

## Formación de callos a partir de inflorescencias inmaduras en Cedro y Caoba híbrida

Marcos Daquinta\*, Mariela Cid, Yarianne Lezcano, Danilo Pina, Romelio Rodríguez. \*Autor para correspondencia.

Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos. Centro de Bioplantas. Universidad de Ciego de Avila. Carretera a Morón Km 9. CP 69450. Cuba. e-mail: mdaquinta@bioplantass.cu

### RESUMEN

Las Meliáceas son de gran importancia en la construcción y fabricación de muebles, entre otras aplicaciones. *Swietenia mahogany* x *Swietenia macrophylla* es un híbrido original de las Islas del Caribe, en Cuba se conoce como Caoba híbrida. La propagación natural de la Caoba híbrida y el Cedro (*Cedrela odorata*) es por semillas y asexual por injertos. Las mismas son limitadas, aún más cuando se desea introducir la especie a la producción. Las técnicas biotecnológicas pueden ayudar a encontrar nuevas vías para su propagación. El objetivo de este trabajo fue lograr la formación de callos en *Swietenia mahogany* x *Swietenia macrophylla* y *Cedrela odorata* con vistas a inducir la regeneración de plantas a partir de estos callos. Árboles de 40 años de *Swietenia* híbrida y *Cedrela odorata* fueron usados. A partir de estas plantas se tomaron inflorescencias jóvenes las cuales fueron desinfectadas con Bicloruro de Mercurio al 0.25% (m/v) durante 10 minutos, que se enjuagaron con agua destilada estéril y fueron establecidas en el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) + 0.1-1.0 mg.l<sup>-1</sup> Tidiazuron. Se obtuvieron callos nodulares con buenas características morfológicas y estructuras embriónicas en la oscuridad en Caoba híbrida.

Palabras clave: Caoba híbrida, Cedro, embrión somático, Tidiazuron

Abreviaturas: Tidiazuron: N-1,2,3-thiadiazol-5-yl-N-phenylurea

### ABSTRACT

Meliaceas have great importance in the construction and furniture production, among other applications. *Swietenia mahogany* x *Swietenia macrophylla* is a hybrid originally from the Caribbean islands, in Cuba its known as hybrid mahogany. In *Swietenia* hybrid and *Cedrela odorata* the natural propagation is by seed and asexual by graft. These forms of propagation are limited, in the production of these species. Biotechnological techniques may help to find new ways for its propagation. The objective of this paper was to provide callus formation in *Swietenia mahogany* x *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata* for the *in vitro* propagation. Mature trees of 40 years old (*Swietenia* hybrids and *Cedrela odorata*) were used. Young inflorescences from branches were taken from these plants, which were disinfected with the same protocol reported for other Meliaceas and they were established in the culture medium MS + 0-1 mg.l<sup>-1</sup> Thidiazuron. Callus nodular with good morphogenic characteristics were obtained. The somatic embryos were achieved in the darkness in *Swietenia mahogany* x *Swietenia macrophylla*

Key words: mahogany hybrid, Red Cedar, somatic embryos, Thidiazuron

Abbreviations: Thidiazuron- N-1,2,3-thiadiazol-5-yl-N-phenylurea

### INTRODUCCIÓN

Las Meliáceas son de vital importancia para los programas de construcción y de fabricación de muebles, entre otras aplicaciones. La Caoba híbrida es una Meliacea originaria a partir del cruzamiento natural de *Swietenia macrophylla* x *Swietenia mahogany* por lo que en Cuba se le conoce como Caoba híbrida. Entre las características particulares de esta especie está el vigor con respecto a sus progenitores, por lo que disponer de un método de propagación para clonar las pocas plantas disponibles en el país es de mucha importancia para los programas de mejoramiento genético.

Entre las Meliáceas trabajadas por métodos biotecnológicos están la *Cedrela montana* (Carrizoza

y Serrano, 1997), *Melia azedarach* (Mroginski y Scocchi, 1998), *Azadirachta indica* (Murthy y Saxena, 1998), *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla* (Maruyama y Ishii, 1997; Valverde *et al.*, 1998).

La propagación natural de estas especies ocurre estacionalmente por medio de semillas y asexual por injertos. Las mismas son limitadas, aún más cuando se desea introducir la especie a la producción. Las técnicas biotecnológicas pueden ayudar a encontrar nuevas vías para su propagación. El objetivo del presente trabajo fue lograr la formación de callos en las especies *Swietenia macrophylla* x *Swietenia mahogany* (Caoba híbrida) y *Cedrela odorata* (Cedro) para la posterior regeneración de plantas a partir de los callos formados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Formación de callos en inflorescencias inmaduras de Caoba híbrida y Cedro

Se utilizaron árboles adultos de 40 años de edad aproximadamente, recomendados por la Empresa Forestal Integral de Ciego de Ávila. A partir de estas plantas se tomaron segmentos de inflorescencias jóvenes, se siguió el mismo protocolo de desinfección referido para otras Meliáceas que comprendió el empleo de 0.25% de Bicloruro de Mercurio durante 10 minutos (Daquinta *et al.*, 2003). Posteriormente se colocaron en el medio de cultivo propuesto por Murashige y Skoog (1962)(MS) al que se le adicionaron diferentes concentraciones de Tiazuron (0.1, 0.25, 0.5 y 1 mg.l<sup>-1</sup>). Los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 1.2 kg/cm<sup>2</sup> durante 15 minutos. A las ocho semanas se evaluó el número de explantes que formaron callos y las características de los mismos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se observa el porcentaje de formación de callos en segmentos de inflorescencias inmaduras de Caoba híbrida. Se encontró que los tratamientos con mayores concentraciones de Tiazuron fueron los de mejores resultados para la formación de callos en este tipo de explante en dicha especie forestal sin diferencias significativas entre ellos.

Los callos obtenidos a partir de inflorescencias inmaduras de Caoba híbrida fueron nodulares con buenas características morfogénicas donde se observaron, además, estructuras embriogénicas (Figura 2). En los segmentos de inflorescencias comenzó su formación por el extremo cortado, al igual que ha sido descrito para Caoba africana y Cedro del Himalaya pero en los extremos de los segmentos de raquis de hojas (Daquinta *et al.*, 2003).

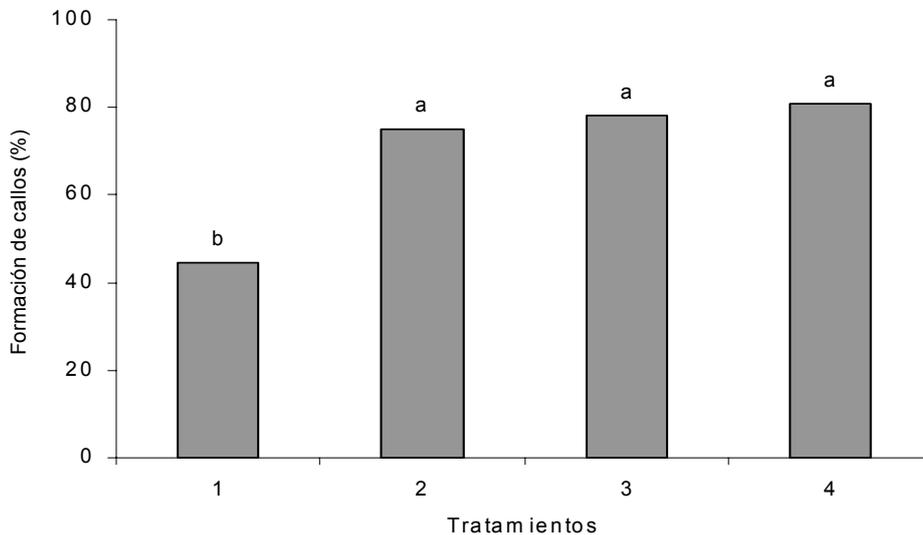


Figura 1. Formación de callos a partir de segmentos de inflorescencias inmaduras de Caoba híbrida en medios de cultivo MS con diferentes concentraciones de tiazuron. (Tratamientos 1 - 0.1 mg.l<sup>-1</sup>, 2- 0.25 mg.l<sup>-1</sup>, 3 - 0.5 mg.l<sup>-1</sup>, 4 - 1 mg.l<sup>-1</sup>).

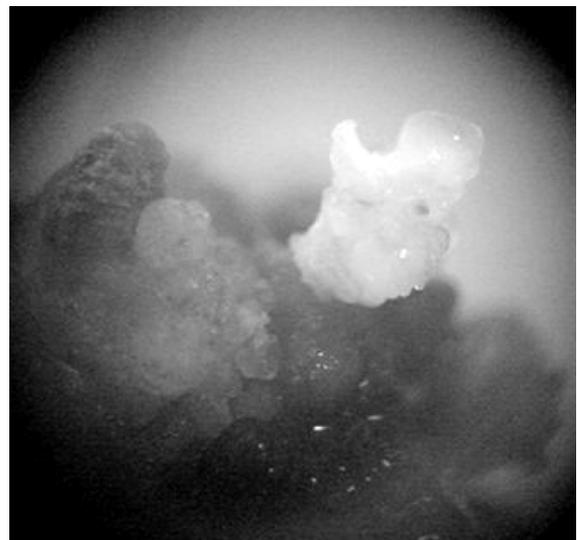
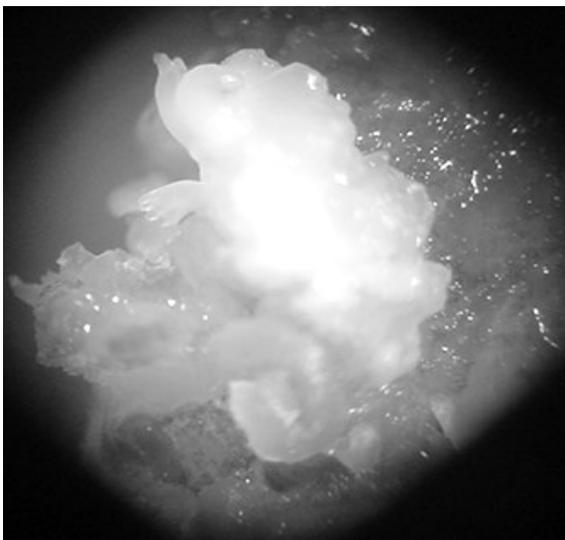


Figura 2. Callos con estructuras embriogénicas formadas a partir de inflorescencias inmaduras de Caoba híbrida en el medio de cultivo MS con 0.25 mg.l<sup>-1</sup> de Tiazuron.

En la figura 3 se aprecia la formación de callos a partir de inflorescencias de Cedro. Se obtuvo una respuesta similar a la obtenida en Caoba híbrida, pero con porcentajes de formación de callos inferiores. En esta especie a partir de 0.25 mg.l<sup>-1</sup> de Tiazuron (tratamiento 2) se produjo una ligera disminución en el porcentaje de formación de callos sin diferencias significativas. El uso de las inflorescencias como explantes para la inducción de embriogénesis somática ha sido utilizado en otras especies forestales, ya que es el único tejido de la copa del árbol que se pueda seleccionar con

características juveniles. La carencia de brotes epicórmicos en las Meliáceas hace que estas especies sean recalcitrantes al cultivo de tejidos.

En la figura 4 se muestra el tipo de callo obtenido a partir de las inflorescencias de Cedro, aunque se observaron zonas de color verde, no se logró la diferenciación de plantas en esta especie forestal. Esta es la primera vez que se señala la formación de callos en Cedro (*Cedrela odorata*) a partir de material vegetal de árboles adultos seleccionados.

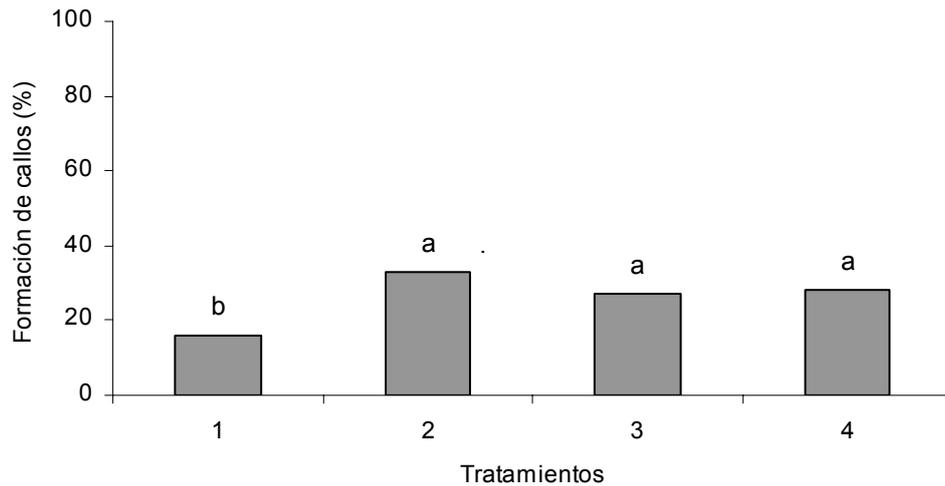


Figura 3. Formación de callos a partir de segmentos de inflorescencias inmaduras de Cedro (*Cedrela odorata*) en medios de cultivo MS con diferentes concentraciones de tiazuron. (Tratamientos 1 - 0.1 mg.l<sup>-1</sup>, 2- 0.25 mg.l<sup>-1</sup>, 3 - 0.5 mg.l<sup>-1</sup>, 4 - 1 mg.l<sup>-1</sup>).



Figura 4. Callo formado a partir de segmentos de inflorescencias inmaduras de Cedro (*Cedrela odorata*) en el medio de cultivo MS con 0.25 mg.l<sup>-1</sup> de Tiazuron.

En Caoba híbrida es la primera comunicación de formación de callos con estructuras embriogénicas a partir de explantes de árboles adultos. La efectividad del Tiazuron para la inducción de callos y embriones somáticos ha sido señalada por diferentes autores, y específicamente en plantas de la familia Meliácea fue indicada por Vila *et al.* (2003), pero con embriones cigóticos inmaduros como explantes.

En otras especies tales como Caoba africana y Cedro del Himalaya Daquinta *et al.* (2003) obtuvieron con concentraciones intermedias de este regulador del crecimiento (0.5 mg.l<sup>-1</sup> de Tiazuron) el mayor porcentaje de formación de callos tanto en hojas como en raquis.

Igualmente, Barrueto *et al.* (1997, 1999) a partir de segmentos de hojas y nudos de plántulas de

*Miconia* sp y *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* lograron los mayores porcentajes de formación de callos y regeneración de plantas con el uso de Tidiázuron. Por su parte Chen *et al.* (1999) y Chang y Chang (2000) lograron a partir de segmentos de hojas de *Oncidium* sp y rizomas de *Cymbidium* sp, respectivamente, la regeneración de plantas con 0.01-1.0 mg.l<sup>-1</sup> de Tidiázuron. Estos resultados indican el amplio uso de este regulador del crecimiento en el cultivo *in vitro* de plantas.

## CONCLUSIONES

En árboles adultos seleccionados de Caoba híbrida y Cedro se logró la formación de callos a partir de segmentos de inflorescencias jóvenes en el medio de cultivo MS (1962) suplementado con 0.25 mg.l<sup>-1</sup> de Tidiázuron. En Caoba híbrida se apreció la formación de callos con estructuras embriogénicas. Hasta la fecha no se tiene información de ningún trabajo donde se señala la embriogénesis somática a partir de material vegetal de árboles adultos, los pocos trabajos publicados parten de material vegetal juvenil

## REFERENCIAS

- Barrueto LP, ACM Gomes, SBR Da Costa y JB Teixeira (1997) Micropropagation of *Miconia* sp, a woody *Melastomaceae* from Brazil, using thidiazuron as plant growth regulator. *Revista Brasileira de Fisiología Vegetal* 9(1): 21-25
- Barrueto LP, ACMG Machado, SBRC Carvalheira y ACM Brasileiro (1999) Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 56: 17-23
- Carrizoza M, C Ramirez, E Guerrero, LM Santamaria y E Hodson de Jaramillo (1994) Cultivo de Tejidos para la Propagación y Mejoramiento de Especies forestales. Memorias del III congreso. Tomo II, pp. 547-559, Pontífice Universidad Javeriana
- Carrizoza, MS y C Serrano (1997) Propagación de *Cedrela montana* por cultivo *in vitro*. Memorias del IV Congreso. Tomo II, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, pp 255-260
- Chang, C y WC Chang (2000) Effect of thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinense* Willd *in vitro*. *Plant Growth Regulation* 30: 171-175
- Chen, JJ, C.Chang y WC Chang (1999) Direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium* Gower Ramsey and subsequent plant regeneration. *Plant Cell Reports* 19: 143-149
- Daquinta, M, M Cid, Y Lezcano, D Pina, R Rodríguez y M Escalona (2003) Calogénesis en Meliáceas exóticas (*Khaya nyasica* Stapf. y *Toona ciliata*). *Biotecnología Vegetal* 3(2): 123-125
- Maruyama E, K Ishii, A Saito y K Migita (1989) Micropropagation of Cedro (*Cedrela odorata* L.) by shoot-tip culture. *J. Jpn. For. Soc.* 71 (8): 329-331
- Maruyama E, I Kinoshita, K Ishii, K Ohba y A Saito (1997) Germoplasma conservation of tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mat. and *Jaracaranda mimosaeifolia* Don., by shoot tip encapsulation in calcium-Alginate and storage at 12-25 °C. *Plant Cell Reports* 16: 393-396
- Maruyama, E y K Ishii (1997) Tissue culture studies on big-leaf mahogany *Swietenia macrophylla*. *Proc. Int. Workshop BIO-REFOR*, Australia
- Mroginski, LA y AM Scocchi (1998) Conservación de germoplasma de Paraíso (*Melia azedarach*) mediante cultivo *in vitro* de meristemos. III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal, pp. 214-215. La Habana
- Murashige, T y FA Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497
- Murthy, BNS y PK Saxena (1998) Somatic embryogenesis and planta regeneration of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Plant Cell Reports* 17: 469-475
- Valverde, L, M Dufour y VM. Villalobos (1998) *In vitro* organogenesis in *Albizia guachapele*, *Cedrela odorata* and *Swietenia macrophylla*. *Revista Biológica Tropical* 46(2): 225-228
- Vila, SA, González, H Rey y L Mroginski (2003) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of *Melia azedarach* (Meliácea). *In vitro Cell. and Dev. Biol. Plant* 39(5): 283-287