



# REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS UNIVERSIDAD JAVERIANA

## CONTENIDO

	Pág.
EDITORIAL .....	7
TRABAJOS DE INVESTIGACION .....	9
Sistemas de producción y cambios en la fertilidad del suelo en la reserva integral "La Macarena": Germán Amat & Orlando Vargas .....	11
Estudio del Fitoplancton durante las primeras etapas de llenado de la Central Hidroeléctrica de Betania (Huila-Colombia): Santiago Duque & John Ch. Donato .....	29
Micorrizas en <i>Decussocarpus rospigliosi</i> (Pilger) De Laubenfls. Una Podocarpaceae del bosque andino: Eduardo Guerrero & Elizabeth Hodson de Jaramillo .....	53
Propagación vegetativa de <i>Alnus acuminata</i> H.B.K. por cultivo de tejidos vegetales: Elizabeth Hodson de Jaramillo. Carmen E. Rodríguez & Alexandra Chemás J. ....	67
Anillos de Boole. Segunda Parte: Carlos Ruiz S. ....	79
NOTAS .....	101
¿Y la Matemática para qué: Iván Castro Ch. ....	103
Notas sobre la vegetación acuática de Colombia. I: Estructura: Udo Schmidt-Mumm .....	107
Registro de una Colonia de Nidación de "Guacharos" <i>Steatornis caripensis</i> Humboldt (STEATORNITHIDAE): Enrique Zerdá O. & Jaime E. Correa Q. ....	123
DISTINCIONES .....	131
PROGRAMA DE POSTGRADO .....	135
Maestrías en Biología y Microbiología	
Especialización en Microbiología Médica .....	140
LIBROS .....	143
RESUMENES DE TESIS .....	145

---

**PROPAGACION VEGETATIVA DE *Alnus acuminata* H. B. K. POR  
CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES<sup>1</sup>**

*Elizabeth Hodson de Jaramillo<sup>2</sup>*  
*Carmen E. Rodríguez O.<sup>2</sup>*  
*Alexandra Chemás J.<sup>2</sup>*

**RESUMEN**

*Se ensayaron varios tipos de explante y se seleccionaron las yemas axilares para la micropropagación de *A. acuminata*; estas fueron tomadas a partir de plantas de 12-18 meses de edad bajo condiciones de invernadero.*

*Como medios basales fueron evaluados los macro y micronutrientes de Murashige-Skoog (1x; 0.5x), Gresshoff y Doy modificado por Sommer (Sommer 2), Woody Plant Medium (WPM) y Nitsch con y sin la adición de reguladores de crecimiento: 6-Benziladenina (BA) de 0-44mM como citocinina y Acido Naftalenacético (ANA) entre 0 y 0.107mM como auxina.*

*Los mejores resultados en cuanto al desarrollo foliar y formación de raíces se obtuvieron en MS/2 con 0.107mM de ANA y 44mM de BA y en el medio Sommer 2 con 0.107mM de ANA con 22 y 44mM de BA.*

*Las yemas desarrolladas provenientes de estos medios fueron micropropagadas utilizando segmentos nodales en MS y Sommer 2, diluidos a la mitad con y sin hormonas; en donde también se llevó a cabo el enraizamiento.*

- 
1. La etapa inicial del presente trabajo contó con el apoyo parcial de la CAR y fue realizado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Biología de la Universidad Javeriana.
  2. Unidad de Biología Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana. Apartamento Aéreo 56710.

### ABSTRACT

*Several types of tissue were cultured, and axilar buds selected as explants for micropropagation of *A. acuminata*. Whole plants were raised from axilar buds isolated from plants 12-18 months old, maintained in greenhouse conditions.*

*As basal media were evaluated: Macro and micronutrients of Murashige-Skoog (1x; 0.5x), Greshoff & Doy modified by Sommer (Sommer 2), Woody Plant Medium (WPM) and Nitsch with or without the addition of growth regulators: 6-Benziladenine (BA) 0-44mM as citoquinin and Naftalenacetic Acid (NAA) 0-0.107mM as auxin.*

*The best results in foliar and root development were obtained in the MS medium half strength with 0.107mM NAA and 44mM BA in the Sommer 2 medium, with addition of 0.107mM BA and 22-44mM BA.*

*The developed shoots provenient from these media were micro-propagated using nodal segments grown in MS/2 and Sommer without hormones, in wich the rooting was achieved.*

*Palabras clave: Micropropagación - Propagación vegetativa - Aliso.*

### INTRODUCCION

Colombia cuenta con una gran riqueza forestal, un 34% de la superficie del país corresponde a bosques no intervendios, los cuales son talados a un ritmo muy acelerado. El estudio realizado en 1984 por IGAC, INDERENA Y CONIF, revela una tala de 25.4 millones de hectáreas respecto al área total de bosques reportada en 1966 (64.5 millones de hectáreas) (12). Esta deforestación causa un fuerte impacto ecológico así como una pérdida invaluable de recursos genéticos cuyas repercusiones incluyen entre otras, cambios en el clima, erosión y disminución del poder de retención de agua en las cuencas hidrográficas (7).

Aunque los programas de reforestación en Colombia se han intensificado, la reposición del bosque no es suficiente y la demanda de material para la reforestación aumenta cada día.

En las últimas décadas se han desarrollado metodologías para la propagación vegetativa de plantas, como el cultivo de tejidos vegetales cuya aplicación permite disminuir algunos de los problemas relacionados con los procedimientos tradicionales y facilita la propagación rápida y masiva de genotipos seleccionados (1, 4). Adicionalmente permite controlar el desarrollo de las plántulas y facilita el uso de mezclas de clones o el empleo de varios genotipos para evitar el riesgo que supone una población demasiado homogénea (1, 16). Los adelantos logrados en esta área ofrecen un alto potencial de desarrollo; sin embargo, se

debe realizar un estudio cuidadoso y objetivo sobre la eficacia de esta tecnología para cada especie y de acuerdo con el objetivo deseado intensificar las investigaciones con el fin de eliminar las barreras fisiológicas y genéticas que dificultan los avances (3).

Aunque el desarrollo del cultivo de tejidos en forestales no ha sido tan rápido como en especies agrícolas, se han logrado avances importantes en algunas especies como *Cupressus sempervirens*, *Pinus radiata*, *Alnus glutinosa*, *Eucalyptus robusta*, *Hevea brasiliensis* y *Tectona grandis* (3). Las aplicaciones actuales de la tecnología buscan la propagación clonal y la generación de variabilidad.

Nuestro país posee una alta diversidad de especies vegetales, sin embargo, algunas de ellas desaparecen sin que lleguemos a conocerlas debido a la falta de interés en la realización de investigaciones tendientes a lograr la adecuación y desarrollo de tecnologías que respondan eficazmente a la solución de nuestros problemas.

*Alnus acuminata*, es una especie tropical de gran utilidad para programas de recuperación de cuencas hidrográficas, mejoramiento de los campos de pastoreo, reforestación, y como cercas vivas. Desde el punto de vista comercial la madera se recomienda para la elaboración de tableros enlistonados, cajas livianas para empaques, lápices y pulpa de papel.

Por tratarse de una especie considerada de importancia ecológica y comercial, el presente trabajo buscó iniciar estudios en sistemas de Cultivo de Tejidos Vegetales como metodología importante de apoyo a programas de propagación y mejoramiento de esta especie.

## MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos, de la Unidad de Biología Vegetal del Departamento de Biología de la Universidad Javeriana.

Como fuente de material vegetal se utilizó material de semillero en buen estado fisiológico y sanitario, de 12 a 18 meses de edad proveniente de los viveros de la Corporación Autónoma Regional de las cuencas de los ríos Bogotá, Ubaté y Suárez (CAR); y de los viveros de la estación la Florida del INDERENA. Las plantas fueron mantenidas en condiciones de invernadero y 20 y 10 días previos a la toma de las muestras, se trataron con una mezcla de bactericida-fungicida (1:1) compuesta por Sulfato de Estreptomycina y Benlate (0,5 gr/1).

Como explantes se utilizaron yemas axilares y terminales, las cuales fueron desinfectadas en una solución de Hipoclorito de Sodio al 2,5% durante 5 minutos, y enjuagadas varias veces en agua destilada estéril.

Los medios basales (sales minerales) ensayados fueron: Murashige y Skoog (MS) (9) completo y a la mitad; Gresshoff y Doy modificado por Sommer denominado en este estudio Sommer 2 (13). Nitsch (10) y Woody Plant Medium (WPM) (8), suplementados con las vitaminas de Gamborg (B 5), con excepción del medio Nitsch al cual se le adicionó su propia formulación de vitaminas. Como fuente de energía y como agente solidificante los medios contenían sacarosa al 2%, y agar-agar al 0.6% respectivamente. El pH de los medios se ajustó a 5,6.

Se evaluaron diferentes combinaciones hormonales de Acido Naftalenacético (ANA) entre 0 y  $0,107\mu\text{M}$  (0 a 0,02 mg/ l); y 6-Benciladenina (BA) entre 0 y  $44\mu\text{M}$  (0 a 10 mg l) (Tabla 1).

Una vez desinfectado el material y bajo condiciones de asepsia, se retiraron algunos promordios foliares y se sembraron yemas de 2 a 4 mm en frascos de boca ancha de 100 ml de capacidad, conteniendo 20 ml de medio. El explante se colocó en posición vertical teniendo en cuenta su polaridad. Para cada tratamiento se efectuaron 10 réplicas repitiéndose el ensayo cuatro veces. Los cultivos fueron incubados a una temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , con un fotoperíodo de 16 horas y una intensidad lumínica aproximada de 2.000 lux.

Se realizaron transferencias cada 3 a 4 semanas con el fin de renovar los nutrientes y facilitar el desarrollo de las yemas. Para la inducción de raíces se ensayaron los medios MS/2 y Sommer 2/2 (Sommer 2, diluido a la mitad en su

**Tabla N° 1. Tratamientos hormonales**

BA \ ANA	$0\mu\text{M}$	$0,054\mu\text{M}$	$0,107\mu\text{M}$
$0\mu\text{M}$	X	X	X
$11\mu\text{M}$	X	X	X
$13,2\mu\text{M}$	X	X	X
$22,0\mu\text{M}$	X	X	X
$33,0\mu\text{M}$	X	X	X
$44,0\mu\text{M}$	X	X	X

concentración de sales) en presencia y ausencia de Acido Indolbutírico (IBA) ( $5$  y  $15\mu\text{M}$ ).

El endurecimiento se llevó a cabo transfiriendo las plantas enraizadas "in vitro" a suelo estéril, cuando la parte aérea presentaba un tamaño de 3-5 cm y las raíces mostraban un desarrollo considerado adecuado; estas fueron cubiertas con vasos desechables transparentes durante tres semanas con el fin de mantener una humedad relativa alta y gradualmente adaptarlas a condiciones de transplante.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En los ensayos preliminares, se encontró un alto porcentaje de oxidación y baja supervivencia de las yemas terminales, razón por la cual se continuó trabajando con yemas axilares. Con el fin de inducir desarrollo y aumentar el número de yemas axilares disponibles, se eliminó la dominancia apical en las plantas y se tomaron como explantes las yemas inducidas según lo recomendado por Bonga con el fin de mantener la juvenilidad del explante (2). La mejor respuesta se obtuvo con yemas axilares de un tamaño de 3-5mm, en contraste con los trabajos realizados por Tremblay y Lalonde quienes utilizaron yemas terminales de 4-6mm. de longitud en *A. glutinosa*, *A. crispa*, *A. japónica* y otras cuatro especies del género (14).

Los resultados obtenidos en las evaluaciones preliminares con los medios MS, MS 2, Nitsch y WPM, llevaron a seleccionar como adecuados los medios MS/2 y Sommer 2 para continuar el trabajo, lo cual coincide con la respuesta encontrada por Garton y colaboradores quienes obtuvieron el desarrollo adecuado de las yemas al cultivar *A. glutinosa* en medio MS 2, estos autores también describen un desarrollo escaso de las yemas en medios con alto contenido de sales especialmente de Nitrógeno (5).

Sin la adición de hormonas, se presentó crecimiento pobre de la parte aérea y no hubo producción de raíces ni formación de callo. Respuesta similar se obtuvo en los tratamientos carentes de BA; sin embargo los tratamientos hormonales evaluados mostraron comportamientos variados, probablemente debido al estado fisiológico de los explantes (Gráficas 1 y 2, Tabla 2). Se obtuvo la mejor respuesta en cuanto al desarrollo de hojas y formación de raíces (obtención de plantas completas), en explantes sometidos a concentraciones hormonales de  $0.107\mu\text{M}$  de ANA más 22 y  $44\mu\text{M}$  de BA en el medio Sommer 2; y a  $0,107\mu\text{M}$  de ANA y  $44\mu\text{M}$  en el medio MS/ 2. En la mayoría de los tratamientos evaluados se presentó desarrollo foliar, respuesta que según se observa en las gráficas fue menor en el medio Sommer 2.

Se observó mayor formación de callo en el medio MS/2 con todos los tratamientos hormonales exceptuando los que contenían  $44\mu\text{M}$  de BA, en los cuales el desarrollo de callo fue superior en el medio Sommer 2.

Los tratamientos hormonales evaluados para la inducción de raíces ocasionaron la muerte de los explantes por oxidación. El enraizamiento se produjo

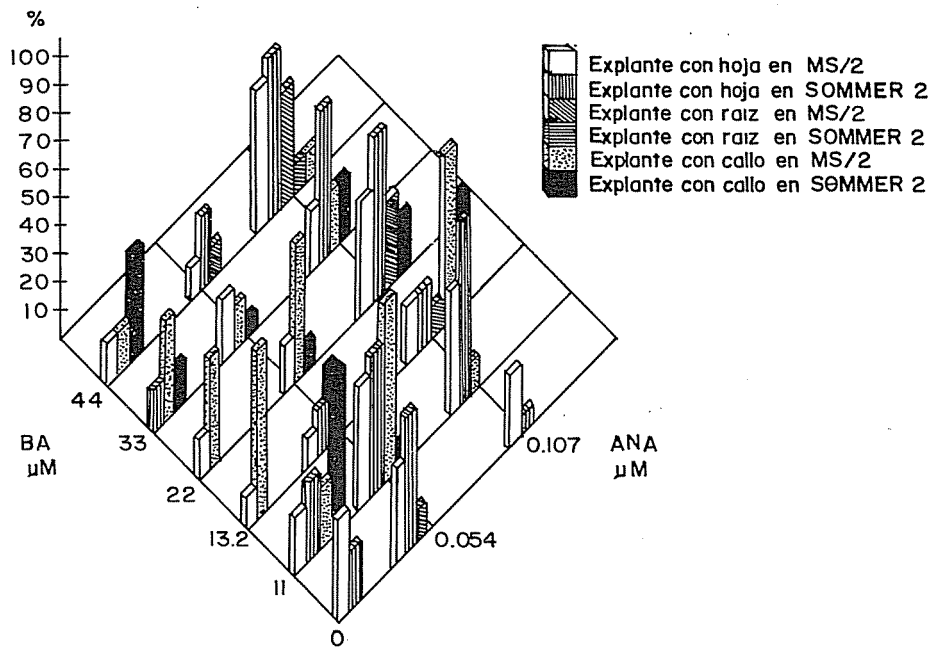


Figura 1. Porcentajes de desarrollo de hojas, raíz y callo.

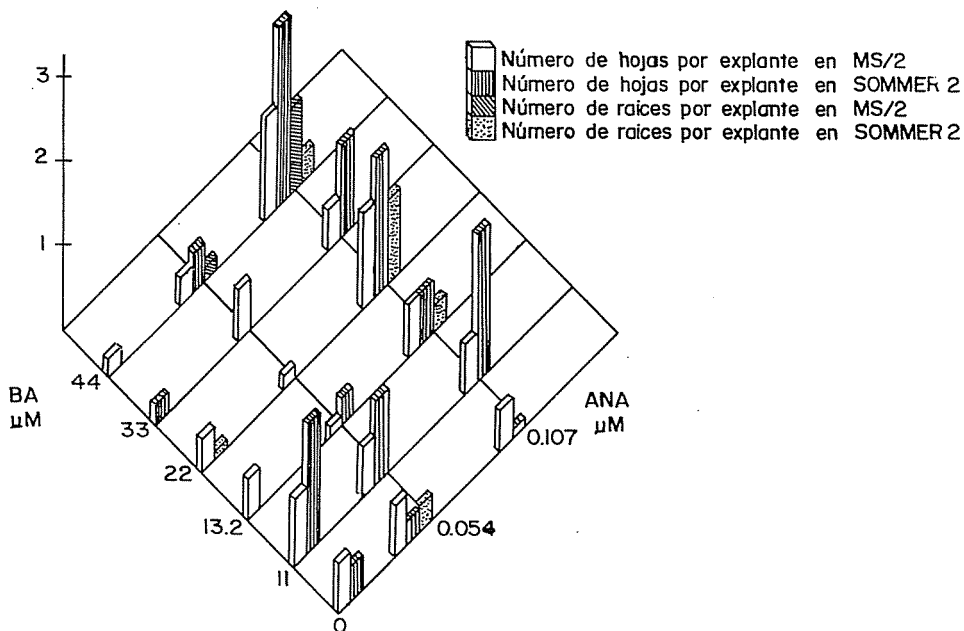


Figura 2. Número promedio de hojas y raíces producidas por explante.

**Tabla N° 2. Porcentajes de producción de hoja, raíz y callo en los medios MS/2 y Sommer 2 con diferentes tratamientos hormonales.**

Tratamientos Hormonales $\mu\text{M}$	Medio de cultivo	% de produc. de hoja	% de produc. de raíz	% de produc. de callo	N° de hojas por explante	N° de raíces por explante		
0.000	ANA BA	MS/2	36.0	0.0	0.0	0.50	0.00	
		Sommer 2	21.4	0.0	0.0	0.36	0.00	
	11.0	MS/2	20.0	0.0	25.0	0.60	0.00	
		Sommer 2	30.0	0.0	60.0	1.10	0.00	
	13.2	MS/2	10.0	0.0	60.0	0.40	0.00	
		Sommer 2	0.0	0.0	0.0	0.00	0.00	
	22.0	MS/2	14.3	0.0	35.7	0.36	0.00	
		Sommer 2	0.0	10.0	0.0	0.00	0.07	
	33.0	MS/2	0.0	0.0	35.7	0.36	0.00	
		Sommer 2	14.3	0.0	14.3	0.29	0.00	
	44.0	MS/2	14.3	0.0	14.3	0.14	0.00	
		Sommer 2	0.0	0.0	35.7	0.00	0.00	
	0.054	0.0	MS/2	30.0	0.0	0.0	0.40	0.00
			Sommer 2	50.0	10.0	0.0	1.30	0.20
11.0		MS/2	42.9	0.0	64.3	0.50	0.00	
		Sommer 2	50.0	0.0	7.1	0.86	0.00	
13.2		MS/2	7.1	0.0	28.6	0.07	0.00	
		Sommer 2	14.3	0.0	0.0	0.21	0.00	
22.0		MS/2	20.0	0.0	50.0	0.10	0.00	
		Sommer 2	0.0	0.0	10.0	0.00	0.00	
33.0		MS/2	21.4	0.0	14.3	0.57	0.00	
		Sommer 2	0.0	0.0	0.0	0.00	0.00	
44.0		MS/2	10.0	10.0	0.0	0.20	0.10	
		Sommer 2	20.0	0.00	0.0	0.30	0.00	
0.107		0.0	MS/2	21.4	0.0	0.0	0.29	0.00
			Sommer 2	7.1	0.0	0.0	0.07	0.00
	11.0	MS/2	40.0	0.0	10.0	0.50	0.00	
		Sommer 2	60.0	0.0	0.0	1.50	0.00	
	13.2	MS/2	20.0	0.0	60.0	0.40	0.00	
		Sommer 2	20.0	10.0	40.0	0.40	0.20	
	22.0	MS/2	40.0	0.0	0.0	1.10	0.00	
		Sommer 2	60.0	30.0	20.0	1.70	1.00	
	33.0	Ms/2	20.0	0.0	20.0	0.30	0.00	
		Sommer 2	50.0	0.0	20.0	0.70	0.00	
	44.0	Ms/2	50.0	40.0	10.0	1.60	1.00	
		Sommer 2	60.0	10.0	20.0	2.40	0.30	



espontáneamente a partir de las yemas desarrolladas en el medio MS/2 con  $44\mu\text{M}$  de BA más  $0,054$  o  $0,107\mu\text{M}$  de ANA, en el medio Sommer 2/2 la formación de raíces se presentó en las yemas provenientes de los tratamientos con  $0,107\mu\text{M}$  de ANA y  $13,2\mu\text{M}$ ,  $22\mu\text{M}$  y  $44\mu\text{M}$  de BA, lo cual contrasta con los resultados obtenidos por Perinet y por Tremblay y colaboradores quienes indujeron enraizamiento en varias especies del género, con la adición de  $1\mu\text{M}$  de IBA en el medio MS completo(11, 14, 15).

La micropropagación se realizó a partir de las yemas desarrolladas in-vitro, mediante separación y siembra de segmentos nodales, en los medios MS/2 y Sommer 2/2 en los cuales también se obtuvo el enraizamiento. (Figura 3).

El endurecimiento de las yemas desarrolladas, se logró después de tres semanas de su trasplante a suelo, favorecido por la reducción gradual de la humedad relativa a la que se estaban sometidos los explantes in-vitro (Figura 4).

## CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos y bajo las condiciones de este ensayo se concluye:

1. El explante más adecuado para la propagación de *A. acuminata* (H.B.K.) son yemas axilares en desarrollo activo de 3-5 mm de longitud.
2. Los medios MS/2 y Sommer 2, permitieron el mejor desarrollo de los explantes.
3. Las combinaciones hormonales  $0,107\mu\text{M}$  de ANA más  $22$  y  $44\mu\text{M}$  de BA en el medio Sommer 2, y  $0,107\mu\text{M}$  de ANA más  $44\mu\text{M}$  de BA en MS/2 indujeron el desarrollo de hojas y formación de raíces en mayores proporciones.
4. Se obtuvo el enraizamiento espontáneo de las yemas en los medios MS/2 y Sommer 2/2, en los cuales también se llevó a cabo la micropropagación de segmentos nodales de las yemas desarrolladas.

## RECOMENDACIONES

Sería de gran utilidad continuar los trabajos con esta especie, evaluando diferentes reguladores de crecimiento solos y combinados, con el fin de lograr la formación de yemas adventicias aumentando la eficiencia de esta técnica para la propagación de *A. acuminata*, dada su importancia desde el punto de vista ecológico y comercial.

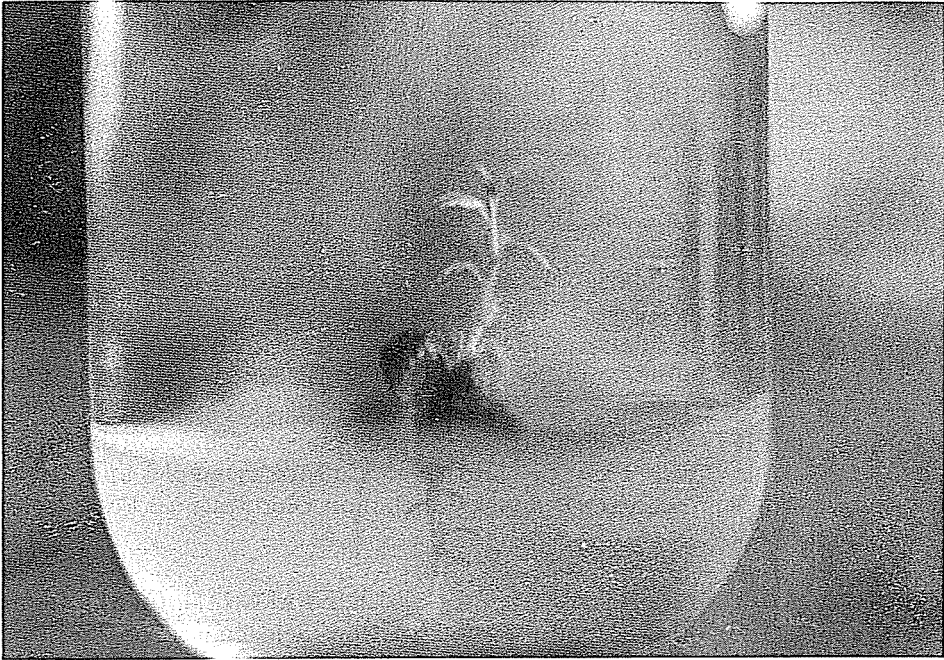


Figura 3. Yema desarrollada y enraizada en medio MS/2.

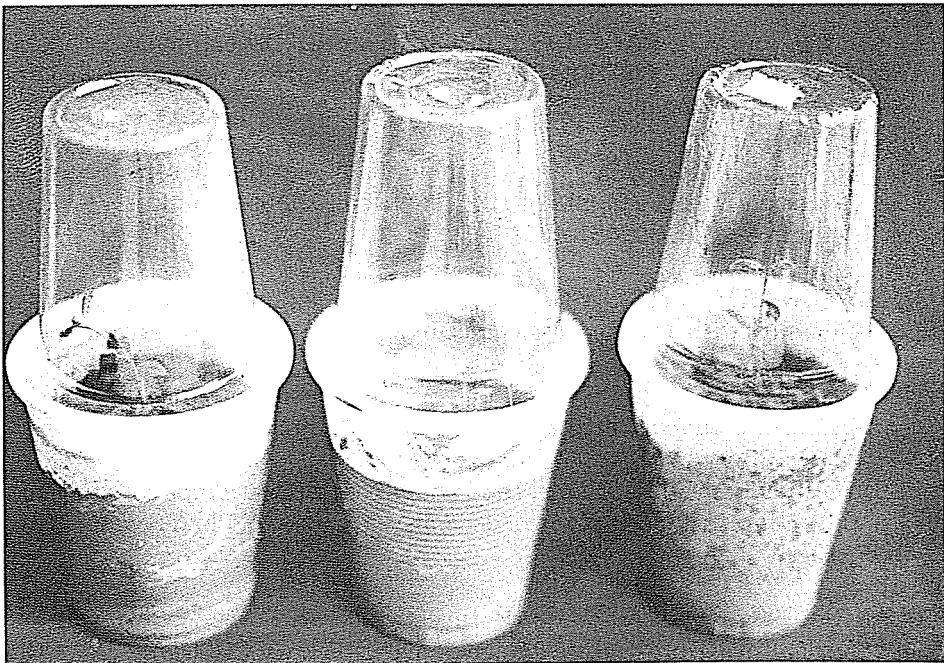


Figura 4. Plántulas transferidas a suelo estéril para su endurecimiento

**LITERATURA CITADA**

1. ATAS BULLETIN. (1984). Tissue Culture Technology and Development. Center of Science and Technology. United Nations, New York. 1-5.
2. BONGA, J.M. (1982). Vegetative Propagation in relation to Juvenility, Maturity, and Rejuvenation. In: Tissue Culture in Forestry. J.M. Bonga and D.J. Durzan eds. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague. The Netherlands. 387-412.
3. BONGA, J.M. and D.J. Durzan (Eds.) (1982). Tissue Culture in Forestry. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague. The Netherlands. 420.
4. CHENG, T.J. (1979). Recent Advances in Development of "in vitro" Techniques for Douglas fir. In: Plant Cell and Tissue Culture. Principles and Applications. Ed. Sharp, Larsen Producty Raghanan. Ohio State Un. Press, Columbus. 493-507.
5. GARTON, S.; HOSIER, M.A.; READ, P.E; and R.S. FARNHAM. (1981). In vitro propagation of *Alnus glutinosa* Gaerth. Hort. Science. 16: 758-759.
6. HODSON de J., E. y C. OROZCO. (1986). Cultivo de Tejidos Vegetales y sus perspectivas Forestales. Ecología y Desarrollo. Primer Trimestre. 27-30.
7. KONG, L.S. and A.N. RAO. (1981) In vitro Plantlet Development in Tropical Trees. In: Proc. COSTED Symp. on Tissue Culture on Economically important Plants. Singapore. Ed. RAO. 185-190
8. LLOYD, G. and B. McCOWN. (1981) Commercially-feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 30: 421-427.
9. MURASHIGE, T. and F. SKOOG. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
10. NITSCH, J.P. and C. NITSCH. (1956) Auxin dependent growth of excised *Helianthus tuberosus* tissues. Am. J. Bot. 43:839-851.
11. PERINET, P. and M. LALONDE. (1983) In vitro propagation and nodulation of the actinorhizal host plant *A. glutinosa* (L.) Gaertn. Plant Science Letters. 29:9-17.
12. PLANIF. (1984). Plan Nacional de Investigaciones Forestales. Ministerio de Agricultura, Dpto. Nal. de Planeación, INDERENA, COLCIENCIAS, CONIF. Bogotá, 3-26.

13. SOMMER, H.E. et al. (1975) Differentiation of Plantlets in long-leaf pine (*Pinus palustris*) tissue culture in vitro. Bot. Gaz. 136(2): 196-200.
14. TREMBLAY, F.M. and M. LALONDE. (1984) Requeriments for in vitro propagation of seven nitrogen fixing *Alnus* species. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 3: 189 - 199.
15. TREMBLAY, F.M., NESME, X. and M. LALONDE. (1984) Seletion and Micropropagation of nodulating and non-nodulating clones of *Alnus crispa* (Ait.) Pursh. Plant and Soil. 78: 171-179.
16. VILLALOBOS, V.M., T.A. THORPE y E.C. YEUNG. (1983) Aplicaciones del Cultivo de Tejidos en Especies Forestales. Ciencia y Desarrollo. CONACYT. México. 8:43-53.