agrícola

TITULO DEL TRABAJO:

**OBTENCIÓN DE MÚLTIPLES BROTES IN VITRO DE *ALOE SAPONARIA* (HAW)
UTILIZANDO DIFERENTES COMBINACIONES HORMONALES**

AUTOR(es): DALZOTTO, Carlos Alberto, BILLARD, Cristina Ester*; LALLANA, Víctor Hugo*.

(*) Profesores coordinadores

CORREOS ELECTRONICOS DE LOS AUTORES: carlosdalzotto@yahoo.com.ar

PALABRAS CLAVES: *Aloe saponaria*, hormona, tasa de multiplicación
Aloe saponaria, hormón, taxa de multiplicação

Introducción

El género *Aloe*, pertenece a la familia de las Liliáceas y comprende unas 180 especies. El *Aloe saponaria* (HAW) es una planta herbácea perenne, originaria del sur de África. (Dimitri, 1972)

A partir del extracto de sus hojas se obtienen gel y polvo que son utilizados como materia prima para la elaboración de diferentes productos: alimenticios, cosmético y medicinales. (www.aloetrade.com.ar)

Es un cultivo que se está expandiendo lentamente a nivel de micro emprendimientos (Triccó, 2007), generalmente de pequeños productores rurales que lo realizan como producciones alternativas, en pequeñas superficies (menores a 1 ha) y se agrupan en forma cooperativa para la venta del producto. Tal es el caso de la Cooperativa Aloe del Litoral Ltda. integrada por 21 productores de la ciudad de Chajarí, Provincia de Entre Ríos (Argentina), que cuenta con una planta procesadora de hojas las que se pueden deshidratar y obtener polvo de aloe o se les extrae el gel para su comercialización.

El *A. saponaria* se propaga vegetativamente a través de hijuelos en su estado natural, presentando una tasa de multiplicación vegetativa de 6 a 8 hijuelos por planta con un tamaño desuniforme para la producción comercial; además existen riesgos de diseminar enfermedades fúngicas y bacterianas.

Mediante la aplicación de la técnica de cultivo in vitro, que consisten en la producción de plantas a partir de pequeñas porciones de ellas, cultivadas asépticamente con condiciones de ambiente y nutrición controladas (Hartmann y Kester, 1999), se permitirá aumentar la tasa de multiplicación y transferir a los productores plantines de *A. saponaria* de calidad y tamaño uniforme, en condiciones de ser transplantada a campo para aumentar o iniciar su cultivo.

Si bien hay experiencias de multiplicación in vitro para las especies de *Aloe vera* Mill (= *A. barbadensis*), (Cura et al., 2004; Hashemabadi y Kaviani, 2008; Baksha et al., 2005; Hosseini y Parsa, 2007); *A. polyphylla* (Abrie y Van Staden, 2001; Ivanova M. y Van Staden 2007) no se han encontrado trabajos relacionados con la especie *A. saponaria*, por lo que se parte de las experiencia de esas especies estudiadas.

A partir de (Teniendo en cuenta) lo investigado por Cura y colaboradores (2004) que obtuvieron múltiples brotes in vitro de *A. vera* L. con la adición de reguladores de crecimiento como: ácido indolbutírico (IBA) y benziladenina (BA) y lo logrado por Hashemabadi y Kaviani (2008) con el uso de ácido naftalenacético (ANA) en combinación con BA, planteamos nuestros ensayos.

Objetivo

El objetivo del trabajo fue ajustar la dosis y la combinación hormonal para obtener múltiples brotes a partir de yemas apicales de *Aloe saponaria* (HAW), aplicando la técnica “in vitro”.

Materiales y métodos

Se recolectaron hijuelos de plantas adultas seleccionadas de plantaciones de productores pertenecientes a la cooperativa “Aloe del Litoral Ltda.” de la zona de Chajarí, provincia de Entre Ríos (Argentina). Estos fueron llevados al invernáculo del laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuaria (UNER) donde se los colocó en macetas y se los cultivó hasta que produjeron nuevos hijuelos. Posteriormente se extrajeron los hijuelos sanos de tamaño comprendido entre 10 y 20 cm medidos desde la base del tallo hasta el extremo distal de la hoja más larga para poder ser cultivados en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Facultad de Ciencias Agropecuaria (UNER) aplicando la técnica de cultivo in vitro. En una primera etapa a cada hijuelo se le eliminaron las raíces y se lavaron con agua corriente y jabón líquido comercial. Posteriormente se eliminó totalmente las hojas externas de cada hijuelo y se realizó un corte transversal del follaje, quedando reducido la altura del explanto a 3 cm aproximadamente. Finalmente se realizó un segundo lavado con agua jabonosa y luego un enjuague con abundante agua destilada.

Para la etapa de desinfección de los explantos se usó alcohol 96° al 70% durante 50” e hipoclorito de sodio al 5% de producto comercial durante 15’ con el agregado de tween 20 como tensioactivo. Para finalizar la desinfección se llevó el material a la cámara de flujo laminar donde, en condiciones asépticas, se realizaron tres enjuagues consecutivos con agua destilada esterilizada. Previo a la siembra, se redujo el tamaño del explanto a 1 cm de altura y 0,5 cm de diámetro aproximadamente, dejando solo la yema apical y una hoja acompañante se los colocó en frascos de vidrios (150 cm³) conteniendo 30 mL de medio sólido Murashige & Skoog con el agregado de 30 g de sacarosa, 0,15 g de ácido cítrico para disminuir la oxidación y 5,5 g de Agar Agar Type I (HiMedia). Al medio básico se le adicionaron dos auxinas (ANA ácido naftalenacético, IBA ácido indolbutírico) y una citocinina (BA benziladenina) en distintas concentraciones y combinaciones. (Tabla N° 1)

Tratamientos	ANA (mg.L ⁻¹)	IBA (mg.L ⁻¹)	BA (mg.L ⁻¹)
1	--	--	--
2	--	1	0,1
3	0,5	--	0,5
4	--	--	1
5	0,5	--	2
6	0,5	--	0,1

Tabla N° 1: Identificación de los tratamientos teniendo en cuenta las concentraciones y combinaciones de auxinas y citocininas adicionadas al medio básico.

El pH de los medios fue ajustado, antes de adicionar el agar, a 5,6 – 5,8 con NaOH. Los frascos fueron obturados con papel de aluminio y esterilizados en autoclave a 121°C y 1 Kg. cm² durante 15 min.

Los frascos se incubaron en cámara de crecimiento con temperatura y luz controladas (27 °C ± 2 °C y 16 hs de luz y 8 hs de oscuridad).

Resultados y discusiones

Múltiples brotes

A los 7, 15 y 30 días después de la siembra (dds), se evaluó la tasa de multiplicación de los explantos en los diferentes tratamientos (ver Fig. N° 1).

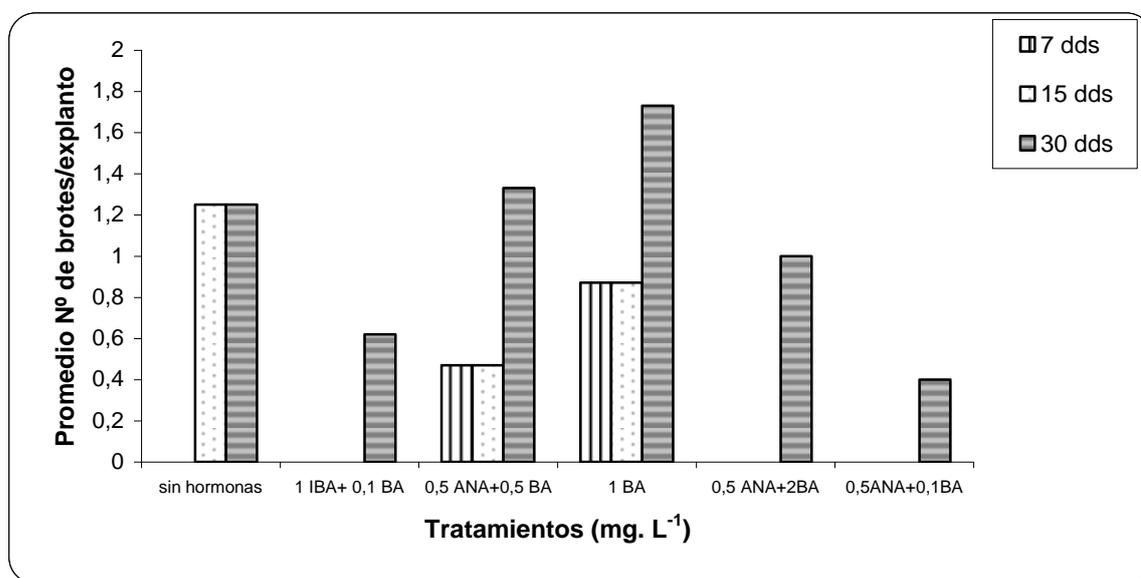


Figura N° 1: Efecto de las diferentes concentraciones y combinaciones de auxinas y citocininas sobre la tasa de multiplicación de *A. saponaria* (HAW) a los 7, 15 y 30 días después de la siembra.

En los tratamientos 3 y 4 (Tabla N° 1) a los 7 y 15 dds presentaron respuesta a la multiplicación con una tasa de 0,47 y 0,84 brotes/explantos respectivamente. A los 15 dds en el tratamiento 1 se logro 1,25 brotes/explantos. Al finalizar el ensayo la mayor tasa de multiplicación se logro con el tratamiento 4, obteniéndose 1,73 brotes/explanto. Siguiéndole la respuesta del tratamiento 3 con 1,33 brotes/explantos. En los tratamientos 2, 5 y 6 sus tasas de multiplicación fueron menores 1 brote/explanto.

Hashemabadi y Kaviani (2008) en la propagación de *A. vera* L, determinaron que la tasa de multiplicación obtenida a los 30 días después de la siembra fue de 3,15 brotes/explanto utilizando 0,5 mg.L⁻¹ ANA + 0,5 mg.L⁻¹ BA y 2,83 brotes/explanto con 0,5 mg.L⁻¹ ANA + 2 mg.L⁻¹ BA. Mientras que en *A. saponaria* encontramos una menor de tasa de multiplicación de 1,33 y 1 brotes/explanto para las mismas combinaciones y concentraciones.

Formación de callos

Se manifestó la formación de callos a los 30 dds en los tratamientos con la combinación 0,5 mg.L⁻¹ IBA + 0,5 mg.L⁻¹ BA (100 %) junto con la formación de múltiple brotes y la combinación 1 mg.L⁻¹ IBA + 0,1 mg.L⁻¹ BA (83%), para esta última combinación en investigaciones con *A. vera* L. (Cura et al., 2004) se promovió la regeneración de múltiples yemas (75 %).

Selección de combinaciones y concentraciones hormonales

Se seleccionaron los tratamientos que presentaron la mayor tasa de multiplicación (0,5 mg.L⁻¹ ANA + 0,5 mg.L⁻¹ BA y 1 mg.L⁻¹ BA) los que fueron utilizados en una nueva experiencia.

Las vitroplantas de *A. saponaria* de 30 días, fueron repicadas a los medios seleccionados, transcurridos 100 días después del repique (ddr) se evaluó la tasa de multiplicación. En la figura N° 2 podemos visualizar que en el tratamiento 3 (0,5 mg.L⁻¹ ANA + 0,5 mg.L⁻¹ BA), el 58,62 % de los explantos desarrollo 0 a 4 brotes mientras que el 41,38 % desarrollo más de 5 brotes por explantos. La mejor respuesta se logro con el tratamiento 4 (1 mg.L⁻¹ BA) donde el 72,41 % de los explantos dieron más de 5 brotes por explanto, dentro de los cuales el 13,79% desarrollaron más de 10 brotes.

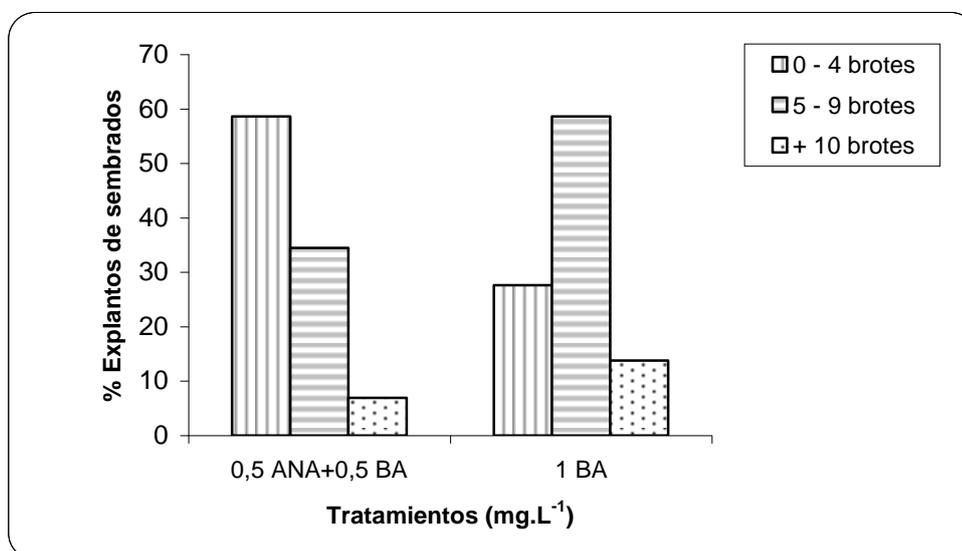


Figura N° 2: Efecto de las diferentes concentraciones y combinaciones de auxinas y citocininas sobre la tasa de multiplicación de *A. saponaria* (HAW) a los 100 días después del repique.

Al finalizar el ensayo se observó que el 31,03 % de los explantos repicados en el tratamiento 3 desarrollaron callos en la base junto con la multiplicación de yemas.

Conclusiones

A partir del objetivo establecido, podemos decir, que se pueden obtener múltiples brotes a partir de yemas apicales de *A. saponaria* (HAW), aplicando la técnica “in vitro” (ver Fig. N° 3).

De todas las concentraciones y combinaciones hormonales evaluadas la que ha inducido una mayor tasa de multiplicación (más de 5 yemas) sin formación de callos fue el medio que presentaba únicamente BA 1 mg.L⁻¹.



Figura N° 3: Múltiples brotes a partir de una yema apical de *A. saponaria* (HAW)

Bibliografía

ABRIE A. L. y VAN STADEN J. (2001). Micropropagation of the endangered *Aloe polyphylla*. *Plant Growth Regulation* 33: 19 – 23.

BAKSHA R., JAHAN M. A. A., KHATUN R. y MUNSHI J. L. (2005). Micropropagation of *Aloe barbadensis* Mill. Through *In vitro* culture of shoot tip explants. *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 15 (2): 121 – 126.

CURA A., REY H., y MROGINSKI L. (2004). Cultivo in vitro de tejidos para la regeneración de plantas de *Aloe vera* L. (Liliaceae). Facultad de Ciencias agrarias. IBONE. UNNE. Corrientes. Argentina. Resumen: A – 006.

DIMITRI M. J. (1972). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Volumen I. Editores: 2da. edición: M. J. Dimitri; 1era edición L. R. Parodi. Editorial ACME S.A.C.I. Bs. As. Página 240.

HARTMAN H. T. y KESTER D.E. (1999). Propagación de plantas “principios y prácticas”. Compañía editorial Continental S.A. México. Capítulo 16 y 17 (página 550 - 622) 760 páginas.

HASHEMABADI D. y KAVIANI B. (2008). Rapad micropropagation of *Aloe vera* L. Via shoot multiplication. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (12), pp. 1899 – 1902.

HOSSEINI R. y PARSA M. (2007). Micropropagation of *Aloe vera* L. Grown in South Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10 (7): 1134 – 1137.

IVANOVA M. y VAN STADEN J. (2007). Effect of ammonium ions and cytokinins on hyperhydricity and multiplication rate of in vitro regenerated shorts of *Aloe polyphylla*. Plant Cell Tiss Organ Cult (2008) 92: 227 – 231.

TRICCÓ H. R. (2007). Análisis de rentabilidad del cultivo de *Aloe saponaria*. Proyecto regional de diversificación. INTA Pergamino.