

MICROPROPAGACIÓ DE FICUS ELÀSTICA cv. ROBUSTA: EFECTE DE LES CONCENTRACIONS HORMONALS EN ELS MEDIS DE MULTIPLICACIÓ

Núria Cañameras, Marta Arroyo, F.X. Fàbregas
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona
Anna Aldrufeu
Aldrufeu & Associats - Casa de Camp 59 - Vilassar de Mar

Data de recepció: desembre de 1991

RESUM

Un primer assaig de multiplicació ens mostra que la concentració mínima de citoquinines per induir la proliferació de nous brots és de 10 mg/l de KIN, 10 mg/l de 2ip o 1.5 mg/l de BAP amb presència d'AIB. Posteriorment se subcultivaren microbrots en 28 medis que contenen KIN (20 mg/l), 2ip (20 mg/l) o BAP (1.5, 2.5, 5, 10 i 20 mg/l) + AIB (0, 0.5, 1 i 1.5 mg/l)

durant 2 mesos (1 subcultiu). Se seleccionaren 5 medis per estudiar la durada òptima de subcultiu (5, 6, 7 o 8 setmanes). Altes taxes de multiplicació i poca formació de cal·lus s'obtenen utilitzant de 1.5 a 5 mg/l de BAP addicionat d'un baix nivell d'AIB durant 6 setmanes.

Mots clau: Auxina, citoquinina, cultiu de teixits, durada subcultiu.

SUMMARY

Micropropagation of ficus elastica cv. robusta: effect of hormonal concentrations on multiplication media

A first trial showed that the minimum concentration of cytokinins to induce shoot proliferation was 10 mg/l of KIN, 10 mg/l of 2ip or 1.5 mg/l of BAP, all of them complemented with IBA. Shoots were cultivated in 28 media of KIN (20 mg/l), 2ip (20 mg/l) or BAP (1.5, 2.5, 5, 10 and 20 mg/l) comple-

mented with IBA (0, 0.5, 1 and 1.5 mg/l) for 2 months (1 subculture). Five media were selected to study the optimal duration of subculture (5, 6, 7 or 8 weeks). Good proliferation rates and low callus formation were obtained with use of between 1.5 and 5 mg/l of BAP and a low level of IBA just 6 weeks.

Key words: auxin, cytokinin, time of subculture, tissue culture.

INTRODUCCIÓ

La micropropagació representa actualment la millor tècnica per multiplicar comercialment *Ficus* (FARTHING, 1988). En el cas de *Ficus elastica* cal provocar la brotació de les gemes axil·lars (HUSSEY, 1980), a diferència d'altres *Ficus* com per exemple el *Ficus lyrata*, en el qual s'indueix la brotació de gemes adventícies (JONA & GRIBAUDO, 1987). La micropropagació de *Ficus elastica*, tot i que les plantes no assoleixen una grandària comercial fins als 6 mesos de sortir de «in vitro», dona plantes amb

entrenusos curts, amb ramificació basítona i color de fulles verd intens, a més amb la possibilitat d'obtenir plantes uniformes durant tot l'any. En la bibliografia existent (BATLLE & MELE, 1984) les taxes de multiplicació no són gaire altes i a més es produeix una quantitat important de cal·lus a la base de tofes. El *Ficus elastica* (cultivar «Robusta») és sensible a les condicions ambientals de la cambra de cultiu, especialment a la temperatura, que pot arribar a ser determinant (POUPET et al., 1983).

MATERIAL I MÈTODES

S'utilitzaren microbrots de *Ficus elastica* (cultivar «Robusta») en fase de proliferació en els 3 assaigs de multiplicació programats. L'estoc inicial emprat havia estat prèviament subcultivat comercialment durant un període de 3 anys en el medi descrit per BATLLE i MELE (1984), amb una freqüència de subcultius de vuit setmanes. El medi nutritiu emprat en tots els assaigs que descriurem a continuació fou el proposat per MURASHIGE & SKOOG (1962), amb addició de 0.4 mg/l de tiamina, 100 mg/l d'inositol, 30 g/l de sacarosa, 8 g/l d'agar i ajustant el pH a 5.7-5.8.

Per als assaigs 1 i 2 s'utilitzaren pots de vidre que contenien 100 ml de medi/pot. En l'assaig 3 s'empraren tubs d'assaig amb 16 ml de medi/tub.

La temperatura de la cambra de cultiu fou de 25°C ± 1°C i el fotoperíode de 16 h. de llum amb una intensitat lumínica de 50.5 μ EPARm²s⁻¹.

Assaig 1

Es formularen 44 tractaments hormo-nals, combinant les següents concentra-cions citoquiníniques i auxíniques, amb una durada de subcultiu de 8 setmanes:

KIN (1-5-10 mg/l)
2ip (1-5-10 mg/l)+ IBA (0-0.5-1-1.5 mg/l)
BAP (0.5-1.5-2.5-5-10 mg/l)

Assaig 2

Atenent els resultats obtinguts en l'assaig 1 es testaren les següents combina-cions, resultant un total de 28 tractaments:

KIN (20 mg/l)
2ip (20 mg/l)+ IBA (0-0.5-1-1.5 mg/l)
BAP (1.5-2.5-5-10-20 mg/l)

Assaig 3

Els millors medis de l'assaig 2 se selec-cionaren per estudiar la durada òptima de subcultiu (5, 6, 7 o 8 setmanes).

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Assaig 1

La taxa viable de multiplicació és molt baixa, amb valors propers a 1 en aquells tractaments formulats amb KIN, 2ip o amb 0.5 mg/l de BAP (amb o sense auxina) i significativament inferiors als que contenen dosis iguals o superiors a 1.5 mg/l de BAP. Els millors resultats s'aconsegueixen amb els tractaments que contenen 5 mg/l de BAP més 0.5 mg/l AIB (4.82 microbrots viables/tofa) (Taula 1). Aquests resultats concorden amb els de JONA i GRIBAUDE (1987) per a *Ficus lyrata*, que indiquen que la presència de BAP és absolutament necessària per a la formació de brots. A baixes dosis de AIB (0.5 i 1 mg/l) s'observa que quan incrementa la concentració de BAP augmenta significativament la taxa viable, la qual torna a davallar amb concentracions iguals o superiors a 10 mg/l.

Les majors formacions de cal·lus s'obtenen en les combinacions amb BAP o amb 2ip. En general la presència de cal·lus augmenta amb la concentració d'auxina (Taula 2). BATLLE i MELE (1984) també observaren que la presència de BAP en el medi de cultiu provoca la formació de cal·lus, efecte que es veu potenciat per la presència d'AIB.

El nombre de fulles obtingut per microbrot indica que les combinacions hormonals impliquen uns resultats estadísticament diferents, en funció principalment de la citoquinina. El menor nombre de fulles per microbrot correspon a aquells tractaments que donen major taxa de multiplicació, conseqüència lògica del poder organogènic d'aquest material, lligat o bé a un desenvolupament de fulles o bé a un increment de la taxa de multiplicació.

Els microbrots obtinguts amb els tractaments que donen majors taxes de multiplicació presenten sempre fulles de color verd i tendres, mentre que en aquells que s'han desenvolupat en medis que presenten baixes taxes de multiplicació s'aprecien fulles amb coloracions vermelloses i coriàcies.

Assaig 2

Les taxes viables més baixes s'obtenen en els tractaments formulats amb KIN (propers a 1). D'aquests resultats se'n desprèn que la KIN no és una citoquinina aconsellable per reproduir *Ficus elastica*. Els tractaments amb 2ip mostren un augment de la taxa de multiplicació, respecte al primer assaig, i donen unes taxes significativament superiors a 1 (Taula 3). Aquests resultats concorden amb els de JOINER (1981) qui va obtenir bons resultats amb aquesta hormona per a multiplicar en el seu cas *Ficus benjamina*, així com també amb els assaigs de POUPEL et al. (1983), que recomanen altes concentracions de la 2ip. Les taxes de multiplicació més elevades es donen en general en aquells medis amb nul o baix contingut auxínic (0 o 0.5 mg/l d'AIB) i amb baixes concentracions de BAP (<5 mg/l). D'aquest assaig se'n desprèn que la resposta de multiplicació de la BAP se satura entorn als 10 mg/l.

Els tractaments que contenen 20 mg/l de KIN donen poca formació de cal·lus, mentre que els formulats amb BAP o 2ip presenten major formació de cal·lus (Taula 4). D'acord amb els estudis de LANE (1979) els majors pesos de cal·lus s'obtenen en tractaments amb altes concentracions auxiliars.

TAULA 1
EFFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUINÍNÍQUES EN LA TAXA VIABLE
 (Assaig 1)
EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS ON USEFUL RATE
 (Essay 1)

HORMONA (mg/l)		AIB			
		0	0,5	1	1,5
KIN	1	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
	5	1.10 a	1.00 a	1.00 a	1.02 a
	10	1.00 a	1.02 a	1.00 a	1.03 a
2iP	1	1.00 a	1.02 a	1.02 a	1.02 a
	5	1.20 a	1.10 a	1.06 a	1.02 a
	10	1.37 a	1.38 a	1.16 a	1.00 a
BAP	0.5	1.15 a	1.00 a	1.02 a	1.02 a
	1,5	4.19 def	3.23 b	3.25 b	4.24 def
	2,5	3.85 bcd	3.74 bcd	3.49 bc	3.77 bcd
	5	4.32 def	4.82 f	4.60 ef	4.28 def
	10	4.24 def	3.90 cde	3.26 b	4.05 def

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

Significant level: 5%.

Same letters means no difference between treatments.

TAULA 2
EFFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUINÍNÍQUES
EN EL PES SEC DEL CAL·LUS (mg) (Assaig 1)
EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS
ON CALLUS DRY WEIGHT (Essay 1)

HORMONA (mg/l)		AIB			
		0	0,5	1	1,5
KIN	1	8.96 a	27.19 a-c	28.18 bc	35.48 b-e
	5	16.56 ab	53.15 e-h	58.83 f-j	60.19 f-k
	10	31.34 b-d	53.68 e-h	41.16 c-f	62.06 f-k
2iP	1	23.32 a-c	60.62 f-k	70.90 g-n	71.96 g-n
	5	62.37 f-k	78.59 i-n	86.68 l-n	82.15 j-n
	10	55.31 e-i	66.62 g-l	87.28 l-n	86.12 l-n
BAP	0.5	23.84 a-c	23.87 a-c	54.31 e-h	70.00 g-m
	1,5	49.00 d-g	74.25 h-n	83.68 k-m	87.87 l-n
	2,5	56.00 e-i	71.25 g-n	91.68 mn	94.00 n
	5	55.37 e-i	71.33 g-n	81.43 i-n	81.31 j-n
	10	48.93 d-g	56.37 e-i	69.31 g-m	73.37 h-n

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

Significant level: 5%.

Same letters means no difference between treatments.

TAULA 3

EFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUINÍNÍQUES EN LA TAXA VIABLE

(Assaig 2)

EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS ON USEFUL RATE (Essay 2)

HORMONA (mg/l)		AIB			
		0	0,5	1	1,5
KIN	20	1.00 ab	0.86 a	1.07 ab	1.00 ab
2iP	20	3.03 e-g	2.43 c-e	2.28 c-e	1.65 bc
BAP	1.5	6.21 j-k	5.15 i-j	4.74 h-j	3.59 f-h
	2.5	5.85 j-k	7.06 k	3.90 g-i	3.87 g-i
	5	5.89 jk	6.15 jk	5.17 ij	5.42 i-k
	10	4.08 g-i	4.68 h-j	4.09 g-i	4.73 h-j
	20	2.69 d-f	2.12 c-e	1.87 cd	1.59 bc

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

*Significant level: 5%.**Same letters means no difference between treatments.*

TAULA 4
EFFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUINÍQUES
EN EL PES SEC DEL CAL·LUS (mg) (Assaig 2)
EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS ON CALLUS DRY WEIGHT (Essay 2)

HORMONA (mg/l)		AIB			
		0	0,5	1	1,5
KIN	20	41.86 a	38.00 a	52.83 a	51.44 a
2iP	20	89.26 bc	79.12 bc	87.72 bc	81.83 bc
BAP	1.5	81.46 bc	85.81 bc	94.81 bc	92.00 bc
	2.5	83.81 bc	97.31 c	88.43 bc	91.00 bc
	5	85.25 bc	91.62 bc	80.84 bc	92.69 bc
	10	90.68 bc	81.53 bc	90.37 bc	93.09 bc
	20	86.40 bc	84.46 bc	72.34 bc	70.37 b

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

Significant level: 5%.

Same letters means no difference between treatments.

En conjunt el nombre de fulles per microbrot està comprès entre 4 i 6 fulles per a tots els tractaments, tot i que cal destacar que el major nombre de fulles es dona en els tractaments amb baixa taxa de multiplicació. En general en aquest assaig totes les fulles presentaren un color verd o verd-pàlid.

Assaig 3

Les taxes viables de multiplicació augmenten significativament fins a la sisena setmana en tots els tractaments, a excepció feta del format amb 5 mg/l de BAP + 0.5 mg/l d'AIB, que es continuen incremen-

tant fins a la setena setmana. En valors absoluts s'observa que en els tractaments que contenen 2.5 mg/l de BAP amb o sense auxina, l'augment de la taxa viable es produeix fins a la vuitena setmana. Cal destacar que el medi de cultiu que genera majors taxes en el termini més curt de temps (6 setmanes) és el format amb 1.5 mg/l de BAP sense auxina (Taula 5).

El pes sec de la fracció cal·lus obtinguda és similar entre els tractaments estudiats (Taula 6). En general en valors absoluts s'observa que el pes sec del cal·lus augmenta al llarg del subcultiu.

TAULA 5

EFFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUINÍNÍQUES
EN LA TAXA VIABLE SEGONS LA DURADA DEL SUBCULTIU (Assaig 3)
EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS ON USEFUL RATE ACCORDING TO THE
DURATION OF SUBCULTURE (Essay 3)

BAP mg/l	1.5	2.5	2.5	5	5
AIB mg/l	0	0	0.5	0	0.5
setmana 5	3.64 a-c	4.35 a-d	3.28 a-c	2.68 ab	2.54 a
setmana 6	8.08 f	5.95 d-f	6.34 d-f	5.75 d-f	3.45 a-c
setmana 7	8.55 f	6.99 e-f	6.76 d-f	4.84 c-e	5.94 d-f
setmana 8	8.16 f	8.22 f	8.45 f	6.04 d-f	4.51 b-e

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

Significant level: 5%.

Same letters means no difference between treatments.

TAULA 6

EFFECTE DE LES CONCENTRACIONS AUXÍNÍQUES I CITOQUÍNÍQUES
 EN EL PES DEL CAL·LUS SEGONS LA DURADA DEL SUBCULTIU (Assaig 3)
 EFFECT OF AUXIN AND CITOKININ CONCENTRATIONS ON CALLUS DRY WEIGHT
 ACCORDING TO SUBCULTURE DURATION (Essay 3)

BAP mg/l	1.5	2.5	2.5	5	5
AIB mg/l	0	0	0.5	0	0.5
setmana 5	21.42 a	20.30 a	32.15 ab	29.89 ab	40.15 a-c
setmana 6	35.10 ab	34.80 ab	55.10 a-c	38.00 a-c	43.45 a-c
setmana 7	46.30 a-b	51.15 a-c	46.40 a-c	53.65 a-c	92.15 d
setmana 8	61.83 bc	58.00 a-c	74.63 cd	64.60 bc	99.40 d

Nivell de significació 5%.

Lletres iguals significa que no hi ha diferències entre tractaments.

Significant level: 5%.

Same letters means no difference between treatments.

CONCLUSIONS

Els millors tractaments per a multiplicar *Ficus elastica* cv. Robusta (alta taxa de multiplicació + poca formació de cal·lus) són aquells que contenen 1.5 mg/l de BAP

sense auxina i 2.5 o 5 mg/l de BAP AMB 0.5 mg/l de AIB o sense auxina i la durada del subcultiu ha de ser de 6 setmanes.

BIBLIOGRAFIA

BATLLE, A.; MELE, E. (1984). Micropropagación «in vitro» de *Ficus elastica*. Comunicaciones de la III reunión de ornamentales. Jornadas Técnicas. S.E.C.H.: 140-146.

FARTHING, J.G. (1988). Propagation techniques for *Ficus robusta*. Acta Horticulturae. Propagation of ornamentals, 226: 489-498.

- HUSSEY, G. (1980). Reviewed general principles and current progress of tissue culture to plant propagation. Micropropagation. Part 1. The garden. Vol. 106, parts 7 & 8: 286-325.
- JOINER, J.N. (1981). Foliage plant production. Ed. Prentice-Hall.
- JONA, R.; GRIBAUDO, I. (1987). Adventitious bud formation from leaf explants of *Ficus lyrata* «in vitro» culture. Hort-Science, 22 (4): 651-653.
- LANE, W.D. (1979). The influence of growth regulators on root and shoot initiation from flax meristem tips and hypocotyls «in vitro». *Physiol. Plant.*, 45: 250-264.
- POUPET, A.; JACQUEMONT, R.; BECK, D.; BETTACHINI, B.; ONESTO, J.P.; POUPET, R. (1983). Réflexions sur les problèmes posés pour la multiplication «in vitro» de quelques végétaux d'ornement. P.H.M. *Revue Horticole*, 229: 35-43.