

PRODUCCIÓN ACELERADA DE SEMILLAS DE LEGUMINOSAS PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL CON EL EMPLEO DEL CULTIVO DE TEJIDOS

Maribel Quintana¹, José A. Nápoles¹, Beatriz Salas¹, Lisbet Ulloa¹, Yaldreisy Galdo¹ y Alejandro Carbonell²

1. Estación Sancti Spíritus. Instituto de Ganadería Tropical. MINAGRI. Cuba

2. Centro Universitario "José Martí" Sancti Spíritus. MES. Cuba

maribelquintanasanz@gmail.com; maribel@pastos.yayabo.inf.cu

Introducción

La biotecnología es de gran importancia en la satisfacción de necesidades alimentarias debido a que requiere menores tiempos, reduce costos y eficientiza la selección y mejoramiento de especies. El cultivo de tejidos vegetales incide como factor importante en la reproducción masiva y bajo condiciones controladas de material vegetal seleccionado. De ahí que el estudio, por esta vía, de los pastos mejor adaptados a las condiciones del país y de calidad, se hace necesario si se quiere lograr un incremento en la producción, tanto de leche como de carne, para el desarrollo ganadero.

Los resultados obtenidos en la producción de semillas de leguminosas prospectadas en la provincia de Sancti Spíritus, Cuba, con potencial para su uso en la ganadería, han sido lo suficientemente pobres como para no permitir un escalado rápido de ellas en la producción, así como, la profundización en su evaluación y estudio con vistas al mejoramiento. Es por ello que se considera de especial interés el estudio de la multiplicación *in vitro* de estas plantas, su adaptación a condiciones ambientales y a campo, para en un breve tiempo obtener suficiente cantidad de semillas de las especies más prominentes, además de la posibilidad futura de su mejora genética.

Materiales y Métodos

Para el cultivo *in vitro* de las leguminosas se utilizó como explante las yemas obtenidas de plántulas de semillas germinadas en condiciones estériles y segmentos nodales, de 1,5 cm de largo seleccionados del follaje en estado juvenil de plantas desarrolladas en campo, siendo probado en *Vigna luteola* SC-123, *Macroptilium atropurpureum* SE-72, *Alysicarpus vaginalis* SC-63, *Centrosema pubescens* SN-82 y *Crotalaria retusa* SE-61. Para la desinfección tanto de las semillas como de los segmentos nodales se empleó un lavado con agua de la pila y detergente, seguido de una inmersión en etanol (70 %) durante 30 segundos con una gota de Tween-20 y a continuación HgCl₂ (0.1 %) durante 20 minutos.

El medio de cultivo empleado fue el MS (Murashige y Skoog, 1962) con diferentes variaciones en los reguladores del crecimiento para el cultivo de yemas axilares y apicales, la inducción de callos y la regeneración de plantas. Como esterilizante químico se usó el vitrofural añadido al medio de cultivo en dosis de 0.116 g/L.

En la adaptación a condiciones ambientales y a campo se probaron tres sustratos diferentes, así como la influencia de la aplicación de una solución enraizadora a las vitroplantas (ANA 0.01 %).

El análisis de los resultados se realizó a través de la aplicación de pruebas estadísticas adecuadas a experimentos de cultivo *in vitro* (Quintana *et al.*, 1999).

Resultados y Discusión

Los resultados en *V. luteola* mostraron que en un medio MS libre de reguladores de crecimiento las yemas a los 7-10 días comienzan a crecer formando un vástago y a la vez emergen raíces, desarrollándose una plántula que a los 30-40 días puede ser sometida a otro ciclo de multiplicación o trasladada a adaptarse en condiciones ambientales, obteniéndose una brotación de 97,5 %. Similares resultados se lograron en *M. atropurpureum* en medio MS basal o suplementado con niveles bajos de ANA (0,1mg/L), así como en *C. retusa*, la que a dosis bajas de hormonas (0.5 mg/L de 6-BAP y 0.1 mg/L de ANA) verificó un coeficiente de multiplicación de 4.5 vitroplantas, el cual se elevó a 6.6 cuando se subcultivó en un medio MS libre de reguladores de crecimiento. Comportamiento diferente se obtuvo para el *C. pubescens* donde las diferentes combinaciones empleadas de reguladores, tales como 6-BAP, kinetina y ANA no permitieron una proliferación eficiente de yemas en cultivo.

La mejor formación de callos fue para dosis de 1-1.5 mg/L de 6-BAP en oscuridad. Los callos fueron evaluados por la escala de Santana (1982). La regeneración más favorable se obtuvo al emplear la kinetina y el thidiazuron, observándose puntos de crecimiento meristemático y formación de embriones en *V. luteola* SC-123.

Organogénesis fue mostrada en *C. retusa* a niveles bajos de reguladores de crecimiento (0.5 mg/L de 6-BAP y 0.1 mg/L de ANA), con una tendencia del 6-BAP a inhibir la regeneración de raíces ante bajas o nulas concentraciones de ANA. Las vitroplantas enraizaron en medio líquido, con 3 mg/L de AIA.

Se comprobó que el vitrofural brinda la protección necesaria al cultivo *in vitro* con un índice de contaminación de sólo 2.5 %; sin observarse síntomas de fitotoxicidad.

Los sustratos estudiados permitieron una buena adaptación a las condiciones ambientales (tabla 1). Es factible el uso de una solución enraizadora (ANA 0.01 %) debido al efecto estimulador de las auxinas, conociendo que las raíces originadas *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo*.

Tabla 1. Comportamiento del porcentaje de supervivencia de las vitroplantas.

Tratamientos	Estiércol		Compost		Mezcla de suelo + Casting	
	Sin ANA	Con ANA	Sin ANA	Con ANA	Sin ANA	Con ANA
% de supervivencia	82.5 ^b	95.8 ^a	80.8 ^b	94.2 ^a	81.7 ^b	98.3 ^a

*Letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0.05$.

La adaptación a campo también mostró resultados satisfactorios reportándose un 100 % de supervivencia de las vitroplantas, sin observarse diferencias fenotípicas de ningún tipo entre las plantas de semillas y las vitroplantas. La fase de extensión en

campo ha producido 320 kg de semilla, cantidad suficiente para suplir las necesidades del sector productivo en una extensión de 82 ha, si se siembra en cultivo puro; si se utilizan dichas leguminosas asociadas a gramíneas se abarcaría 164 ha.

Referencias

- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum*, 15: 473-497.
- Quintana, Maribel; Quintana, M^a Dolores; Ríos, L.; Nápoles, J. A. y Carbonell, A. 1998. Pruebas estadísticas recomendables para experimentos de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. *Rev. Electrónica INFOCIENCIA*. Vol. 2.No. 1. Enero-Marzo.
- Santana, N.1982. Determinación de un medio para la obtención de callos en variedades de caña de azúcar (*Saccharum spp. Híbrido*) "*in vitro*". *Cultivos tropicales*. 24. Pp. 567 - 577.