

EFFECTIVIDAD DE DOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN EN EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEMILLAS DE CLAVEL ESPAÑOL (*DIANTHUS CARYOPHYLLUS* L.)

Yanelis Castilla, Ma. Esther González

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas

Correo electrónico: yanelis@inca.edu.cu

Resumen corto

Una de las dificultades que se plantean para la producción de plantas ornamentales y flores en Cuba es la escasez de métodos de propagación que permitan un alto coeficiente de multiplicación en un corto período de tiempo, lo cual se puede superar mediante la propagación *in vitro*. Una de las etapas principales de la propagación *in vitro* de una especie, resulta su establecimiento o introducción a las condiciones *in vitro*, ya que es necesario lograr su desinfección sin dañar los tejidos del explante. En el presente trabajo nos propusimos el objetivo de determinar la efectividad de dos métodos de desinfección de semillas de clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.) como paso previo al cultivo *in vitro*. En el primer método se realizó la desinfección de 40 semillas con una solución de lejía al 5 % durante 15 minutos y en el segundo método se realizó la desinfección de 40 semillas con una solución de cloramina-T al 1% por 20 minutos. De manera general, se considera que ambos métodos son efectivos para el establecimiento *in vitro* de semillas de clavel español, ya que lograron la desinfección del 100 % de las semillas y no inhibieron la germinación ni el posterior desarrollo de las plántulas, como se demuestra por los porcentajes de plantas con raíces y plantas con hojas superiores al 80 %, que se obtienen a los 14 días de la siembra.

Palabras clave: clavel español, semillas, desinfección.

Abstract

One of the difficulties in the production of ornamental plants and flowers in Cuba is the shortage of propagation methods that allow a high multiplication coefficient in a short period of time, which can be achieved by means of the propagation *in vitro*. One of the main stages of the propagation *in vitro* of a species, is their establishment or introduction to the conditions *in vitro*, since it is necessary to achieve their disinfection without damaging the tissue of the explants. The objective of this work was determining the effectiveness of two methods of disinfection of seeds of *Dianthus caryophyllus* L. like previous step to the cultivation *in vitro*. In the first method was carried out the disinfection of 40 seeds with a solution of 5% during 15 minutes and in the second method was carried out the disinfection of 40 seeds with a Cloramina-T solution to 1% for 20 minutes. In general, both methods are effective for the establishment *in vitro* of seeds of *Dianthus caryophyllus*, was achieved the disinfection of 100% of the seeds and didn't inhibit the germination and development of the plants, it was demonstrated by the percentages obtained of the plants with roots and plants with leaves, superiors to 80% to the 14 days of the culture.

Key words: *Dianthus caryophyllus* L, seeds, disinfection.

Introducción

Entre los principales problemas que enfrenta la producción de plantas y flores ornamentales en Cuba en la actualidad, se encuentra la escasez de métodos de propagación que permitan una eficiente multiplicación de las plantas en un corto período de tiempo. La Biotecnología es capaz de brindar métodos que superen estas dificultades, mediante la propagación *in vitro*, que tiene las ventajas de que permite aumentar el coeficiente de multiplicación independientemente de las condiciones ambientales; facilitar la manipulación de las especies en un tiempo breve, lo cual viabiliza su comercialización, y obtener plantas libres de enfermedades. Una de las etapas principales de la propagación *in vitro* de una especie, resulta su establecimiento o introducción a las condiciones *in vitro*, ya que es necesario lograr su desinfección sin dañar los tejidos del explante.

Una de la plantas más estimadas como flores de corte es el clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.), planta herbácea perenne, perteneciente a la familia Caryophyllaceae, que agrupa más de 2200 especies (Judd *et al.*, 1999). De manera general, los claveles representan aproximadamente el 12 % de la exportación mundial de flores, por lo que constituyen unas de las más cotizadas en el mercado internacional debido a su belleza, su duración después de cortados, su posibilidad de florecer todo el año y su resistencia al embalaje y al transporte (Fundación Chile, 2004).

Por todo lo antes expuesto, en el presente trabajo nos propusimos como objetivo determinar la efectividad de dos métodos de desinfección de semillas de clavel español como paso previo al cultivo *in vitro*.

Materiales y Métodos

Desinfección con lejía

Inmediatamente después de la apertura del sobre que contiene las semillas de claveles españoles, estas fueron trasladadas al cuarto de siembra y en el flujo laminar se sumergieron en una solución de lejía (NaOCl, 6 % de cloro activo) al 5 % durante 15 minutos. Posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en una placa Petri con papel de filtro humedecido para facilitar su manipulación y siembra.

Desinfección con cloramina-T

Igualmente se trasladaron las semillas al cuarto de siembra y en el flujo laminar se sumergieron en una solución de cloramina-T al 1% durante 20 minutos. Posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en una placa Petri con papel de filtro humedecido para facilitar su manipulación y siembra.

Siembra de las semillas *in vitro*

Se utilizaron 40 semillas para cada método, cada una de ellas fue colocada en tubos que contenían 12 mL de medio de cultivo compuesto por las sales de MS (Murashige y Skoog, 1962), sacarosa (30 g·L⁻¹) y Gelrite (2 g·L⁻¹). Las plantas se mantuvieron por 35 días a 25±2 °C y luz artificial de 1000 lux de intensidad.

Se evaluaron las siguientes variables cada 7 días durante dos semanas: porcentaje de semillas contaminadas, primer día de germinación, porcentaje de germinación, porcentaje de plantas con raíz, porcentaje de plantas con hojas.

Resultados y discusión

Ambos métodos de desinfección resultaron igualmente efectivos para la desinfección de las semillas de clavel español, ya que no se obtuvieron semillas contaminadas, tanto en la primera como en la segunda evaluación.

En el caso de la desinfección con lejía, los primeros indicios de germinación aparecieron entre el cuarto y quinto día de sembradas las semillas, observándose las dos hojas cotiledonares de color verde intenso y la presencia de raíces. Al realizar la primera evaluación, un total de 30 semillas habían germinado, lo que representa el 87.71 % (Tabla 1), cifra superior a la obtenida por Montes *et al.* (1997) en un estudio realizado para la propagación de cuatro variedades de claveles, entre ellas la analizada en este trabajo, para la cual se obtuvo un 62.0 % de germinación a los 21 días. Este bajo porcentaje de germinación probablemente se debió a que la esterilización efectuada por estos investigadores, dañó la cubierta de las semillas y el embrión, a pesar de haber empleado las mismas condiciones de desinfección que utilizamos en nuestro estudio. Este porcentaje de germinación también supera al obtenido en estudios realizados en claveles chinos, donde a los 10 días de sembradas las semillas solamente había germinado el 54.60 % de ellas en medio MS y fue muy inferior (49.34 %) en medio Knudson (Pinares *et al.*, 2002). Del total de semillas germinadas a los siete días, el 71.43 % poseía raíces (Tabla 1), la mayoría de estas con una longitud de 1 cm aproximadamente. En esta primera evaluación se observaron plántulas con el primer y segundo par de hojas, representando en total el 54.28 % de las sembradas (Tabla 1). Este resultado evidencia la calidad de las semillas y el efecto del medio utilizado, el cual favorece la germinación de las mismas y el rápido crecimiento y desarrollo de las plántulas.

En el caso de la desinfección con cloramina-T, los primeros indicios de germinación de las semillas se obtuvieron entre el tercer y cuarto días de la siembra, observándose la salida de las dos primeras hojitas y el ápice de la radícula. En la primera evaluación se obtuvo un porcentaje de germinación del 85 %, muy semejante al obtenido durante la desinfección con lejía (Tabla 1). En cambio, el porcentaje de plantas con raíz (42.5 %) en esta evaluación fue mucho menor con respecto al obtenido durante la desinfección con lejía. Sin embargo, se logró un mayor porcentaje de plantas con hojas: 67.5 %.

En la segunda evaluación, en el método de desinfección con lejía la cantidad de semillas germinadas se mantuvo igual. Sin embargo, la cantidad de plántulas con raíces y con más de dos pares de hojas aumentó a un 80.0 % (Tabla 1). En esta fecha se comenzó a observar el tercer y cuarto par de hojas, resultados que coinciden con los obtenidos por Pinares *et al.* (2002) en claveles chinos, donde se observaron como promedio 4 y 8 pares de hojas a los 10 y 30 días de sembradas las semillas en el mismo medio utilizado en este estudio, lo que representa un mayor número de yemas a utilizar en la posterior propagación de las plántulas.

En el método de desinfección con cloramina-T, en la segunda evaluación aumentó el porcentaje de semillas germinadas a un 88.70 %, igualmente aumentó el porcentaje de plantas con raíces a un 79.55 % y el porcentaje de plantas con hojas a un 81.24 %. A diferencia del método de desinfección con lejía, este método de desinfección con cloramina-T se utiliza por primera vez en semillas de esta especie, ya que este desinfectante presenta determinadas ventajas sobre la lejía, como por ejemplo: no es irritante ni corrosivo, es biodegradable y proporciona actividad y protección por períodos más prolongados que los desinfectantes a base de hipoclorito (www.farquimica.com).

De manera general, se considera que ambos métodos son efectivos para el establecimiento *in vitro* de semillas de clavel español, ya que lograron la desinfección del 100 % de las semillas y no inhibieron la germinación ni el posterior desarrollo de las plántulas, como se demuestra por los porcentajes de plantas con raíces y plantas con hojas tan similares que se obtienen ya en la segunda evaluación.

Tabla 1. Porcentajes de germinación, formación de raíces y de hojas de las plántulas obtenidas por ambos métodos de desinfección.

Variables	1 ^{ra} evaluación		2 ^{da} evaluación	
	Lejía	Cloramina-T	Lejía	Cloramina-T
% de germinación	87.71	85	87.71	88.70
% de plantas con raíces	71.43	42.5	80	79.55
% de plantas con hojas	54.28	67.5	80	81.24

Referencias bibliográficas

- Fundación Chile, 2004. www.fundacionchile.cl/fc/flores/analisis.cfm
- Judd W. *et al.*, 1999. Plants Systematics.
- Montes, S. *et al.* 1997. Micropropagación de variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* L. y *Dianthus plumarius* L.) mediante el cultivo *in vitro* de meristemos. *Cultivos tropicales*. 18 (2): 75-81.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*. 15: 473-497.
- Pinares, A. 2002. Efecto del medio de cultivo en la germinación *in vitro* de semillas de claveles chinos (*Dianthus chinensis* L.) y en el desarrollo de las plántulas obtenidas. Libro Resumen del VI Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal. p 75.
- www.farquimica.com