

Metodología de propagación *in vitro* de *Dahlia sp.*

Propagation methodology in vitro of Dahlia sp.

Liudmila Jiménez-Mariña

Máster en Ciencias Agrícolas, investigadora Agregada. Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov". Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Peralejo, Bayamo, Granma, Cuba, ljimenez@dimitrov.cu ID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-6651>

Para citar este artículo / To reference this article / Para citar este artigo

Jiménez-Mariña, L. (2020). Metodología de propagación *in vitro* de *Dahlia sp.* *Avances*, 22(3), 406-422. Recuperado de <http://www.ciget.pinar.cu/ojs/index.php/publicaciones/article/view/560/1623>

Recibido: 23 de enero de 2020

Aceptado: 28 de mayo de 2020

RESUMEN

El objetivo fue determinar una metodología para la propagación *in vitro* de segmentos nodales de *Dahlia sp.* Para el establecimiento *in vitro* se utilizó hipoclorito de sodio (0.5 y 1 %) en tiempos de inmersión (10, 20 y 30 min). Se evaluó el porcentaje de explantes establecidos, contaminados y necrosados. En la multiplicación se emplearon dosis de ácido giberélico (AG₃): 1, 5 y 10 mg L⁻¹ y se evaluó el número de brotes/explantes, número de segmentos/explantes, número de hojas y altura de la

planta (cm). Se estudió diferentes concentraciones del ácido 3-indolacético 0; 0,1; 0,5 y 1 mg L⁻¹. Las variables fueron por ciento de plántulas enraizadas, número de raíces/ brote, aparición y longitud de la raíz. Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con análisis de varianza de clasificación simple. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey para un nivel de significación del 5 %. Los resultados obtenidos con hipoclorito de sodio al 0,5 % durante 30 minutos fue el más favorable, con

un 60 % de supervivencia. Se obtuvo un incremento en la altura de la planta, así como en el número de segmentos/explantos con 1 mg L⁻¹ de AG₃. Se demostró que con 0,5 mg L⁻¹ de ácido 3-indolacético se alcanzó un 87,5 % de explantes enraizados y generó el mayor número de raíces en un periodo de 30 días. Se logró una aclimatación por encima del 80 %, lo cual es indicador que las plántulas fueron capaces de superar los cambios a las condiciones naturales.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, flor de corte, segmentos nodales, reguladores de crecimiento.

ABSTRACT

The objective was to determine a methodology for the *in vitro* propagation of nodal segments of *Dahlia sp.* Sodium hypochlorite (0.5 and 1 %) was used for the *in vitro* establishment on immersion times (10, 20 and 30 min). The percentage of established, contaminated and necrotized explants was evaluated. In the multiplication doses of gibberellic acid (AG₃) were used: 1, 5 and 10 mg L⁻¹ and was evaluated the number of shoots/ explants, number of segments/ explants, number of

leaves and height of the plant (cm). Different concentrations of indolacetic acid were studied: 0, 0.1, 0.5 and 1 mg L⁻¹. The variables were percent of rooted seedlings, number of roots/ bud, occurrence and root length. A completely randomized design with simple classification variance analysis was applied. The Tukey means comparison test was performed for a significance level of 5 %. The results obtained with 0,5 % sodium hypochlorite for 30 minutes was the most favourable, with a 60 % survival rate. An increase in plant height was obtained, as well as in the number of segments/explants with 1 mg of gibberellic acid. It was shown that with 0.5 mg L⁻¹ of indolacetic acid, 87.5 % of explants were rooted and generated the largest number of roots in a 30-day period. Acclimatization above 80 % was achieved which is an indicator that the plants were changed to overcome the changes to natural conditions.

Keywords: *in vitro* culture, court flower, nodal segments, growth regulators.

INTRODUCCIÓN

Las flores de corte constituyen cerca de la mitad del mercado de

los productos hortícolas, donde los países desarrollados consumen más

del 90 %. La Dalia es una planta perteneciente a la familia Asteraceae y sus dos principales especies son *Dahlia pinnata* Cav. y *D. coccinea* Cav. La diversidad disponible con respecto a los caracteres florales es digna de ser conservada (Puldeska *et al.*, 2015; Garrido, Pérez & Zabala, 2017). La propagación sexual tiene limitaciones, ya que no produce semillas en abundancia y las pocas que se obtienen, pierden la viabilidad rápidamente y la descendencia es muy variable genéticamente; mientras que la asexual, realizada por esquejes, requiere disponer de un número importante de plantas. La división de los rizomas es ineficaz y se recomienda generalmente en el cultivo amateur (Hetman *et al.* 2017). Por ello, la técnica de cultivo *in vitro* se usa extensivamente, debido a que permite el saneamiento y propicia la multiplicación masiva de la especie, lo que garantiza la fidelidad genética (Jiménez, 2015). Para iniciar el cultivo de tejido se utilizan comúnmente algunos tipos de explantes: explantes apicales (Salman Hamad & Al-Ahmer, 2010), explantes nodales (Al-Mizory, 2013), fragmentos de hojas (Otani *et al.*, 2013).

y brotes de inflorescencias (Hernández & Mejía, 1994). Una organogénesis indirecta a través del callo también se utiliza a menudo (Fatima *et al.* 2007; Wadankar & Malode 2012; Ibrahim & Daraj 2015a, 2015b, 2015c). Existen investigaciones sobre la influencia de los reguladores de crecimiento en la multiplicación y enraizamiento. Majad y Daraj (2015) determinaron el efecto del explante, BA (6-bencilaminopurina) y NAA (α -naftaleno ácido acético) en la regeneración y crecimiento de los brotes. Las plantas producidas por micropropagación fueron aclimatadas con un alto índice de éxito del 100 %. Si bien es cierto que se logran avances importantes en esta materia, existen pocos estudios específicos relacionados con la *propagación in vitro* a partir de segmentos nodales. Por lo antes mencionado, el objetivo del presente trabajo es obtener una metodología para la propagación *in vitro* de segmentos nodales de *Dahlia sp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov", en el periodo comprendido de enero 2015 a abril de 2016. Se utilizaron segmentos nodales y se trabajó según metodología de Hernández y Mejías (1994).

FASE ESTABLECIMIENTO IN VITRO

Material vegetal: los explantes iniciales fueron tomados a partir de plantas donantes (*Figura*), en condiciones controladas (invernadero). Los explantes empleados para la siembra fueron segmentos nodales desprovistos de hojas con una longitud de 12 mm.



Figura. Plantas donantes de *Dahlia sp.*

Tratamientos de desinfección: los explantes se lavaron con detergente comercial al 1 % durante 5 minutos, luego se enjuagaron tres veces con abundante agua. Seguidamente, y

dentro de la cabina de flujo laminar, se sumergieron en distintas concentraciones de hipoclorito de sodio y tiempos de exposición (*Tabla 1*).

Tabla 1. Concentraciones de hipoclorito de sodio y tiempos de exposición para el establecimiento *in vitro* del cultivo de *Dahlia sp.*

| Tratamientos | Hipoclorito de sodio (%) | Tiempo de exposición (min) |
|--------------|--------------------------|----------------------------|
| 1 | 0,5 | 10 |
| 2 | 0,5 | 20 |
| 3 | 0,5 | 30 |
| 4 | 1 | 10 |
| 5 | 1 | 20 |
| 6 | 1 | 30 |

Una vez finalizado el tratamiento de desinfección, los explantes fueron enjuagados tres veces con agua destilada estéril.

Medio de cultivo: se utilizó un medio de cultivo compuesto por las sales y vitaminas de Murashige y Skoog (1962), enriquecido con mio-inositol 100 mg L⁻¹, BAP 0,1 mg L⁻¹, sacarosa 30 g L⁻¹ y 6 g L⁻¹ agar E como agente gelificante. El pH se ajustó a 5.7 con KOH o HCL antes de la adición del agente gelificante; esterilizándose en autoclave a 0.15 Mpa de presión y 121 °C de temperatura durante 20 minutos. Se distribuyó en tubos de ensayo de 24 x 150 mm, a razón de 5 ml por tubo.

Siembra de los explantes y condiciones del cultivo: los segmentos nodales se colocaron según la polaridad de la planta a razón de un explante por tubo.

Los cultivos se incubaron en una cámara de crecimiento de luz natural a temperatura de 26 ± 20 °C, humedad relativa del 70-80 %, e iluminación natural con un fotoperiodo de 14 horas. Se cultivaron 10 segmentos nodales por tratamiento en cámara de flujo laminar, efectuándose tres repeticiones.

A los diez días las variables evaluadas fueron: Supervivencia: número de explantes vivos/ número total
Porcentaje de contaminación: número de explantes contaminados por bacterias y hongos.
Necrosis: número de explantes necrosados

Fase de multiplicación *in vitro*

Material vegetal: explantes nodales procedentes de la fase de establecimiento de plantas obtenidas *in vitro*.

Condiciones de cultivo:

En la multiplicación fueron probadas las combinaciones de AG₃ a 1, 5 y 10 mg L⁻¹, más el tratamiento control.

A los 28 días después de iniciado

el cultivo se evaluaron las variables: número de brotes/explante, número de segmentos/explante, altura de la planta (cm) y número de hojas.

Fase de enraizamiento *in vitro*

Material vegetal

El material vegetal utilizado para el enraizamiento fueron segmentos nodales con un tamaño de 1,5 cm previamente cultivados en medio de sales MS, 100 mg L⁻¹ mio- inositol, tiamina 1 mg L⁻¹, 1 mg L⁻¹ de ácido giberélico, 7 g de Agar E, 30 g L⁻¹ de sacarosa procedentes de la fase de multiplicación, la cual se completó a los dos meses de iniciado este subcultivo.

Condiciones de cultivo

Para el enraizamiento *in vitro* se empleó el medio de cultivo semisólido, compuesto por las sales propuestas por Murashige y Skoog (MS) (1962) a la mitad de concentración de sales (50 %), micronutrientes completos, 100 mg L⁻¹ mio-inositol, tiamina 1 mg L⁻¹, 6 g L⁻¹ Agar E y 30 g L⁻¹ de sacarosa. Los tratamientos consistieron en diferentes concentraciones de Ácido 3- indolacético (AIA), como se muestra a continuación en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Concentraciones empleadas de ácido 3-indolacético (AIA) para el enraizamiento *in vitro* de segmentos nodales de *Dahlia sp.*

| Tratamientos | Concentraciones de AIA (mg L ⁻¹) |
|--------------|----------------------------------------------|
| 1 | Control |
| 2 | 0,1 |
| 3 | 0,5 |
| 4 | 1 |

Se utilizaron frascos de vidrio con un diámetro de 5 cm, y una altura de 8 cm, con una capacidad de 250 ml de volumen aproximadamente, en los cuales se dispensaron 25 ml del medio elaborado. Posteriormente, fueron esterilizados en autoclave vertical durante 20 minutos a 1.2 kgf.cm. Se utilizaron cinco explantes por frasco y 50 por tratamiento. Se evaluaron los siguientes indicadores a los 30 días de establecido el cultivo: Aparición de raíz (días): se registró al inicio y culminación de aparición de las raíces mediante observación visual, para determinar por ciento. Número de raíces/brote: mediante el conteo de las mismas en cada brote. Porcentaje de plántulas enraizadas: se calculó a partir del número de brotes enraizados del total. Longitud de la raíz (cm): se midieron todas desde el cuello hasta el ápice de la raíz y se obtuvo el promedio.

$$S: \frac{\text{Número de plantas vivas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

Fase de aclimatación

Se realizó en la casa vegetativa provista de un sarán para evitar la incidencia directa de la radiación solar.

En lo que respecta al sustrato tanto la arena como la M.O, previo a la siembra fueron esterilizadas en estufa a una temperatura superior a los 105°C por 2 horas. Por otro lado, el material vegetal procedentes de la fase de enraizamiento se lavaron con abundante agua para eliminar los restos de agar y se trasladaron a la casa de cultivo. Posteriormente se sembraron en bolsas de polietileno negro con una mezcla de sustrato 3:1 (arena: M.O). Se mantuvo el riego constante en las primeras semanas.

A los 10 días de sembradas, se calculó el porcentaje de supervivencia.

Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres repeticiones. Se utilizó la prueba de Kolmogorov – Smirnov para la normalidad de los datos y la de

Barthet para la homogeneidad de varianza. Se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey para el 5 % de probabilidad del error. Todos los análisis estadísticos se procesaron con el paquete Statistica for Windows, versión 10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de establecimiento in vitro

El efecto de los distintos métodos de desinfección con hipoclorito de sodio al 0,5 y 1 % durante 10, 20 y 30 min de exposición sobre el porcentaje de explantes establecidos, contaminados y necrosados durante el establecimiento *in vitro* se muestra en la *Tabla 3*. Se aprecia que los mayores valores para el porcentaje de establecimiento corresponden al tratamiento 3 (0,5 % de hipoclorito de sodio durante 30 min.), que no solo permitió el mayor porcentaje lo que mostró diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos evaluados para $p < 0,05$; sino que también registró uno de los menores valores de necrosis en los tejidos y logró controlar más eficazmente la contaminación con solo un 29.2 %. En este tratamiento se logró encontrar el balance entre la eficiencia de la desinfección y la supervivencia del explante.

Este comportamiento puede atribuirse a que la exposición a una concentración media de NaClO en un mayor tiempo podría activar la diferenciación celular de las yemas nodales y lograr una desinfección adecuada.

Los resultados obtenidos pueden explicarse en razón de que el hipoclorito de sodio tiene mayor oportunidad para llegar al tejido vegetal y hacer efectiva la eliminación de los microorganismos endógenos, sin perjudicar los tejidos del explante, ya que el agente desinfectante disminuye los iones hidroxilo (OH), mediante la formación de agua; además reduce el pH lo que estimula la presencia de ácido hipocloroso que en contacto con materia orgánica actúa como solvente y libera cloro que se combina con el grupo amino de las proteínas formando cloroaminas. El ácido hipocloroso y los iones hipocloritos (OCl^{-1}) llevan a la degradación e hidrólisis de los aminoácidos, lo que disminuye la tensión superficial de la membrana celular de las bacterias y permite la lisis del microorganismo (Ramírez *et al.*, 2014).

Además estos explantes estuvieron altamente expuestos a la contaminación por bacterias y hongos, los cuales existen en las plantas donadoras sin provocar síntomas de infección pero que resultan perjudiciales en el cultivo *in vitro*.

Por otro lado, Abdelnour et al. (2011), plantea que cuando se trabaja con material de campo, este es uno de los principales factores que afecta el establecimiento de los explantes. El efecto de la contaminación se debe fundamentalmente a la competencia que se establece en los explantes *in vitro* y los microorganismos por los nutrientes del medio de cultivo, así como por el daño directo que estos causan, y constituir un problema que preocupa

a un grupo de investigadores, los cuales trabajan para reducir los porcentajes de contaminación en el establecimiento de los cultivos *in vitro* (Jadan et al., 2016; Bedoya et al., 2016 & Bogado et al., 2016). Tampoco se puede descartar la posibilidad que se encuentren los microorganismos en los espacios intercelulares y así escapan de la desinfección y manifiestan crecimiento en el medio de cultivo en condiciones de estrés para el material vegetal.

Tabla 3. Influencia de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio y tiempos de exposición durante el establecimiento *in vitro* de *Dahlia sp.*

| Tratamientos | Hipoclorito de sodio (%) | Tiempo de inmersión (min) | Establecimiento (%) | Contaminación (%) | Necrosis (%) |
|--------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|-------------------|--------------|
| 1 | 0,5 | 10 | 28.7 b | 55.5 b | 15.8 b |
| 2 | 0,5 | 20 | 33.8 b | 51.6 b | 14.6 b |
| 3 | 0,5 | 30 | 60.0 a | 29.2 a | 10.8 a |
| 4 | 1 | 10 | 10.2 c | 69.3 c | 20.5 c |
| 5 | 1 | 20 | 7.5 c | 67.7 c | 24.8 c |
| 6 | 1 | 30 | 5.0 c | 68.6 c | 26.4 c |
| EE | 0.46 | | | | |

Leyenda: Letras distintas dentro de cada columna difieren estadísticamente para $p < 0,05$, según la prueba de rangos múltiples de Tukey.

Los resultados alcanzados (0,5 % de hipoclorito de sodio durante 30 min. de inmersión) difieren de García, Mesa y Ocampo (2015) donde observaron que en los tres explantes propuestos (segmentos nodales, ápices, laminas foliares) de *Aspidosperma polyneurum*, los

porcentajes más altos de contaminación se alcanzaron cuando el agente desinfectante fue el NaClO, pérdidas, en la mayoría de los casos, de hasta el 100 % de las muestras, principalmente por la aparición de hongos.

En el establecimiento *in vitro* de plantas, el hipoclorito de sodio es una de las soluciones más utilizadas para la desinfección de los explantes. No obstante, se observa que a medida que aumentan la concentración de esta sustancia y el tiempo, disminuye el porcentaje de establecimiento y se incrementa el de contaminación y necrosis de los tejidos. Según los resultados encontrados en este estudio la concentración del hipoclorito de sodio al 1 %, no permite la adecuada desinfección de los explantes, ni la generación de la brotación de los segmentos nodales, al parecer el mecanismo de acción del NaClO, destruye los tejidos meristemáticos, lo que genera un aumento en los explantes no promisorios. Esto coincide con lo señalado por Hernández y González (2010), los cuales observaron que a medida que aumentaron las concentraciones de hipoclorito de sodio al igual que el tiempo de exposición, los explantes comenzaron a presentar necrosis, sobre todo en los sitios en donde los tejidos son más sensibles, lo que se traduce en un futuro necrosamiento y muerte celular.

De manera general, la concentración

con 0,5 % de NaClO durante 30 minutos fue óptima para la fragilidad de los explantes nodales porque son tejidos suaves que fácilmente pueden perecer si se superan estas dosis y tiempos de exposición.

Fase de multiplicación in vitro

Las concentraciones de AG₃ utilizadas en este estudio no ejercieron un efecto estadísticamente significativo en las variables: número de brotes/explante y número de hojas (*Tabla 4*). Con relación al indicador número de segmentos/ explante, no existió diferencias significativas entre las concentraciones de AG₃ estudiadas en relación al tratamiento control, aunque existió diferencias significativas entre las concentraciones de 1 y 10 mg L⁻¹. El mayor valor correspondió a la concentración de 1 mg L⁻¹, con 3,33 segmentos por explante. En cuanto al indicador altura de la planta, se observaron diferencias significativas entre la concentración de 1 mg L⁻¹ con relación al control y al resto de las concentraciones evaluadas.

Tabla 4. Efecto del AG₃ en la multiplicación de segmentos nodales de *Dahlia sp.*

| Tratamientos (mg L ⁻¹) | Número de brotes/ explante | Número de segmentos | Altura de la planta (cm) | Número de hojas |
|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 0 | 1.42 a | 1.84 ab | 1.20 b | 1.37 a |
| 1 | 1.58 a | 1.94 a | 2.11 a | 1.42 a |
| 5 | 1.25 a | 1.63 ab | 1.13 b | 1.31 a |
| 10 | 1.42 a | 1.45 b | 1.12 b | 1.31 a |
| EE | 0.11 | 0.058 | 0.109 | 0.038 |

Leyenda: Letras distintas dentro de cada columna difieren estadísticamente para $p < 0,05$, según la prueba de rangos múltiples de Tukey.

En los resultados obtenidos en este experimento, los mayores valores en la altura de la planta se establecieron al nivel más bajo de AG₃ estudiado. En la mayoría de los cultivos, los niveles de AG₃ superiores a 1 mgL⁻¹ son tóxicos, por lo que deben utilizarse en bajos niveles. En este estudio, la utilización de AG₃ presentó mejores resultados a niveles de 1 mg L⁻¹, lo que es de utilidad porque proporciona una mayor producción de hojas y brotes para la propagación masiva.

La literatura refiere escasas investigaciones sobre el estudio del AG₃ en la propagación *in vitro* de dalia. Sin embargo no coincide con lo obtenido por López, López y Castillo (2017) al estudiar la especie *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

de la misma familia, donde evaluaron diferentes concentraciones (0, 0.5 y 1 mg L⁻¹) y concluyeron que no ejerció ningún efecto para las variables, altura de la planta, número de brotes y número de raíces. Algunos brotes enraizaron en el medio de multiplicación, pero se consideró que es necesario realizar la fase de enraizamiento debido a que el número de brotes enraizados y la cantidad de raíces formadas fue muy bajo.

Fase de enraizamiento in vitro

La *Tabla 5* muestra que, el tratamiento con 0,5 mg L⁻¹ a los 30 días posee el mayor porcentaje de plántulas enraizadas con la aparición de raíces pequeñas a partir de los 10 días de cultivo con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos. Mientras que los tratamientos con 0 y 0,1 mg L⁻¹ de AIA no mostraron diferencias significativas, esto puede ser atribuido a la no presencia (control) y baja concentración de AIA utilizado. La respuesta que tuvieron los explantes en presencia de 1 mg L⁻¹ de AIA sugiere que no fue adecuada para conseguir resultados satisfactorios en esta especie ya que el desarrollo de las raíces podría ser afectado por altas concentraciones de auxinas en el medio de cultivo,

que unido a las concentraciones endógenas del explante produce un aumento de la concentración de esta auxina, la cual actúa a bajas concentraciones, observándose una disminución de los valores para todos los indicadores, ya que la concentración de la hormona es determinante del crecimiento. Este resultado podría estar dado a una respuesta a la aplicación de auxina para controlar el exceso de auxina libre, que puede estar regulada por el aumento de la concentración endógena del AIA (Gray *et al.*, 2014). En estudios relacionados con la micropropagación de *Dahlia variabilis* Cav (Hernández y Mejías, 1994) existió una variación muy amplia en la capacidad de enraizamiento de los brotes en un medio con 0,1 mg L⁻¹ de AIA, donde se obtuvo 35,71 % de plántulas enraizadas con una longitud promedio de 4,16 cm.

Tabla 5. Efecto de la concentración de AIA, en la fase de enraizamiento *in vitro* de explantes de *Dahlia sp.*

| Concentración AIA (mg L ⁻¹) | % de plántulas enraizadas | Número de raíces/brotes | Aparición de raíz (días) | Longitud de la raíz (cm) |
|-----------------------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 0 | 33,3 b | 2,5 b | 12-33 | 1,22 b |
| 0,1 | 40,0 b | 2,6 b | 12-33 | 1,55 b |
| 0,5 | 87,5 a | 3,9 a | 10-30 | 3,76 a |
| 1 | 14,29 c | 1,8 c | 12-30 | 0,76 c |
| EE | 0,46 | 0,26 | 0,32 | 0,15 |

Leyenda: Medias en cada columna con diferente letra difieren $p (\leq 0.05)$, según Prueba de Tukey.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos para la variable número de raíces/brotos. El mejor comportamiento correspondió a la dosis 0,5 mg L⁻¹ de AIA, con un valor de 3,9 que difirió del resto de los tratamientos; entre el control y 0,1 mg L⁻¹ no hubo diferencias significativas. La variable longitud de la raíz mostró el mismo comportamiento que la anterior. Es necesario resaltar que para ambos casos el tratamiento de 1mg L⁻¹, resultó el peor comportamiento pues se observó una menor magnitud para las variables evaluadas.

Al respecto, afirman que las auxinas o cualquier otro tipo de fitorregulador son fisiológicamente funcionales cuando se encuentran en pequeñas cantidades, y que una alta concentración de estas sustancias ejerce un efecto negativo sobre las plantas porque su exceso, en lugar de inducir una respuesta específica por parte del tejido vegetal, produce toxicidad en el mismo.

En estudios realizados, al aumentar la concentración de AIA de 0,5 mg L⁻¹ a 1,0 mg L⁻¹ bajo las mismas condiciones de cultivo, la tasa de desarrollo de los protocormos de orquídea (*E. elongatum* Jacq) se hizo menor (Pedroza, 2009).

El AIA es precisamente la auxina más recomendada para la mayoría de los medios de cultivo de enraizamiento descritos en la literatura. Sin embargo en clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.), se obtuvo los mejores resultados en cuanto a la longitud de la raíz al utilizar 0,1 mg L⁻¹ de AIA con valor de 3,48 cm (Sánchez, 2009).

Por otro lado, en plantas *in vitro* de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), de los híbridos 'Zacatepec 10' y 'Zacatepec 48', el número de raíces emitidas por plantas y la longitud de las mismas fueron afectados por las dosis de AIA en ambos híbridos (Rangel *et al.*, 2015).

De forma general los resultados alcanzados en este experimento indican como mejor tratamiento el correspondiente a la concentración 0,5 mg L⁻¹ de AIA, con lo cual se promovió el enraizamiento hasta un 87,5 %, así como el número (3,9) y longitud de las raíces (3,76 cm) lo que podría repercutir sobre el aumento del vigor de los explantes y facilitar la aclimatación directa de las plantas producidas *in vitro*.

CONCLUSIONES

Se obtuvo una metodología para la propagación *in vitro* de segmentos nodales de *Dahlia sp.* con un 80 % de supervivencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelnour, A., Aguilar, M. E., & Valverde, L. (2011). Micropropagación del Pílon (*Hieronyma alchorneoides*). *Agronomía Costarricense*, 35(2), 9-19. Recuperado de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v35n02_indice.html

Al-Mizory, L. S. (2013). Effect of different concentration of cytokinins, carbon source and agar on *in vitro* propagation of *Dahlia sp.* through one single node. *J. Life Sci*, 7(10), 1103-1112. Recuperado de <http://www.tandfonline.com/>

Fase de aclimatación

En lo referente al porcentaje de plántulas aclimatadas se obtuvieron resultados favorables. Se logró una aclimatación por encima del 80%, lo cual es indicador que las plántulas fueron capaces de superar los cambios del lugar *in vitro* (condición heterótrofa) a las condiciones naturales (autótrofas). Esto se debe a que se empleó sustrato estéril por autoclavado o solarización, evitándose la interferencia de enfermedades fungosas.

El cultivo de tejidos a partir de segmentos nodales puede ser utilizado eficientemente para la multiplicación rápida de *Dahlia sp.*

Bedoya, J. C., Sánchez, C. Y., Bermudez, S. M., & Ramírez, S. (2016). Estandarización de un protocolo de desinfección y establecimiento de cultivo *in vitro* de *Aloysia tryphilla*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria*, 14(2), 38-46. DOI: 10.18684/BSAA Recuperado de <http://www.scielo.unam.edu.co/>

Bogado, F., Vera, C., Ayala, P., Sansberro, P., & Luna, C. (2016). Uso de distintos desinfectantes superficiales para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Grevillea robusta*. *Ciencias*

- Agronómicas*, 16(27), 111-116.
Recuperado de
<http://www.cienciasagronomicas.unr.edu.ar/journal/index.php/agronom/article/view/116>
- Fatima, B., Usman, M., Ashraf, T., Waseen, R., & Ali, M. A. (2007). *In vitro* shoot regeneration from cotyledon and hypocotyls explants of *Dahlia cultivars*. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 44(2), 312-16.
Recuperado de
<https://www.pakjas.com.pk/papers./332.pdf>
- García, D. L., Mesa, N., & Ocampo, M. L. (2015). Estandarización del protocolo de desinfección para la micropropagación de *Aspidosperma polyneuron*. *Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 76-84. Doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54277. Recuperado de
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/issue/archive>
- Garrido, M. I., Pérez, M. G., & Zavala, S. (2017). Establishment *in vitro* shoots and callus *Dahlia* sp. for later use to obtained inulin. *Mexican Journal of Biotechnology*, 2(2), 130-141.
Recuperado de
<https://biblat.unam.mx/es/revisita/mexican-journal-of-biotechnology/3>
- Gray, A., Paz, M., García, B., Álvarez, E., & Gutierrez, E. (2014). La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabodopsis thaliana*. *Revista de educación bioquímica*, 33 (1), 13-22. Recuperado de
<https://www.medigraphic.com/cgi-in/new/resumen.cgi?IDARTICULO=74549>
- Hernández, F., & Mejía, J.M. (1994). Micropropagación de *Dalia (Dahlia variabilis Cav)*. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* (1), 63-66.
Recuperado de
https://chapingo.mx/revistas/horticultura/contenido.php?id_articulo=2055&id_revistas=1&id_revista_numero=208
- Hernández, Y., & González, M. E. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y la oxidación fenólica en el establecimiento *in vitro* de árboles frutales. *Cultivos tropicales*, 31(4), 58-69.
- Hetman, J., Łukawska-Sudoł, S., Pudelska, K., & Parzymies, M. (2017). The effect of cutting method on rooting of *Dahlia pinnata Cav.* cutting. *Acta*

- Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 16(2), 149-160. Recuperado de <https://lib.ugent.be/catalog/ejn01:100000000564000>
- Ibrahim, M. A., & Daraj, I. A. (2015a). Micropropagation of dahlia plants *Dahlia variabilis* Wild (Desf.). Effect of explant and plant growth regulators on shoot regeneration and growth. *Adv Agr. Bot*, 7(1), 1-6. Recuperado de <http://www.aab.bioflux.com.ro/home/volume-7-1-2015/>
- Ibrahim, M. A., & Daraj, I. A. (2015b). Micropropagation of dahlia plants (*Dahlia variabilis*). Direct and indirect organogenesis techniques. *Adv Agr. Bot*, 7(1), 28-35. Recuperado de <http://www.aab.bioflux.com.ro/home/volume-7-1-2015/>
- Ibrahim, M. A., & Daraj, I. A. (2015c). Effect of some treatments on seeds germination, shoots multiplication and rooting of dahlia plants via *in vitro* culture. *Swed J. Plant Biotechnol*, 13-21. Recuperado de <http://www.sjpb.se/>.
- Jadan, M., Basantez, K., Gómez, R., & Bermúdez, I. (2016). Establecimiento *in vitro* de brotes de *Basconcellea x helbornii* (Badillo) Badillo. *Bioteología Vegetal*, 16(2), 67-72. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_issues&pid=2074-8647&lng=es&nrm=iso
- Jiménez, L. (2015). Cultivo de la Dalia. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 107-115. Recuperado de <http://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/947>
- López, E., López, A., & Castillo, A. C. (2017). Efecto del ácido giberélico en la propagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, "estevia". *Arnaldoa*, 24(2). Recuperado de <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24211>
- Majad, A., & Daraj, I. A. (2015). Effect of explant and plant growth regulators on shoot regeneration and growth. *AAB Bioflux*, 7(1). Recuperado de <http://www.aab.bioflux.com.ro>
- Murashige, T., & Sckoog, T. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues culture. *Physiology Plant* (15), 473-497. Recuperado de <http://www.plantphysiol.org/>
- Otani, Y., Endo, C., Chin, D. P., & Mii, M. (2013). Highly efficient system for plant regeneration from leaf and stem explants in *Dahlia*. *Plant Biotechnol*, 30(2), 141-146. Recuperado de https://www.jstage.jst.go.jp/browse/plantbiotechnology/30/2/_content/char/en

- Pedroza, J.A. (2009). Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones *in vitro*. *Colombiana de biotecnología*, 11(1), 17-32. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/issue/archive>
- Pudelska, K., Hetman, J., Łukawska-Sudoł, S., & Parzymies, M. (2015). The efficiency of mother crowns and quality of soft cuttings of a few dahlia cultivars. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 14(6), 189–200. Recuperado de <https://www.acta.media.pl>
- Ramírez, L. A., Granados, J.E., & Carreño, N. E. (2014). Evaluación del efecto de tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio sobre segmentos nodales de *Guadua angustifolia* Kunth para el establecimiento del cultivo *in vitro*. *Investigación Agraria y Ambiental*, 5(1), 155-69.
- Rangel, S., Canul, J., Osuna, F., García, F., Rosario, P., Vences, A., & Hernández, E. (2015). Regeneración *in vitro* de híbridos de nochebuena vía organogénesis. *Mexicana de Ciencias Agrícola*, 6(7), 1571-85. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n7/v6n7a12.pdf>
- Salman, M. A., Hamad, M. S., & Al-Ahmer, S. M. (2010). *In vitro* propagation of *Dahlia variabilis*. *Al-Anbar J. Agri. Sci*, 8(1), 148-161. Recuperado de <https://www.iasj.net/iasj?func=issueTOC&isId=1747&uiLanguage=en>
- Sánchez, R. (2009). Enraizamiento autotrófico y su efecto en la aclimatización de vitroplantas de clavel español (*Dianthus caryophyllus* L. [Tesis de Diploma]. Universidad de Granma. 57 p.
- Wadankar, G.D, & Malode, S. N. (2012). *In vitro* regeneration of *Dahlia* cav. *J. of Global Biosciences* (1), 28-41. Recuperado de <https://www.mutagens.co.in/index/archives.html>