

**PRODUCCION DE PLANTAS DE CAÑA FLECHA (*Gynerium sagitatum* Aubl.)
“CRIOLLA” A TRAVES DE MICROPROPAGACION**

**ARROW CANE (*Gynerium sagitatum* Aubl.) “CRIOLLA” PLANT PRODUCTION
THROUGH MICROPROPAGATION**

Iván Javier Pastrana¹ e Isidro Elías Suárez¹

RESUMEN

Segmentos nodales de caña flecha (*Gynerium sagitatum* Aubl) cultivar “Criolla” fueron establecidos en tres formulaciones de medio MS semi sólido con el fin de evaluar su efecto en la adaptación a condiciones *in vitro*. Posteriormente, el efecto de diferentes tratamientos sobre la multiplicación de propágulos y el enraizamiento de brotes producidos en condiciones *in vitro* fue evaluado, al igual que la adaptación final a condiciones *ex vitro*. Todos los medios fueron suplementados con (en mg L⁻¹) mio inositol (100), sacarosa (30.000), tiamina HCl (0,4) y TC agar (8.000) (Sigma Co.). Los tratamientos de cada experimento fueron repetidos 15 veces y distribuidos con un diseño completamente al azar. Los datos colectados permitieron observar que el medio MS completo favoreció la adaptación del 100% de los explantes a las condiciones *in vitro*. La mayor tasa de multiplicación se obtuvo cuando los explante se cultivaron en presencia de 0,5 mg L⁻¹ de BAP, mientras que el mayor número de raíces por explante fue observada en presencia de dosis $\geq 0,5$ mg L⁻¹ de ANA. Las plantas micropropagadas se adaptaron en un 100% a las condiciones *ex vitro*.

Palabras clave: *in vitro*, caña flecha, BAP, ANA, *ex vitro*.

ABSTRACT

Arrow cane (*Gynerium sagitatum* Aubl) cv “Criolla” nodal segments were independently established on three different semi solid media formulation to evaluate *in vitro* explant adaptation. The effect of different shoot multiplication and rooting treatments, as well as, *ex vitro* plant recuperation were evaluated. All media formulation were supplied with (in mg L⁻¹) myo inositol (100), sucrose (30.000), thiamine HCl (0,4) and TC agar (8.000) (Sigma Co.). Treatments were replicated 15 times and distributed with a complete randomized design. The data showed tha MS favored 100% explant establishment. The highest shoot multiplication rate was observed with 0,5 mg L⁻¹ BAP, while 0,5 mg L⁻¹ ANA induced the highest number of roots per explant. Micropropagated plants fully adapted to *ex vitro* conditions.

Key words: *in vitro*, arrow cane, BAP, ANA, *ex vitro*.

¹ Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural. Carrera 6 No. 76-103. Tel (4) 790 8023, fax(4) 786 0032. Email: isuarez@sinu.unicordoba.edu.co

INTRODUCCIÓN

La nervadura central de la hoja de caña flecha (*Gynerium sagitatum* Aubl.) es la materia prima para la obtención de la fibra utilizada en la elaboración de las mas variadas y famosas artesanías colombianas, las cuales se han convertido no solo en sustento económico y forma de perpetuación de antiguos pueblos indígenas de la costa norte colombiana, sino en símbolo cultural de todos los colombianos.

Recientes estudios de caracterización morfoagronómica y molecular han permitido establecer la presencia de una reducida base genética entre accesiones provenientes de diferentes regiones del país, al igual que la preferencia de los artesanos por el cultivar “Criolla” el cual se caracteriza por tener una fibra suave que facilita la labor artesanal (Araméndiz et al. 2005, Rivera et al. 2008, 2009). Este último aspecto ha ocasionado que las poblaciones naturales de este cultivar hayan tenido una disminución superior al 50%, lo cual ha ocasionado incrementos significativos en el precio de la fibra y daños considerables en los ecosistemas asociados con la especie (Gonzalez 1997, Araméndiz et al. 2009).

La necesidad de desarrollar métodos eficientes de propagación de plantas de caña flecha, que proporcionen suficiente material para la siembra de cultivos comerciales y detengan el proceso erosivo causado por la extracción masiva continua en las poblaciones naturales de la planta, ha motivado el desarrollo de algunas investigaciones. Ballesteros y Guardo (1988) evaluaron el efecto del tamaño y la orientación de estacas sobre el enraizamiento, encontrando que los mejores resultados se obtuvieron cuando se plantaron estacas con tres

y cuatro nudos tomadas de tallos aéreos y sembrados verticalmente. González (1997) observó que la colocación de las estacas en forma horizontal en el medio de propagación indujo un mayor porcentaje de enraizamiento. Posteriormente, Hernández et al. (2005) al evaluar el uso de hormonas (auxinas) en la eficiencia de la propagación, observaron incrementos significativos del enraizamiento al realizar aplicaciones de ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB), en forma separada y en conjunto. Los resultados obtenidos en estos estudios mostraron que la caña flecha no es una planta difícil de enraizar; sin embargo, el tiempo que toman las estacas para alcanzar un buen enraizamiento, y el tamaño necesario de los propágulos para poder enraizar, dificultan la aplicación de esta técnica de propagación dirigida como un mecanismo eficiente para la producción clonal masiva de plantas.

La micropropagación tiene ventajas comparativas con respecto a otras técnicas de propagación asexual como son la multiplicación de plantas en períodos cortos de tiempo, el uso de espacios reducidos y la producción de nuevos individuos a partir de plantas que no producen semillas viables o que tienen dificultades para multiplicarse por estacas (Kane 1996). Suárez (2006) reportó la micropropagación de plantas de caña flecha del cultivar UC121, y demostró la posibilidad de aplicar esta tecnología para la producción clonal masiva de plantas de caña flecha. En el presente trabajo se reporta el desarrollo de un protocolo para micropropagar y adaptar *ex vitro* plantas de caña flecha del cultivar “Criolla”.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección del material vegetal y establecimiento *in vitro*

El material vegetal consistió de segmentos nodales de aproximadamente 5,0 cm de longitud con varias yemas axilares, los cuales fueron aislados a partir de brotes basales (hijuelos) desarrollados de plantas adultas del cultivar “Criolla” establecidas en la Colección de Plantas de Caña Flecha de la Granja Experimental de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Córdoba.

Las hojas y las vainas fueron removidas de los segmentos nodales seleccionados, y estos fueron colocados en remojo con agua potable durante 1 h. Posteriormente, se seccionaron porciones de aproximadamente 2 cm de longitud conteniendo al menos una yema axilar, las cuales fueron desinfectadas superficialmente con una solución al 1,25% de hipoclorito de sodio mezclado un 20 μL de Tween 20[®] por 20 minutos en constante movimiento. Posteriormente, los explantes fueron enjuagados tres veces con agua destilada estéril en el interior de una cámara de flujo laminar.

Tres formulaciones de Murashige y Skoog (MS) (1962) en estado semi sólido [completo (MS), MS suplementado con 200 mg L⁻¹ de carbón activado (MSCA) y MS suplido con concentraciones de 0,1 mg L⁻¹ de ANA y 0,3 mg L⁻¹ de BAP (MSAB)] se evaluaron para determinar su efecto sobre el establecimiento de los explantes en condiciones *in vitro*. Cada formulación se suplió con (en mg L⁻¹) mio inositol (100), sacarosa (30.000), tiamina HCl (0,4) y TC agar (8.000) (Sigma Co.), y aproximadamente 30 mL de medio fueron vertidos en frascos de vidrio de 125 cc de capacidad.

Un explante fue establecido en cada recipiente, el cual fue cubierto con dos capas de papel aluminio y sellados con Parafilm[®]. Los cultivos fueron almacenados a una temperatura de 25 °C y luminosidad diaria de 12 h ($40 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-2}$) con tubos halógenos de luz fría fluorescente. Al final de la cuarta semana de cultivo se registró el número de explantes que sobrevivieron y el número de explantes que desarrollaron órganos (yemas y raíces).

Multiplicación de propágulos

Con el fin de determinar las mejores condiciones para inducir la proliferación de yemas axilares y el crecimiento de nuevos tallos, los brotes establecidos fueron transferidos a un medio de cultivo MS semisólido independientemente suplido con cuatro concentraciones (0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 mg L^{-1}) de BAP; estos tratamientos fueron comparados con control absoluto y un tratamiento con 0,1 mg L^{-1} de ANA y 0,3 mg L^{-1} de BAP. El medio fue adicionado con (en mg L^{-1}) mio inositol (100), sacarosa (30.000), tiamina HCl (0,4) y TC agar (8.000) (Sigma Co.) y los cultivos fueron mantenidos en condiciones similares a las del estado de establecimiento. Al final de cuatro semanas de cultivo se registró el número de nuevos tallos producidos por cada explante y el tamaño promedio de los nuevos tallos originados.

Enraizamiento *in vitro* y transplante *ex vitro*

Los tallos multiplicados fueron proliferados utilizando el tratamiento que indujo la mayor tasa de multiplicación, y posteriormente transferidos a medios de enraizamiento con el fin de determinar las mejores condiciones para el enraizamiento en condiciones *in vitro*. Seis tratamientos consistentes de un control absoluto y cinco concentraciones (0,5; 1,0; 2,0; 3,0

y $4,0 \text{ mg L}^{-1}$) de ANA fueron suplementados con (en mg L^{-1}) mio inositol (100), sacarosa (30.000), tiamina HCl (0,4) y TC agar (8.000) (Sigma Co.). Los cultivos fueron mantenidos en condiciones similares a las indicadas para los estados I (Establecimiento) y II (Multiplicación). Después de cuatro semanas de cultivo se registró el número de explantes que produjeron raíces, se calculó el porcentaje de enraizamiento por cada tratamiento, el número promedio de raíces producidas por cada explante y la longitud promedio de las raíces producidas en cada uno de los tratamientos evaluados. Finalmente, las plantas enraizadas ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA) fueron transplantadas en bandejas plásticas con un sustrato de propagación compuesto por turba estéril. Las bandejas fueron colocadas en una casamalla con una polisombra del 70% de cobertura y con tres riegos diarios de 30 s. Durante la primera semana todas las plantas estuvieron cubiertas con una cobertura transparente impermeable para evitar la deshidratación. A partir de la tercera semana, la cobertura fue levantada 1/5 de su totalidad ampliándola progresivamente hasta removerla por completo al final de la cuarta semana. El número total de plantas adaptadas fue registrado al final de la octava semana después del transplante.

Preparación de medios de cultivo y esterilización.

El pH de todos los medios de cultivo empleados fue ajustado a un valor de 5,7 – 5,8 con KOH o HCl previo a la adición del agar. Los medios fueron vertidos en los recipientes de acuerdo con los requerimientos de cada experimento y esterilizados en un autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 1.1 Kg cm^{-2} por un período de 15 minutos.

Análisis de datos

Cada tratamiento de cada experimento tuvo 15 repeticiones, las cuales fueron distribuidas utilizando un diseño completamente al azar. Los datos registrados fueron analizados con un análisis de varianza con base en el modelo estadístico $Y_j = \mu + i + e_i$; donde μ correspondió al promedio general, i correspondió al efecto del tratamiento aplicado y e fue el efecto del error experimental. Los promedios fueron separados utilizando una prueba de separación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento de explantes

Los datos obtenidos mostraron que todos los explantes establecidos en el medio de cultivo MS sobrevivieron a las condiciones *in vitro*, mientras que solo el 60% de los explantes establecidos en los medios de cultivo MSAB y MSCA lograron sobrevivir (Figura 1a). Adicionalmente, el mayor porcentaje de formación de nuevos brotes (60%), al igual que el mayor promedio de nuevos brotes por explante (tres brotes por explante) ocurrió en el medio MSAB. El medio MSCA indujo la formación de nuevos brotes en un 40% de los explantes con un promedio de dos brotes por cada explante establecido. El menor porcentaje de explantes con formación de nuevos brotes, al igual que el promedio más bajo de nuevos brotes por explante fue observado en el medio MS básico, donde solo la mitad de los explantes sobrevivientes experimentaron emergencia de nuevos brotes con un promedio de 1,4 brotes por explante.

La supervivencia de los explantes una vez transferidos a las condiciones *in vitro* son el resultado de la interacción del estado fisiológico de la planta madre y de las condiciones suministradas (asepsia, medio, temperatura, luz, etc.); no obstante, es posible que el genotipo tenga algún efecto relacionado. Suárez (2006) observó que el mayor porcentaje de supervivencia en explantes de caña flecha del cultivar UC121 ocurrió en presencia de MSAB, mientras que aquellos establecidos en medio MS completo sobrevivieron en un 67%. Los resultados obtenidos permiten inferir que los explantes de la variedad “Criolla” producen un mayor número de brotes durante el proceso de establecimiento al compararse con explantes del cultivar UC121, donde se observó un promedio máximo de 0,86 nuevos brotes por cada explante.

Multiplicación de propágulo

Las observaciones realizadas permitieron determinar la emergencia de los nuevos brotes a partir de las yemas axilares presentes en los explantes establecidos (Figura 1b), mientras que el análisis realizado permitió observar que el suplemento de BAP en el medio de cultivo incrementa de forma significativa ($P < 0.0001$) el promedio del número de nuevos brotes producidos por cada explante (Figura 2). El mayor promedio de formación de nuevos brotes se presentó cuando los explantes fueron cultivados en presencia de 0,5 y 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Los mismos datos muestran que cantidades de BAP superiores a 1,0 mg L⁻¹ reducen la tasa de multiplicación al compararse con los niveles anteriores, lo que indica una posible sobredosis con efectos negativos para la capacidad de multiplicación del explante.

Algunos estudios en especies relacionadas soportan el efecto inductor de las citocininas en la proliferación de brotes de plantas del tipo bambú a partir de explantes con meristemas

pre-existent. Pattanavibool y Ramyarangsi (2007) reportaron una tasa de hasta 17,5 nuevos brotes al cultivar los explantes de *Bambusa nana* en un medio MS suplido con 4,5 mg L⁻¹ de BAP. Mishra et al. (2001) al multiplicar *in vitro* *Dendrocalamus strictus* (Poaceae) observaron una tasa de multiplicación de 3,29 nuevos brotes con 3 mg L⁻¹ de BAP, la cual se incrementó a 4,59 brotes por explante al adicionar 0,5 mg L⁻¹ de triacantanol. Jiménez et al. (2006), reportaron una tasa de ocho brotes por explante en *Guadua angustifolia* con una concentración entre 2,0 y 3,0 mg L⁻¹ de BAP, mientras que Marulanda et al. (2005) reportaron una tasa de hasta 12 nuevos brotes en explantes de la misma especie con un suplemento de 5,0 mg L⁻¹ de BAP.

Algunos estudios demuestran que el efecto inductor de proliferación caulinar de las citocininas en los explantes no es un evento generalizado y uniforme. Suárez (2006) observó que el suministro de BAP resultó en una disminución de la tasa de multiplicación de explantes de caña flecha del cultivar UC121 con respecto al tratamiento sin suministro de BAP. Adicionalmente, Ndiaye et al. (2006), al cultivar *in vitro* explantes de *Bambusa vulgaris*, no observaron ningún efecto significativo como resultado del suplemento de BAP en el medio. Estos resultados fortalecen la hipótesis del posible efecto del genotipo sobre la respuesta de los explantes en condiciones *in vitro*.

La combinación de BAP y ANA incrementó significativamente la tasa de multiplicación con respecto al tratamiento control, aunque esta fue estadísticamente inferior a la obtenida en presencia de 0,5 o 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos por Suárez (2006) quien reporta una tasa promedio de 12 nuevos brotes por explante del cultivar UC121 con un suplemento de 0,1 mg L⁻¹ de ANA y 0,3 mg L⁻¹ de

BAP. Similarmente, Beltrán y Sehuanes (2004) alcanzaron la mayor tasa de multiplicación en un cultivar no determinado de caña flecha con un suplemento de 2,0 a 4,0 mg L⁻¹ de BAP combinado con suministros de ANA correspondientes a un cuarto de la concentración de BAP. El uso combinado de auxinas y citocininas en la multiplicación *in vitro* ha sido previamente reportado en otras especies. Kalia et al. (2004) reportaron una tasa de 10,3 nuevos brotes al cultivar explantes con meristemos pre-existentes de *Bambusa nutans* en un medio semisólido con 5,0 mg L⁻¹ de BAP y 1,25 mg L⁻¹ de ANA. Sanjaya et al. (2005) obtuvieron tasas de hasta 125 nuevos brotes por explante cada 50 días al cultivar explantes de *Pseudoxytenanthera stocksii* en un medio de cultivo MS líquido con 0,5 mg L⁻¹ de ANA y 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Kapoor y Rao (2006) utilizaron dosis combinadas de 0,56 a 1,12 mg L⁻¹ de BAP con 5,0 mg L⁻¹ de ANA y 0.1 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃) en la inducción de rizomas *in vitro* y desarrollo de brotes de *Bambusa bambos*.

El análisis de los resultados del tamaño de los brotes producidos a partir de los explantes cultivados en el medio de multiplicación permitió determinar que los tratamientos aplicados redujeron significativamente la longitud de los nuevos brotes (Figura 2). La mayor longitud promedio de tallo se registró en el tratamiento control absoluto, mientras que los brotes desarrollados en los medios suplementados con BAP disminuyeron su tamaño en la medida que se aumentó la concentración de ésta. Resultados similares a los observados en la presente investigación fueron reportados por Suárez (2006) en caña flecha y Ndiaye et al. (2006) en *Bambusa vulgaris*. Salisbury y Ross (1994) afirman que las citocininas pueden inducir el alargamiento de los brotes solo cuando son adicionadas de forma simultánea con auxinas o giberelinas en el medio. Esta respuesta fue corroborada en el presente estudio, donde los brotes cultivados en el tratamiento conjunto de auxinas y citocininas

desarrollaron una longitud significativamente mayor a los suplementados con las dosis mas altas de citocininas solamente.

Enraizamiento *in vitro* y transplante *ex vitro*

El desarrollo y crecimiento de raíces adventicias en los brotes micropropagados de caña flecha ocurrió en todos los tratamiento evaluados (Figura 1c). Los datos registrados y analizados permitieron determinar que la presencia de ANA incrementó de forma significativa ($Pr < 0.0001$) el número de raíces por brote y disminuyó significativamente la longitud promedió de las raíces producidas (Figura 3). La formación de raíces adventicias con longitudes reducidas *in vitro* como respuesta al suministro de auxinas de forma exógena parece ser el resultado del desplazamiento contrario al movimiento basipétalo que ocurre de forma natural cuando las auxinas son producidas por el mismo explante (Salisbury y Ross 1994).

Las observaciones realizadas muestran que el suministro de auxinas no es necesario para que ocurra la formación de raíces adventicias en el cultivar “Criolla” de caña flecha. Esta condición es un indicativo de la facilidad de enraizamiento de la especie, lo cual ha sido igualmente observado en estudios previos (Hartmann et al. 2000, García y Hernández 2004, Suárez 2006). Sin embargo, los datos muestran que un suministro de al menos $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA es necesario para poder obtener un número de 10 o más raíces adventicias con un tamaño menor o igual a 1,0 cm de longitud (Figura 3). Suárez (2006) observó niveles de enraizamiento mayores a los resultados del presente estudio durante el enraizamiento de caña flecha cultivar UC121, reportando un promedio superior a 40 raíces por brote y longitud promedio de raíz inferior a 1,0 cm en presencia de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA. Beltrán y

Sehuanes (2004) reportaron el mayor enraizamiento *in vitro* en caña flecha con dosis de 4,0 a 6,0 mg L⁻¹ de AIA.

Estudios relacionados en otras especies gramíneas sugieren un efecto del genotipo en la respuesta al enraizamiento *in vitro*. Mishra et al. (2001) reportaron el mayor porcentaje de enraizamiento (55,66%) de explantes de *Dendrocalamus strictus* con 3,0 mg L⁻¹ de ANA. Jiménez et al. (2006) observaron un enraizamiento completo (100%) en brotes axilares de *Guadua angustifolia* en un medio sin suministro de auxinas. Saxena y Dhawan (1994) reportó un 90% de enraizamiento en brotes de *Bambusa tulda* cultivados en un medio MS con 1,75 mg L⁻¹ de AIA. Ndiaye et al. (2006) reportaron un enraizamiento máximo de 45,83% de brotes de *Bambusa vulgaris* cuando fueron cultivados con dosis iguales o mayores a 20 mg L⁻¹ de AIB. Pattanavibool y Ramyarangsi (2007) alcanzaron un 90% de enraizamiento en brotes de *Bambusa nana* cultivados en medio MS suplido con 18,62 mg L⁻¹ de ANA. Shirin y Rana (2007) obtuvieron la mayor tasa de enraizamiento en brotes de *Bambusa glaucescens* con 5,1 mg L⁻¹ de AIB.

Las plantas transplantadas a condiciones *ex vitro* mostraron crecimiento y aspecto normales sin signos evidentes de variabilidad morfológica (Figura 1d). El porcentaje de supervivencia registrado fue del 100%, lo cual indica que con la tasa de multiplicación obtenida en el estado de proliferación de propágulo, es posible obtener cantidades superiores a un millón de nuevas plantas en un año partiendo de un solo explante.

CONCLUSIONES

- La formulación de medio MS completo permite el establecimiento del 100% de los explantes a las condiciones *in vitro*.
- La adición de citocininas en el medio tiene efectos significativos sobre la proliferación *in vitro* de plantas de caña flecha del cultivar *criolla*.
- El suministro de auxinas en el medio de cultivo incrementa de forma significativa el número de raíces adventicias por cada explante y garantiza una adaptación completa de las plantas a las condiciones *ex vitro*.

REFERENCIAS

- Araméndiz, H., Espitia, M. y Cardona, C. 2009.** Valoración de los recursos filogenéticos de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.) en el caribe colombiano. Produmedios, Bogotá, 108p.
- Aramendiz, H., Espitia, M. y Robles, J. 2005.** Colección, conservación, caracterización morfoagronómica y producción de semilla de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.) del Caribe Colombiano. CIUC, Universidad de Córdoba, Montería, 118p.
- Ballesteros, J. y Guardo, T. 1988.** Estudio preliminar de la propagación asexual de la caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Córdoba, Montería.
- Beltrán, J. y Sehuanes, I. 2004.** Micropropagación *in vitro* de la caña flecha (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv. c.v. “Criolla” mediante el uso de segmentos nodales. Memorias del XXXIX Congreso de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, Ibagué, p353.
- García, J. y Hernández, H. 2004.** Efecto de dos fitorreguladores sobre la formación de raíces en estacas de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Córdoba, Montería.
- Gonzalez, O. 1997.** Situación de dos métodos de siembra por estacas de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.) de la variedad “Martinera” en la región de Montelibano, Córdoba. Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Córdoba, Montería.

- Hartmann, H., Kester, D., Davies, F. y Geneve, R. 2000.** Plant Propagation Principles and Practices. Prentice Hall, Upper Saddle River, p308.
- Hernández, H., Araméndiz, H. y Cardona, C. 2005.** Influencia del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Revista Temas Agrarios 10(1):5-13.
- Jiménez, V., Castillo, J., Tavares, E., Guevara, E. y Montiel, M. 2006.** *In vitro* propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 86(3):389-395.
- Kalia, S., Kalia, R. y Sharma, S. 2004.** *In vitro* regeneration of and indigenous bamboo (*Bambusa nutans*) from internode and leaf explant. Journal of bamboo and Rattan 3(3):217-228.
- Kane, M. 1996.** Micropropagation from pre-existing meristemos, En: Gray D y Trigiano R (Ed.) Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Excercises. CRC Press, Boca Ratón, p75-86.
- Kapoor, P. y Rao, U. 2006.** *In vitro* rhizome induction and plantlet formation from multiple shoots in *Bambusa bambos* var. Gigantea Bennet and Gaur by using growth regulator and sucrose. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 85(2):211-217.
- Marulanda, M., Gutiérrez, L. y Márquez, M. 2005.** Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth. Biotecnología Vegetal 27(82):5-15.
- Mishra, Y., Rana, P., Shirin, F. y Ansari, S. 2001.** Augmenting *in vitro* shoot multiplication by vipul (triacetanol) and adventitious rhizogenesis by rice bran extract in *Dendrocalamus strictus*. Indian Journal of Experimental Biology 39(2):165-169.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15:473-497
- Ndiaye, A., Diallo, M., Niang, D. y Gassama-Dia, Y. 2006.** *In vitro* regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. African Journal of Biotechnology 5 (13):1245-1248.
- Pattanavibool, R. y Ramyarangsi, S. 2007.** *In Vitro* Micropropagation of young buds of *Bambusa nana*. En: http://www.forest.go.th/Research/English/abstracts_silvic/phai.htm [Accedido: 07-29-2008]
- Rivera, H., Suárez, I. y Palacio, J. 2009.** Análisis de la diversidad genética de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.) utilizando la técnica de AFLPs. Agricultura Técnica en México 35(1):78-84.
- Rivera, H., Suárez, I. y Vallejo, F. 2008.** Caracterización molecular de accesiones colombianas de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl) utilizando la técnica de AFLPs. Acta Agronómica 57(4):227-232.
- Salisbury, F. y Ross, C. 1994.** Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica S.A, México D.F., p395-451.

- Sanjaya, T., Ratore, S. y Ravishankar, V. 2005.** Micropropagation of *Pseudoxytenanthera stocksii* Munro. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant 41(3):333-337.
- Saxena, S. y Dhawan, V. 1994.** Micropropagation research in south Asia. Constraints to production of bamboo and rattan. INBAR 5:101-113.
- Shirin, F. y Rana, P. 2007.** *In vitro* plantlet regeneration from nodal explants of field-grown culms in *Bambusa glaucescens* Willd. Plant Biotechnology Reports 1(3):141-147.
- Suarez, I. 2006.** Micropropagación de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). CIUC Universidad de Córdoba, Montería, 60p.

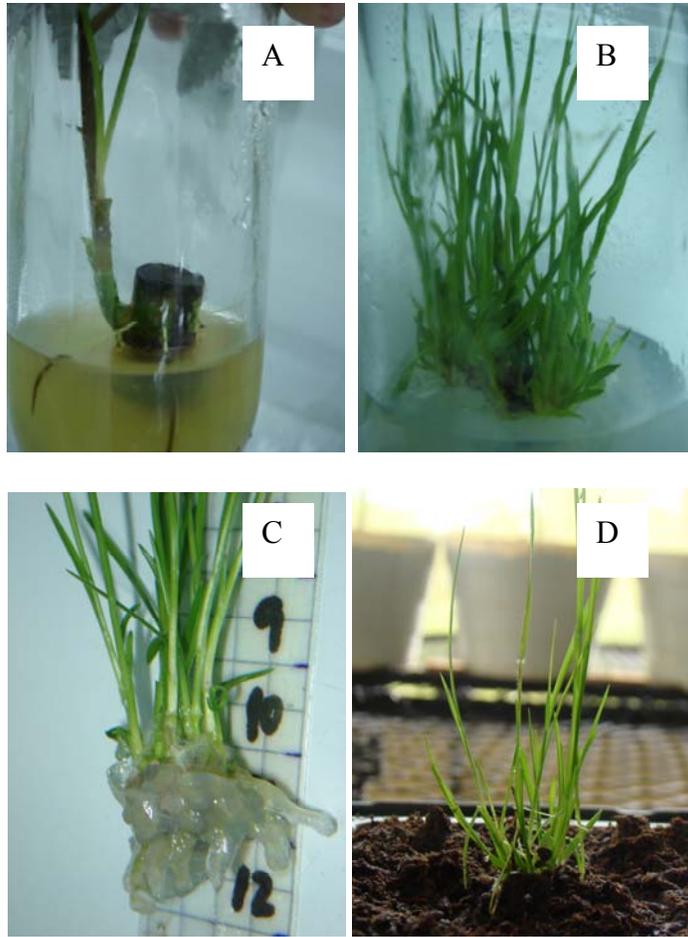


Figura 1. A. Explantes establecidos de caña flecha, B. brotes proliferados *in vitro*, C. brotes enraizados, D. plantas transferida a condiciones *ex vitro*.

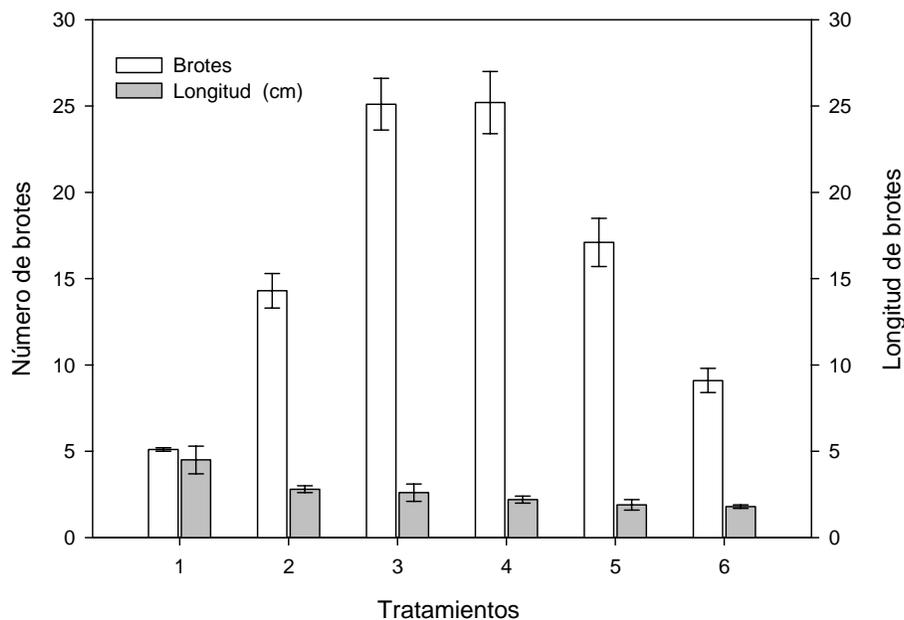


Figura 2. Efecto de diferentes tratamientos (1=0,0; 2=0,1 mg L⁻¹ ANA+0,3 mg L⁻¹ BAP; 3=0,5 mg L⁻¹ BAP; 4=1,0 mg L⁻¹ BAP; 5=2,0 mg L⁻¹ BAP y 6=4,0 mg L⁻¹ BAP) sobre el número y longitud de brotes micropropagados de caña flecha.

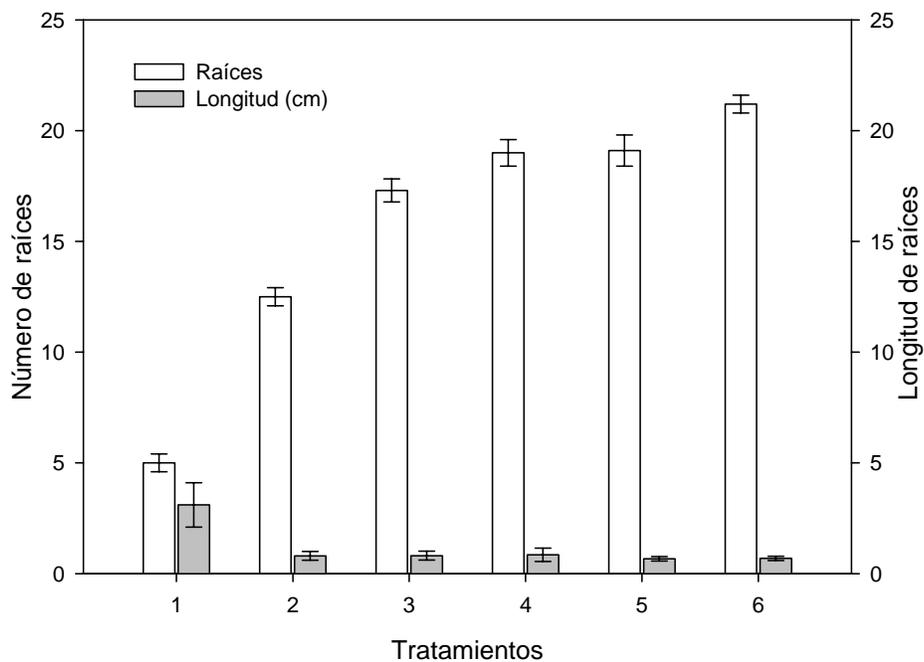


Figura 3. Efecto de diferentes tratamientos (1=0,0; 2=0,5; 3=1,0; 4=2,0; 5=3,0 y 6=4,0 mg L⁻¹ ANA) sobre el número y longitud de raíces producidas por tallos micropropagados de caña flecha.