

Propagación clonal in vitro y enraizamiento de estacas de algodón nativo (*Gossypium barbadense* L.)

In vitro clonal propagation and cutting rooting of native cotton (*Gossypium barbadense* L.)

Consuelo Rojas-Idrogo¹, Carola Cuzquén-Cabrejos¹, Guillermo E. Delgado-Paredes^{1*}

¹Departamento Académico de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Ciudad Universitaria, Juan XXIII N° 391, Lambayeque, Perú. *Autor para correspondencia: guidelg2001@yahoo.es

Rec.: 08.02.13 Acep.: 06.01.14

Resumen

En este trabajo se evaluó el efecto de reguladores de crecimiento en la propagación clonal in vitro y el efecto de diferentes soluciones nutritivas y reguladores de crecimiento en el enraizamiento de estacas de algodón (*Gossypium barbadense*). En el enraizamiento se evaluó el efecto del agua corriente, las soluciones nutritivas de Knop y Knudson y los reguladores de crecimiento AIA, AIB y floriglucinol sobre estacas obtenidas de las zonas apical, media y basal de la planta. En la combinación ANA 0.1 mg/lt – BAP 1.0 y 2.0 mg/lt, después de 30 días de cultivo in vitro, se alcanzó la mayor elongación de brotes (38.1 y 30.7 mm) y número de nudos formados (4.1 y 3.4); el mejor enraizamiento se observó con AIA 0.2 mg/lt formando 3.6 raíces. El enraizamiento de estacas, con brotes formados (40 y 50%), fue mayor cuando se utilizó el tercio medio y superior, tanto en agua corriente como en la solución de Knop y únicamente suplementados con AIB 25 y 50 mg/lt.

Palabras clave: Cultivo de tejidos, enraizamiento de estacas, *Gossypium barbadense*, reguladores de crecimiento, solución de Knop.

Abstract

In order to develop a system of vegetative propagation for *Gossypium barbadense*, woody species used in textiles and medicine in the ancient pre-Columbian cultures of Peru, was studied *in vitro* clonal propagation and rooting of cuttings. In *in vitro* clonal propagation, was evaluated the effect of several growth regulators on the elongation and rooting of shoots and nodal segments. In the rooting of cuttings was evaluated the effect of tap water, Knop and Knudson solutions with growth regulators IAA, IBA and phloroglucinol on cuttings obtained from the apical, middle and basal region. In the combination NAA 0.1 mg/L, BAP (1.0 and 2.0 mg/L), after 30 days of *in vitro* culture, shoots reached 38.1 and 30.7 mm of elongation, with 4.1 and 3.4 nodes formed; the rooting was observed with IAA 0.2 mg/L reached 3.6 roots formed. Cuttings of the middle and upper thirds of the plant, with sprouting of 40 and 50%, showed higher rooting in both tap water and Knop solution supplemented with only IBA 25 and 50 mg/L.

Key words: Cutting rooting, *Gossypium barbadense*, Knop solution, plant growth regulators, tissue culture.

Introducción

El género *Gossypium* L., familia Malvaceae-Malvoideae, comprende alrededor de 50 especies distribuidas principalmente en las regiones áridas y semiáridas de los trópicos y subtropicos con nueve grupos de genomas, correspondiendo los genomas D y AD para las especies americanas, donde las únicas cultivadas en el Nuevo Mundo son *G. hirsutum* L. y *G. barbadense* L. (Wendel et al., 2010). En el Perú ocurren dos especies: *G. raimondii* Ulbr. ‘algodoncillo’ y *G. barbadense*, conocido como algodón nativo o algodón ‘del país’, el cual es originario de la costa norte del Perú y del sur del Ecuador, donde se cultiva hace 5.500 años, por lo que constituye el cultivo industrial más antiguo del área andina, lo que es apoyado por evidencias moleculares (Percy y Wendel, 1990). Es el único algodón con fibra gruesa y pigmentación variada y natural, de los colores marrón, anaranjado-rojizo, pardo-rojizo, verde oliva, lila, crema y blanco luminoso. Se utiliza en la confección de frazadas, alforjas y costales, así como en medicina tradicional (Rodríguez, 1985).

Un amplio estudio sobre aspectos botánicos, etno-botánicos y agronómicos del algodón nativo destaca la evaluación agronómica de una colección de germoplasma realizada entre 1982 y 1984, donde se reportó que la especie es propia del desierto desecado y desierto superárido – Premontano Tropical, zonas de vida con 19.5 – 24 °C de temperatura y 2.2 – 59.6 mm de precipitación; suelos de textura variable, con cementaciones salinas, cálcicas o gípsicas y poco material orgánico, así como escasa presencia de plagas, frecuentes en otras especies de algodón, como *Heliothis virescens* Fabricius y el gusano rosado de la India (*Pectinophora gossypiella* Saunderv) (Chicoma, 1985).

Una forma de preservar el acervo genético de una especie es recolectándolo y estableciendo un banco de germoplasma, que en el caso del algodón nativo, se realiza en condiciones de campo mediante estacas enraizadas o por cultivo de yemas in vitro (Gepts, 2006). La propagación y conservación de germoplasma vegetativo resulta en individuos 100% uniformes, lo que garantiza

germoplasma valioso y aumenta la ganancia genética al utilizar los componentes aditivos y no-aditivos (Zobel y Talbert, 1988).

En cultivo de tejidos se tienen estudios sobre micropropagación y conservación de germoplasma de *Gossypium* spp. por: cultivo de ápices (Bajaj y Gill, 1986), propagación rápida de *G. hirsutum*, en plántulas de semillas germinadas in vitro (Hemphill et al., 1998) y recuperación de plantas élites de *G. hirsutum* por microinjertación (Luo y Gould, 1999). En propagación por estacas no se cuenta con trabajos en *Gossypium* sp., pero en otras especies se estudió la posición de la estaca en la planta (Ruiz et al., 2005), concentración endógena de fitohormonas, reservas de carbohidratos, grado de lignificación del tallo (Lyon y Kimuin, 1997) y utilización de enraizadores (Hartmann y Kester, 2000). Recientemente, en *G. hirsutum* se utilizaron estacas para establecer un cultivo perenne con la finalidad de estudiar la heterosis, la cual incluyó el crecimiento, desarrollo, producción y calidad de fibra (Xin y Yang, 2009). Nuevas revisiones de literatura sobre formación de raíces adventicias en plantas herbáceas y leñosas han enfatizado en el rol de las auxinas como hormonas enraizantes (Geiss et al., 2009) y en la expresión de genes inducidos por auxinas (Pop et al., 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de reguladores de crecimiento en la propagación clonal in vitro de *G. barbadense* y el efecto de diferentes soluciones nutritivas y reguladores de crecimiento en el enraizamiento de estacas.

Materiales y métodos

Material vegetal. El material vegetal, conformado por semillas y estacas, fue recolectado de plantas adultas de algodón nativo, en las localidades de Pucalá y Monsefú, región Lambayeque, Perú. La especie fue identificada por G. Delgado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (UNPRG), Lambayeque, y las muestras herborizadas se guardaron en el Herbario Pedro Ruiz (HPR) de la misma institución. En la Foto 1 se observan muestras de fibras de diversos colores y un tejido tradicional elaborado con fibras de varios colores de algodón nativo.

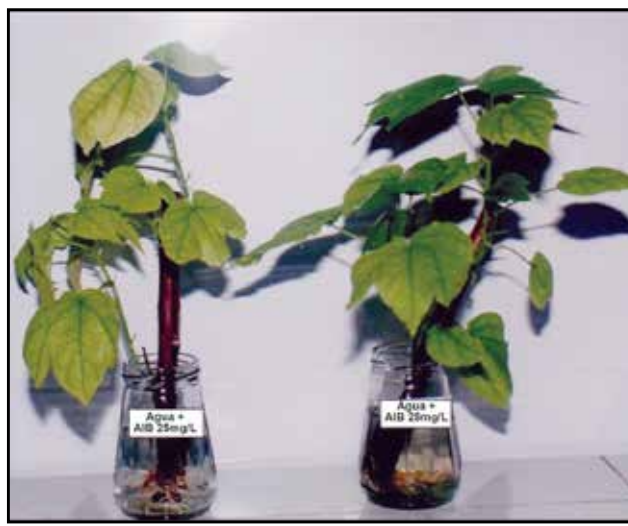


Foto 1. *Gossypium barbadense* (algodón nativo). De izquierda a derecha y de arriba abajo: Fibras de diversos colores. Alforja, un tejido tradicional, elaborada con fibras de diversos colores. Plántulas in vitro enraizadas. Estacas del tercio medio mostrando brotamiento y enraizamiento.

Propagación clonal in vitro. Las semillas fueron recolectadas de frutos maduros y después de eliminar manualmente las fibras se lavaron con detergente. Luego, en cámara de flujo laminar se desinfectaron con alcohol etílico 70% y lejía comercial (Clorox®, hipoclorito de sodio 5.25% de cloro activo) durante 5 min, para enjuagar con agua destilada esterilizada, antes del cultivo en el medio de cultivo de germinación de semillas consistente en sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962), tiamina.HCl 1.0 mg/lt y m-inositol, 100 mg/lt, sacarosa 2% y agar 0.6%. Las plántulas, de 8 a 12 cm de altura y 30 a 45 días de edad, fueron seccionadas en

segmentos nodales de 1 cm. Estos explantes se cultivaron en diversos tratamientos de medio de cultivo de elongación, conformado por combinaciones de ANA, BAP y AG₃; asimismo, se evaluaron plántulas de 4 cm de altura en diversos tratamientos de medio de cultivo de enraizamiento, conformado por combinaciones de AIA, AIB, floriglucinol, carbón activado y sacarosa.

El medio de cultivo, mantenido en tubos de ensayo de 25 x 150 mm, fue esterilizado en autoclave a 121 °C durante 20 min. Las condiciones de incubación se ajustaron a 24 - 28 °C, 80 - 90% de humedad relativa y 0 W/m² de irradiancia, para la germinación

de semillas; y 8 W/m² para la elongación de brotes y enraizamiento, con un fotoperiodo de 16 h luz/8 oscuridad. Cada tratamiento contenía 25 repeticiones y cada experimento se repitió dos veces. Las plántulas enraizadas se sembraron en sustrato esterilizado de tierra-arena-musgo en proporción 1:1:1 y se aclimataron en invernadero.

Las variables relacionadas con las respuestas en cultivo de tejidos se analizaron con el procedimiento ANOVA del paquete estadístico SAS (SAS, 1989), con los valores promedio por tratamiento. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Enraizamiento de estacas. Las estacas se obtuvieron de plantas adultas en óptimas condiciones fisiológicas y fitosanitarias, con varios periodos de floración y fructificación, y en periodo vegetativo en el momento del corte. Estas estacas fueron seccionadas a partir del tercio inferior (TI), medio (TM) y superior (TS), entre 15 y 20 cm de longitud, 1.5 y 2 cm de diámetro y 2 – 5 nudos. Para garantizar su conservación, se parafinó el extremo superior con el fin de evitar deshidratación y/o pudrición antes de la siembra en los tratamientos correspondientes.

Además del testigo (agua corriente sin reguladores de crecimiento), los tratamientos formulados fueron: Agua corriente, solución de Knop y solución de Knudson (Hartmann y Kester, 2000), suplementados indistintamente con AIA, AIB y floriglucinol, en concentraciones de 0, 25, 50, 100 y 150 mg/lit. Las evaluaciones se realizaron después de 20 y 40 días de instalados los tratamientos con 10 repeticiones.

Resultados y discusión

Propagación clonal in vitro

La mayor tasa de elongación del brote y número de nudos formados se alcanzó con la combinación AIA 0.1 – BAP 2.0 mg/lit, con valores de 38.1 y 4.1 mm, respectivamente; en otras combinaciones ensayadas ANA–BAP–AG₃ y ANA–AG₃, los resultados fueron inferiores ($P < 0.05$) (Cuadro 1). Las plantas propagadas mostraron óptima condición fisiológica con hojas turgentes de intensa coloración verde. El crecimiento de los brotes y su estado fisiológico presentaron igualmente un buen desarrollo después de varios subcultivos realizados cada 6 meses desde hace 3 años (datos no incluidos en el Cuadro 1).

La elongación del brote se presentó aun con bajas concentraciones de auxinas (ANA o AIA) y moderadas de citocininas (BAP o KIN), sin suplemento de antibióticos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gould *et al.* (1991) en la micropropagación de *G. hirsutum* y *G. barbadense*, con ápices meristemáticos de 0.3 a 1.0 mm, donde se observó un crecimiento normal de brotes, con AIA 0.01 mg/lit - KIN 0.0 a 0.5 mg/lit y Clavamox o Carbenicilina. Estos mismos autores encontraron que después de 2 a 3 subcultivos ocurrió una auto-inhibición en el crecimiento (miniaturización, pérdida de color y muerte) la cual fue superada con la adición de ácido cítrico, fluridona o carbón activado.

En el presente trabajo, los explantes de 1 cm no mostraron inhibición en el crecimiento, lo que se atribuye a su mayor tamaño, que contrarrestaría el efecto inhibitor del ABA (Mizutani y Todoroki, 2006). Por otro lado

Cuadro 1. Efecto de reguladores de crecimiento en la elongación de brotes y formación de nudos in vitro en algodón nativo a los 30 días de cultivo.

Tratamiento ^a	Reguladores de crecimiento (mg/lit)			Elongación (mm) ^b	Nudos formados ^b (No)
	ANA	BAP	AG ₃		
T1	0.1	2.0	-	38.1 a	4.1 a
T2	0.1	1.0	-	30.7 b	3.4 a
T3	0.02	2.0	0.02	20.7 c	3.1 b
T4	0.02	1.0	0.02	12.6 d	2.1 c
T5	0.02	0.5	0.02	6.3 e	1.0 d
T6	0.02	0.05	0.02	4.8 e	0.8 d
T7	0.02		0.02	4.5 e	1.5 d

^aMedio de cultivo: Sales minerales MS, tiamina.HCl 1.0 mg/lit, m-inositol 100 mg/lit, sacarosa 2% y agar 0.6%.

^bValores promedio en una misma columna seguida por diferente letra indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

BAP (1.0 y 2.0 mg/lit) más ANA (0.1 y 0.02 mg/l) resultaron fundamentales en la inducción y elongación del brote; mientras que en la micropropagación de *G. hirsutum* a partir de ápices caulinares y nudos obtenidos de plántulas in vitro se observó la mayor inducción y maduración de brotes con BA 0.05 mg/lit y carbón activado 3 g/lit (Hemphill et al., 1998). Estos resultados demuestran que los tipos de reguladores de crecimiento así como su combinación en un medio de cultivo son necesarios para la obtención de plántulas viables en el comienzo de un proceso de micropropagación, tal como se ha observado en mora de castilla (*Rubus glaucus*) (Sigarroa-Rieche y García-Delgado, 2011) y *Heliconia bihai* (Marulanda-Ángel et al., 2011).

El enraizamiento se encontró sólo en los tratamientos con AIA (0.2 mg/lit) y sacarosa (4 y 2%), con 3.6 y 2.9 raíces formadas, respectivamente (Foto 1), y en ningún caso cuando se utilizó AIB, también se observó que una disminución en la concentración de sacarosa se reflejó en un menor número de raíces formadas (Cuadro 2). La tasa de supervivencia en el período de aclimatación fue 90%. En *G. hirsutum* y *G. barbadense* Gould et al. (1991) no encontraron enraizamiento in vitro al utilizar AIA, ANA y AG₃, en diferentes concentraciones de MS; por el contrario, observaron 30% de enraizamiento ex vitro cuando sembraron en ‘potting soil’ y tratamiento previo con carbón activado y ‘Rootone’, un enraizante que contiene las auxinas AIB y ANA y el fungicida Tiram. Lo anterior posiblemente se debió a que utilizaron AIA o ANA en concentraciones altas (1.0 - 5.0 mg/lit) y sacarosa en concentraciones

bajas (0 - 1.5%). En otro ensayo similar se observó enraizamiento con AIB 0.2 mg/lit (Hemphill et al., 1998) y enraizamiento en brotes de 2 a 3 cm, en medio de cultivo con ANA 0.5 mg/lit y BA 2.0 mg/lit o KIN 6.0 mg/lit (Bajaj y Gill, 1986).

La formación de raíces adventicias es una etapa esencial en la propagación vegetativa de diversas especies de importancia económica; sin embargo, su formación y desarrollo es un proceso complejo afectado por múltiples factores que incluyen el estado nutricional, la regulación hormonal y la luz, asociados al estrés provocado por heridas y las características genéticas; la nutrición mineral es importante en la conformación de estructuras orgánicas, activación de reacciones enzimáticas, osmorregulación, entre otras (Geiss et al., 2009).

Enraizamiento de estacas

El efecto de los reguladores de crecimiento en el brotamiento y enraizamiento de estacas, en agua corriente como medio aparece en el Cuadro 3. El brotamiento fue mayor en los tratamientos con AIA 50 mg/lit y en estacas del tercio inferior, mientras que el enraizamiento fue mayor en los tratamientos con AIB 50 mg/lit (Foto 1), moderado con AIB 25 mg/lit y escaso con AIA, alcanzándose el grado +++ en la escala empírica elaborada para tal fin. En el tratamiento testigo, con agua corriente, no se observaron respuestas morfogénicas.

El efecto de los reguladores de crecimiento en el brotamiento y enraizamiento de estacas utilizando la solución de Knop se incluye en el Cuadro 4. El brotamiento se observó en todos los tratamientos; no obstante el en-

Cuadro 2. Efecto de reguladores de crecimiento en el enraizamiento de brotes in vitro en algodón nativo a los 45 días de cultivo.

Tratamiento ^a	Reguladores de crecimiento (mg/lit)			Compuestos orgánicos(%)		Enraizamiento (%)/ Formación de raíces (No) ^b
	AIA	AIB	Floroglucinol	Sacarosa	C. activado	
T1	0.2	-	-	4.0	-	(100)/3.6 a
T2	0.2	-	-	2.0	0.25	(95)/2.9 a
T3	0.2	-	125.0	2.0	-	(70)/2.5 b
T4	-	0.1	-	4.0	-	(0.0)/0.0
T5	-	0.1	-	2.0	0.25	(0.0)/0.0
T6	-	0.1	125.0	2.0	-	(0.0)/0.0

^aMedio de cultivo: Sales minerales MS, tiamina.HCl 1.0 mg/L, m-inositol 100 mg/L y agar 0.6%.

^bValores promedio en una misma columna seguida por diferente letra indican diferencias significativas (P ≤ 0.05) entre estas.

Cuadro 3. Efecto del agua corriente con AIA y AIB en el brotamiento y enraizamiento de estacas de algodón nativo.

Tratamiento ^a	Posición de la estaca ^b	AIA (mg/lt)		AIB (mg/lt)	
		Brot. (%) ^c	Enr. ^d (%) / Escala	Brot. (%)	Enr. (%) / Escala
Agua corriente	TI	0	0	0	0
	TM	0	0	0	0
	TS	0	0	0	0
Agua corriente + 25	TI		0	(50)	(30) +++
	TM	(25)	0	(25)	0
	TS	(25)	0	(13)	(20) +++
Agua corriente + 50	TI	(71)	0	(17)	(10) +++
	TM	(50)	(10) +	(33)	(50) +++
	TS	(17)	(10) ++	(38)	(50) +++

^aEvaluación realizada a los 20 días de instalados los experimentos.

^bTI, estaca del tercio inferior de la planta; TM, tercio medio; TS, tercio superior.

^cPromedio: 1-3 brotes/estaca.

^d+, 1-5 raíces formadas; ++, 6-10 raíces, +++, 11 a más raíces.

Cuadro 4. Efecto de la solución de Knop con AIA y AIB y floriglucinol (FG) en el brotamiento y enraizamiento de estacas de algodón nativo.

Tratamiento ^a	Posición de la estaca ^b	AIA		AIB (mg/lt)		FG	
		Brot. (%) ^c	Enr. (%) / escala ^d	Brot. (%)	Enr. (%) / escala	Brot. (%)	Enr. (%) / escala
Solución de Knop	TI	(70)	0	(70)	0	(70)	0
	TM	(30)	0	(40)	0	(30)	0
	TS	(50)	0	(50)	0	(50)	0
S. Knop + 25	TI	(30)	0	(50)	(30)/+++	(50)	0
	TM	(50)	0	(40)	(40) +++	(50)	(10)/+
	TS	(70)	0	(30)	(30)/++	(30)	0
S. Knop + 50	TI	(30)	0	(30)	0	(30)	(20)/++
	TM	(40)	0	(30)	0	(40)	(20)/++
	TS	(70)	0	(50)	(40) +++	(50)	(30)/++
S. Knop + 100	TI	(30)	0	(20)	0	(30)	0
	TM	(40)	0	(30)	0	(40)	0
	TS	(60)	0	(40)	0	(40)	0

^aEvaluación realizada a 20 días de instalados los experimentos, excepto los experimentos con FG evaluados a 40 días.

^bTI, estaca del tercio inferior de la planta; TM, tercio medio; TS, tercio superior

^cPromedio: 1-3 brotes/estaca

^d+, 1-5 raíces formadas; ++, 6-10 raíces, +++, 11 a más raíces

raizamiento sólo ocurrió en los tratamientos con AIB 25 mg/lt, en grado +++ de desarrollo radicular y escasamente con AIB 50 mg/lt y floriglucinol 50 mg/lt, en grado ++ de desarrollo radicular, sobresaliendo las estacas de los tercios medio y superior con las mayores tasas de brotamiento y enraizamiento, pero sin superar 40%. En los tratamientos con AIA, AIB y floriglucinol, 100 mg/lt, las estacas solamente brotaron pero no enraizaron.

En los tratamientos con la solución de Knudson, suplementada con AIA, AIB y floriglucinol, se alcanzó hasta 100% de bro-

tamiento, preferentemente en estacas de los tercios medio y superior; sin embargo, no se verificó el enraizamiento (datos no incluidos).

En los tratamientos con agua corriente, si bien el mayor brotamiento se observó en estacas del tercio inferior con AIB, el enraizamiento también ocurrió en estacas del tercio medio y superior con AIB 50 y 25 mg/lt, aunque sin superar 50% de estacas enraizadas. El agua corriente por sí sola no indujo ni brotamiento ni enraizamiento por lo que fue necesario suplementarla con auxinas enraizadoras (AIA y AIB) y floriglucinol. En

los tratamientos con las soluciones de Knop y Knudson se observó brotamiento pero el enraizamiento sólo ocurrió cuando la solución de Knop se suplementó con AIB o floroglucinol. Comparativamente, ambas soluciones son semejantes en su composición química, resultando difícil establecer diferencias sobre su eficiencia; sin embargo, es necesario destacar el rol inhibitorio del nitrato y el sulfato en el compuesto $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ de la solución Knudson. Al respecto, se conoce que pocos nutrientes minerales son capaces de influenciar sobre el enraizamiento adventicio, inhibiendo o incrementando el número de raíces adventicias o modulando su longitud. En este sentido no se conocen trabajos realizados en *Gossypium* sp.; sin embargo, en *Eucalyptus globulus* se reportó que el calcio, el nitrógeno y el zinc afectan el número de raíces formadas, en tanto que el fósforo, el hierro, el manganeso y el nitrógeno influyen en su longitud, mientras que el tiempo de enraizamiento y el porcentaje de estacas enraizadas estarían estrechamente relacionados con la disponibilidad de auxinas (Schwambach *et al.*, 2005).

En este caso, el rol de las auxinas en el origen y desarrollo de raíces adventicias ha sido extensamente revisado en varios trabajos (Aloni, 1995; Geiss *et al.*, 2009) y recientemente por Pop *et al.* (2011), quienes enfatizan en la expresión de genes inducidos por auxinas y auxinas de señalización, procesos asociados con la formación de raíces adventicias (Parry y Esttele, 2006; Quint *et al.*, 2009). Al respecto, esquejes de *Podocarpus oleifolius* y *Prumnopitys montana* mostraron tasas de enraizamiento de 33 y 17%, respectivamente, con Fluka (AIB) 0.625 - 5 g/lt, después de 240 días de evaluación (Castillo *et al.*, 2007), lo que sugiere que para determinadas especies leñosas, las tasas de enraizamiento suelen ser relativamente bajas. En un estudio preliminar realizado en México sobre la producción de callos y raíces de siete especies de *Bursera* sp., con dos tratamientos con AIB en polvo, 1500 y 10 000 mg/lt, *B. fagaroides* y *B. glabrifolia* mostraron 70% y 51%, respectivamente, de estacas enraizadas; en algunas especies el aumento de la concentración de AIB no incrementó el porcentaje de enraizamiento y en otras el testigo, sin AIB, superó a los tra-

tamientos (Bonfil-Sanders *et al.*, 2007). Por otro lado, Ruiz *et al.* (2005) evaluaron el efecto de varias concentraciones de AIB en tres tipos de estacas juveniles (apical, intermedia y basal) de *Gmelina arborea*, y observaron mayor capacidad de enraizamiento (71.8%) y brotamiento (54.9%) en estacas apicales; sin embargo, AIB 1.0 y 2.0 mg/g, estimuló el enraizamiento en estacas intermedias y basales. Igualmente Moratinos *et al.* (2008) con la finalidad de mejorar el enraizamiento de estacas de *Malpighia glabra* y *M. emarginata* evaluaron el efecto del AIB (0, 2500, 5000, 7500 y 10 000 mg/ kg) y observaron 52.2 y 45% de estacas enraizadas y 59.3 y 48% de estacas brotadas, en *M. glabra* y *M. emarginata*, respectivamente, sin relación significativa entre la concentración de AIB y las especies estudiadas.

A pesar de que se conoce el rol de las auxinas en el origen y desarrollo de las raíces adventicias, y que el AIB es más eficiente que el AIA, es todavía escaso el conocimiento sobre su modo de acción en el enraizamiento; sin embargo, se considera que el mayor efecto del AIB se debe a su mayor estabilidad, diferencias en el metabolismo y en el transporte y a una menor producción de AIA (Geiss *et al.*, 2009). No obstante en varios trabajos se ha demostrado la conversión de AIB en AIA (Ludwig-Müller *et al.*, 2005). En floroglucinol se cuenta con información que señala un efecto estimulante en el enraizamiento cuando actúa con una auxina (Texeira da Silva *et al.*, 2013), aunque se requieren mayores estudios al respecto.

Los resultados en el presente estudio demuestran que el brotamiento es independiente del enraizamiento, observando este último únicamente en las soluciones de Knop y Knudson, suplementadas o no con AIA o AIB; mientras que en el enraizamiento, observado únicamente en agua corriente y la solución de Knop, resultó dependiente del AIB, por tanto no fue posible correlacionar el porcentaje de estacas enraizadas con el de estacas brotadas, hecho que sí fue observado en *Malpighia glabra* y *M. emarginata* (Moratinos *et al.*, 2008). El brotamiento resulta favorable para el enraizamiento ya que la formación de nuevas yemas y brotes representan fuentes

de carbohidratos, auxinas y cofactores que contribuyen a incrementar el enraizamiento, debido a que estos compuestos posteriormente son translocados a la base de la estaca estimulando el proceso (Hartmann y Kester, 2000; Felzener *et al.*, 2007).

La mayor tasa de enraizamiento y brotamiento de estacas del tercio medio de algodón nativo, respecto a los tercios inferior y superior, se atribuye a que las del tercio inferior son muy lignificadas y las del tercio superior son muy herbáceas, tal como lo reportaron Lozano *et al.*, (1982) para la yuca (*Manihot esculenta*) donde se utilizan estacas del tercio medio. El tercio medio, por encontrarse en una condición morfo-fisiológica intermedia, exhibe una respuesta relevante (Hartmann y Kester, 2000); sin embargo, no siempre las estacas y/o esquejes de este tercio muestran una mejor respuesta al enraizamiento, por el contrario, esquejes recolectados de la parte superior de *Podocarpus oleifolius* y *Prumnopitys montana* mostraron mayor capacidad de enraizamiento que los recolectados de la parte media e inferior, lo que se atribuye a una mayor concentración de auxinas endógenas (Castillo *et al.*, 2007).

Conclusiones

- La mejor tasa de brotamiento de ápices caulinares y nudos de *G. barbadense* se obtuvo con la combinación ANA 0.1 mg/lit - BAP 1.0 y 2.0 mg/lit, después de 30 días de cultivo in vitro; y el mejor enraizamiento con AIA 0.2 mg/lit, con la formación de 3.6 raíces por explante.
- Las estacas del tercio medio y superior presentaron los mejores enraizamientos en los tratamientos con agua corriente y la solución de Knop, suplementados con AIB 25 y 50 mg/lit.
- Las metodologías evaluadas son apropiadas y promisorias para la obtención de plántulas in vitro y por estacas enraizadas de algodón nativo.

Referencias

Aloni, R. 1995. The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin. En: Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biol-

- ogy. Davies, P. J. (ed.). Kluwer Academic Press. p. 531 - 546.
- Bajaj, Y. P.; y Gill, M. S. 1986. Micropropagation and germplasm preservation of cotton (*Gossypium* spp.) through shoot tip and meristem culture. Ind. J. Exp. Bot. 24:581 - 583.
- Bonfil-Sanders, C.; Mendoza-Hernández, P. E.; y Ulloa-Nieto, J. A. 2007. Enraizamiento y formación de callos en estacas de siete especies del género *Bursera*. Agrociencia 41:103 - 109.
- Castillo, S.; Cueva, D.; Aguirre, N.; y Günter, S. 2007. Propagación vegetativa de dos especies de la familia Podocarpaceae. Bosques Latitud Cero 3:3 - 5.
- Chicoma, F. 1985. Informe Final del Proyecto Estudio de Colección del Algodón del País (*Gossypium barbadense*). Años 1982-1984. En: Informe Especial, Algodón Del País un Cultivo Milenario Norteño. INIPA. 33:81 - 95.
- Felzener, L.; Barreiro, A.; Ono, E.; Cardoso, S.; y Rodrigues, J. 2007. Efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de estacas caulinares de *Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito). Rev. Bras. Frutic. 29:399 - 402.
- Geiss, G., Gutierrez, L.; y Bellini, C. 2009. Adventitious root formation: new insights and perspectives. Ann. Plant Rev. 37:127 - 156.
- Gepts, P. 2006. Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. Crop Sci. 46:2278 - 2292.
- Gould J.; Banister, S.; Hasegawa, O.; Fahima, M.; y Smith, R. H. 1991. Regeneration of *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense* from shoot apex tissues from transformation. Plant Cell Rep. 10:12 - 16.
- Hartmann, H.; y Kester, D. 2000. Propagación de Plantas. Principios Prácticos. Octava edición. Editorial Continental. México. 760 p.
- Hemphill, J. K.; Maier, C. G. A.; y Chapman, K. D. 1998. Rapid in-vitro plant regeneration of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Cell Rep. 17:273 - 278.
- Lozano, J. C.; Toro, J. C.; Castro, A.; y Bellotti, A. C. 1982. Selección y preparación de estacas de yuca para siembra. En: Yuca: Investigación, Producción y Utilización. C. E. Domínguez (ed.). PNUD, CIAT. p. 209 - 228.
- Ludwig-Müller, J.; Vertocnik, A.; y Town, C. D. 2005. Analysis of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation on *Arabidopsis* stem segments. J. Exp. Bot. 56: 2095 - 2105.
- Luo, J.; y Gould, J. H. 1999. In vitro shoot-tip grafting improves recovery of cotton plants from culture. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 57:211 - 213.
- Lyon J. P.; y Kimuin, L. C. 1997. The effect of nodal position and genetic factors on rooting of *Acacia*

- mangium* cuttings from coppice re-growth. J. Trop. For. Sci. 9:554 - 557.
- Marulanda-Ángel, M. L.; Isaza-Valencia, L.; y Londoño-Giraldo, L. M. 2011. Propagación in vitro de *Heliconia bihai* (L.) cv. Lobster Salmón a partir de meristemas florales. Acta Agronómica 60:132 - 139.
- Mizutani, M.; y Todoroki, Y. 2006. ABA 8'-hydroxylase and its chemical inhibitors. Phytochem. Rev. 5:385 - 404.
- Moratinos, P.; Flores, E.; Gómez, Á.; y Ramírez-Villalobos, M. 2008. Enraizamiento de estacas de semeruco (*Malpighia glabra* L. y *M. emarginata* Sessé & Moc. Ex D.C.). Rev. Fac. Agron. (LUZ) 25:405 - 420.
- Murashige, T.; y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum 15:473 - 497.
- Parry, G.; y Estelle, M. 2006. Auxin receptors: a new role for F-box proteins. Curr. Opin. Cell Biol. 18:152 - 156.
- Percy, R. G.; y Wendel, J. F. 1990. Allozyme evidence for the origin and diversification of *Gossypium barbadense* L. Theor. Appl. Genet. 79:529 - 542.
- Pop, T. I.; Pamfil, D.; y Bellini, C. 2011. Auxin control in the formation of adventitious roots. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 39:307 - 316.
- Quint, M.; Barkawi, L. S.; Fan, K. T.; Cohen, J. D.; y Gray, W. M. 2009. Arabidopsis IAR4 modulates auxin response by regulating auxin homeostasis. Plant Physiol. 150:748 - 758.
- Rodríguez, V.A. 1985. El algodón del país y el artesano textil en la sociedad Chavimochic. En: Informe Especial, Algodón del País, un Cultivo Milenario Norteño. INIPA. 33:39 - 58.
- Ruiz, R.; Vargas, J. J.; Cetina, V. M.; y Villegas, A. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. Rev. Fit. Mex. 28:319 - 326.
- SAS. 1989. SAS/STAT user's guide, Version 6. Fourth edition. Statistical Analysis System Institute. Cary, NC, USA. 846 p.
- Schwambach, J.; Fadanelli, C.; y Fett-Neto, A. G. 2005. Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. Tree Physiol. 25:487 - 494.
- Sigarroa-Rieche, A. K.; y García-Delgado, C. L. 2011. Establecimiento y multiplicación in vitro de mora de castilla (*Rubus glaucus* benth.) variedad sin espinas, mediante ápices meristemáticos. Acta Agronómica 60:347 - 354.
- Texeira da Silva, J. A.; Dobránszki, J.; y Ross, S. 2013. Phloroglucinol in plant tissue culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant 49:1 - 16.
- Wendel, J. F.; Brubaker, C. L.; y Seelanan, T. 2010. The origin and evolution of *Gossypium*. J.M Stewart, D. Oosterhuis, J.J. Heitholt y J.R. Mauney (eds.). Physiology of Cotton. Springer, Netherlands. pp. 1-18.
- Xin, Z.; y Yang, Z. R. 2009. Cutting propagation and perennial cultivation of genic male sterile upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and its heterosis utilization. J. Trop. Subtrop. Bot. 17:489 - 493.
- Zobel, B. J.; y Talbert, J. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Edit. Limusa, México D.F., México. 505 p.