

**Establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp.  
a partir de cormillos**

**María Ordóñez Vargas**

**Zamorano, Honduras**  
Diciembre, 2010

ZAMORANO  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

# **Establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingenieras Agrónomas en el Grado  
Académico de Licenciatura

Presentado por:

**María Ordoñez Vargas**

**Zamorano, Honduras**  
Diciembre, 2010

# **Establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos**

Presentado por:

María Ordóñez Vargas

Aprobado:

---

Dinie Espinal de Rueda, M.Sc.  
Asesora principal

---

Abel Gernat, Ph.D.  
Director  
Carrera de Ciencia y  
Producción Agropecuaria

---

María Alexandra Bravo, M.Sc.  
Asesora

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Coordinador de Fitotecnia

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## RESUMEN

Ordóñez, M. 2010. Establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 20 p.

*Gladiolus* sp., conocido comúnmente como gladiolo, es una planta herbácea caracterizada por su inflorescencia en forma de espiga y por su renovación anual a partir de una multitud de pequeños cormillos que se inician del cormo madre. Los cormillos son sembrados en forma convencional por muchos productores de flores y se han hecho estudios para su propagación mediante técnicas de cultivo de tejidos, siendo éste un método que nos permite obtener una reproducción masiva de plantas sanas, libres de enfermedades y virus. El estudio se realizó con el propósito de evaluar cuatro concentraciones (0.5, 1.0, 2.0, y 4.0 mg/L) de la hormona de crecimiento Bencilaminopurina (BAP) en el medio basal de Murashige y Skoog. Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento cada una con 25 unidades experimentales. Se utilizaron cormillos como explantes, estos fueron aislados a partir de cormos grandes cultivados bajo suelo en bandejas. A estos cormillos se les removió la cubierta de escamas con pinzas. Se hizo una desinfección con alcohol al 70% por un minuto y luego fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% del ingrediente activo durante 10 minutos más dos gotas de Tween 80 por cada 100 ml de solución desinfectante, seguido de tres enjuagues con agua destilada estéril. Los explantes se sembraron de forma polar colocando los cormillos en el medio sin ningún tipo de disección. Los datos fueron tomados cada semana durante ocho semanas de duración del experimento. Las concentraciones de 0.5 y 2.0 mg/L de BAP indujeron el mayor crecimiento de la yema apical; estas concentraciones también mostraron una tendencia a estimular una mayor altura de los brotes laterales. La concentración de BAP no tuvo un efecto significativo en la altura y en el número promedio de brotes laterales por explante, sin embargo se observó una tendencia de aumento en los porcentajes de brotación a medida que aumenta la concentración de BAP. Es necesario evaluar otros tipos de citocinina que ayuden a estimular la brotación de yemas laterales.

**Palabras clave:** Cultivo de tejidos, estructuras vegetativas, gladiolo, micropropagación, regeneración

## CONTENIDO

PORTADILLA .....	I
PÁGINA DE FIRMAS .....	II
RESUMEN .....	III
CONTENIDO .....	IV
ÍNDICE DE CUADROS GRÁFICOS Y ANEXOS .....	V
1. INTRODUCCION .....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	9
4. CONCLUSIONES .....	12
5. RECOMENDACIONES .....	13
6. LITERATURA CITADA .....	14
7. ANEXOS.....	15

## ÍNDICE DE CUADROS, GRÁFICOS Y ANEXOS

Cuadro		Página
1.	Composición del medio nutritivo basal Murashige y Skoog para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras 2010.....	5
2.	Concentración y cantidades de soluciones madre utilizadas en la elaboración del medio de cultivo para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras 2010.....	6
3.	Efecto de BAP en la altura del brote apical a la semana ocho de establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Zamorano, Honduras, 2010.....	10
4.	Efecto de BAP en la altura de brotes laterales a la semana ocho de establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Zamorano, Honduras, 2010.....	10
5.	Efecto de BAP en el número de brotes laterales a la semana ocho establecimiento <i>in vitro</i> <i>Gladiolus</i> sp. Zamorano, Honduras, 2010.....	11
6.	Efecto de BAP en el porcentaje de brotes laterales a la semana ocho de establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Zamorano, Honduras, 2010.....	11
Gráfico		Página
1.	Crecimiento semanal en la altura de brotes apicales utilizando cuatro concentraciones de BAP durante el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras, 2010.....	9
Anexo		Página
1.	Planta madre de <i>Gladiolus</i> sp. Valle de Ángeles, Honduras, 2010.....	15

Anexo	Página
2. Finca Pilar de donde se extrajo el material vegetativo para el experimento, localizada en la comunidad de El Cantón, a 3 km de Valle de Ángeles, carretera San Juancito, Francisco Morazán, Honduras, 2010.....	15
3. Material vegetal (cormillos) de <i>Gladiolus</i> sp. utilizado para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Valle de Ángeles Honduras, 2010.....	16
4. Cormo grande de donde se aislaron los pequeños cormillos para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Valle de Ángeles, Honduras, 2010.....	16
5. Cormillos de <i>Gladiolus</i> sp. sin su capa exterior de escamas en el proceso de desinfección en el laboratorio. Zamorano, Honduras, 2010.....	17
6. Procedimiento para la elaboración del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras 2010.....	18
7. Protocolo para la preparación y desinfección del explante inicial en el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras. 2010.....	19
8. Cormillos sembrados en el medio de cultivo contenido en los tubos de ensayo para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Gladiolus</i> sp. Zamorano, Honduras, 2010.	20
9. Cormillos de <i>Gladiolus</i> sp. en la cámara de crecimiento del laboratorio de Cultivo de Tejidos. Zamorano, Honduras, 2010.....	20

## 1. INTRODUCCIÓN

*Gladiolus* sp. conocido comúnmente como gladiolo, es una planta herbácea hortícola de gran valor utilizado en jardinería y en la producción de flores de corte. El gladiolo constituye para España y, en general, para Europa uno de los ornamentales más cultivados y de gran importancia económica (Dole y Wilkins 2004); por sus variados colores y tonalidades, es una de las flores más solicitadas, empleadas y plantada en diferentes zonas. Forma parte de la familia iridácea y es del sur del continente africano, encontrándose también en la cuenca mediterránea (Gutiérrez 2010). El gladiolo ya era sembrado en la época de los griegos y los romanos; en la época de los romanos eran entregados a los gladiadores que triunfaban en la batalla, por lo cual esta planta es denominada símbolo de victoria. Su nombre gladiolo es un diminutivo de “gladius” que significa espada por la forma de su hoja lanceolada terminando en punta (INFOAGRO, 2010).

Los gladiolos son plantas que se desarrollan a partir de un cormo y su inflorescencia se caracteriza por ser una espiga. El cormo es una base hinchada de tallo envuelto por hojas secas con apariencia de escamas; es una estructura sólida con varios nudos y entrenudos y la mayor parte contiene tejido de almacenaje formado por células parenquimatosas. El cormo es de consistencia dura y de forma redonda el cual dura un año siendo remplazado por nuevos cormillos que se forman en él, los cuales son utilizados para la multiplicación comercial (Gutiérrez, 2010).

El cultivo de cormos de gladiolo es muy importante en Francia y Holanda donde se manejan con avanzada tecnología. En estos países los cormos son suministrados en cualquier época del año, obteniendo una buena demanda debido al bajo precio del cormo y a la corta duración del cultivo. Hoy en día se han desarrollado variados cultivares mediante múltiples cruzamientos, obteniendo híbridos heterocigóticos; dicha clasificación se hace por precocidad, tamaño y color (Dole y Wilkins, 2004).

La propagación del gladiolo se puede hacer por métodos sexuales o asexuales ya sea por medio de técnicas de propagación convencional o utilizando técnicas más sofisticadas y modernas como la reproducción *in vitro*. La reproducción convencional se lleva a cabo por medio de cormillos extraídos a partir de la planta al momento de arrancar los cormos. Cada uno de los cormos extraídos está rodeado de pequeños cormillos, los cuales se aíslan para ser sembrados en el suelo; estos cormillos se recogerán y se aislarán en otoño, para ser plantados en la primavera siguiente conservándolos en un ambiente seco (Gutiérrez, 2010).



La micropropagación es una técnica utilizada en plantas con limitaciones particulares en la horticultura convencional. El uso de cormos en plantas bulbosas en la micropropagación es una gran ventaja en comparación con la propagación convencional, debido a que por medio de las técnicas de reproducción *in vitro* se puede obtener material libre de virus y otros patógenos. Otra de las ventajas, según estudios realizados, es que por medio de la micropropagación se puede obtener un aumento masivo de la producción mediante el manejo de las hormonas de crecimiento como la Bencilaminopurina (BAP) y los ciclos de multiplicación *in vitro* (Faheem *et al.* 2008).

En el medio del cultivo *in vitro* se puede producir plantas en menor tiempo y con óptimas condiciones fitosanitarias en comparación con el método de propagación convencional (Chawla, 2007). El objetivo de este estudio fue establecer un protocolo para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos a cuatro concentraciones de Bencilaminopurina (BAP). Determinando el efecto de la concentración en la estimulación de la brotación en yemas apicales y laterales.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### UBICACIÓN

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Reproducción *in vitro* de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

### PLANTAS MADRE Y MATERIAL VEGETAL

Las plantas madre de *Gladiolus* sp. (Anexo 1) proceden de la finca Pilar, localizada en la comunidad de El Cantón, a 3 km de Valle de Ángeles, carretera a San Juancito, Francisco Morazán, Honduras (Anexo 2). El material vegetal utilizado fue cormillos aislados de cormos grandes extraídos del suelo.

### EL EXPLANTE

Los cormillos en miniatura (Anexo 3) están cubiertos por delgadas escamas y nacen de cormos cultivados bajo suelo (Anexo 4); estos fueron seleccionados tomando en cuenta que su yema apical no se encontrara dañada. Luego fueron transportados al laboratorio envueltos en papel periódico humedecido y en bolsas plásticas. Luego en el laboratorio se removieron las escamas de los cormillos (Anexo 5) con pinzas evitando daño físico de la yema apical.

### EQUIPO

#### Cámara de flujo laminar

El aire que llega a la cámara pasa a través de un filtro fino HEPA (aire particulado de alta eficiencia) y asegura que el ambiente se encuentre estéril con el objetivo de limitar las posibilidades de infección en los explantes.

#### Autoclave

Es el aparato esterilizador de medios nutritivos, cristalería e instrumentos de trabajo que esteriliza, por medio de vapor a presión, destruyendo todos los microorganismos.

#### Horno de secado para cristalería

Este horno permite un secado seguro a los tubos de ensayo para evitar la humedad. El secado de los tubos de ensayo se realiza durante 4 horas a 134°C con los tubos previamente lavados y enjuagados con agua destilada.

## CRISTALERÍA

Para la preparación del medio se utilizó diferente tipo de cristalería como vaso de precipitación, probetas, pipetas, embudos, balones, jeringas automáticas dosificadoras, platos petri y tubos de ensayo. Toda la cristalería utilizada fue lavada con detergente y enjuagada con abundante agua del grifo. Luego fue enjuagada con agua destilada y finalmente secado en el horno.

## INSTRUMENTOS

Para la siembra del material en la cámara de flujo laminar se utilizaron pinzas y bisturíes los cuales fueron lavados con detergente, luego fueron enjuagados con agua del grifo seguido de agua destilada y finalmente se hizo un secado al aire libre. Durante el procedimiento de siembra, estos se esterilizan en el esterilizador de calor seco a 250 °C por 15 segundos como mínimo.

## MEDIO DE CULTIVO Y HORMONA DE CRECIMIENTO

El medio de cultivo utilizado para el establecimiento de cormillos de *Gladiolus* sp. fue el medio basal MS (Cuadro 1) suplementado con BAP, una citocinina sintética muy usada para estimular el crecimiento de brotes y la inhibición de formación de raíces. Los cormillos a los que se les agrega esta hormona en el medio de cultivo MS reportan buen número de brotes desarrollados a una concentración de 1.0 mg/L (Faheem *et al.* 2008).

Se evaluaron cuatro concentraciones de BAP (0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mg/L). Cada concentración de BAP representó un tratamiento y se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento. Cada repetición constó de 25 tubos de ensayos para un total de 300 unidades experimentales.

Cuadro 1. Composición del medio nutritivo basal Murashige y Skoog para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras, 2010.

Componentes	Fórmula química	mg/L
Macroelementos		
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.00
Fosfato de potasio	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170.00
Nitrato de potasio	$\text{KNO}_3$	1900.00
Sulfato de magnesio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.00
Nitrato de amonio	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650.00
Microelementos		
Acido bórico	$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.20
Cloruro cobáltico hexahidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.02
Sulfato de cobre pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.02
Yoduro de potasio	$\text{KI}$	0.83
Sulfato de magnesio tetrahidratado	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30
Molibdato de sodio dihidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
Sulfato de zinc heptahidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60
Hierro		
EDTA de sodio férrico	$\text{FeNaEDTA}$	50.00
Componentes Orgánicos		
Myo- inositol		100.00
Acido nicotínico		0.50
Piridoxina		0.50
Tiamina		0.10
Glucosa		3000.00
Gelrita		2000.00
<b>pH 5.7</b>		



## PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Para la preparación del medio nutritivo se utilizaron soluciones madre concentradas de macroelementos, microelementos y hierro según la fórmula original MS descrita anteriormente (Cuadro 1).

Los componentes de la mezcla fueron agregados en un vaso de precipitación, al que se le agregó la mitad de agua destilada de la cantidad total de medio a preparar. La mezcla fue mantenida en agitación constante por medio de un agitador magnético. Se agregaron las soluciones madre de los macroelementos, microelementos y hierro en las cantidades recomendadas (Cuadro 2). A continuación se agregaron los compuestos orgánicos y vitaminas.

Cuadro 2. Concentración y cantidades de soluciones madre utilizadas en la elaboración del medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras 2010.

Solución	Concentración	Cantidad ml/L
Macroelementos	10X	100
Microelementos	1000X	1
FeNaEDTA	200X	5

Al terminar de agregar todas las soluciones anteriores se continuó con el aforo del medio de cultivo. Seguidamente, éste fue dividido en cuatro partes iguales a las que se adicionó una concentración diferente de BAP (0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mg/L) según el tratamiento. Utilizando un medidor de pH se ajustó el pH a 5.7 utilizando soluciones de hidróxido de potasio (KOH) 1M o ácido clorhídrico (HCl) 1N.

Finalmente a cada tratamiento se le adicionó el agente gelatinizador Gelrite (Gelrite<sup>®</sup>), gelrite) a razón de 2 g/L, el cual se mezcló con un agitador magnético. El medio fue dispensado a razón de 10 ml de solución por tubo de ensayo, antes de proceder a su esterilización en el autoclave. La esterilización se realizó a 121 °C y 15 PSI de presión durante 20 minutos (Anexo 6).

## DESINFECCIÓN

Antes de comenzar con el proceso de desinfección (Anexo7), las escamas de los pequeños cormillos fueron removidas cuidadosamente, tratando de no ocasionar daño físico a sus yemas.

En primer lugar se procedió a lavarlos con detergente líquido y con abundante agua del grifo más un enjuague con agua destilada. Luego se realizó un enjuague de un minuto en alcohol al 70%. Seguidamente en la cámara de flujo laminar los cormillos fueron introducidos durante 10 minutos en una solución desinfectante de hipoclorito de sodio al 0.5% de ingrediente activo además se le agregó dos gotas de Tween 80 por cada 100 ml de solución desinfectante (Anexo 7). Finalmente se hicieron tres enjuagues con agua destilada estéril antes de proceder a la siembra.

## SIEMBRA

La siembra en los tubos de ensayo fue realizada en la cámara de flujo laminar, cuya superficie fue asperjada con alcohol al 70% para ser desinfectada. Con la ayuda de pinzas previamente esterilizadas se fue removiendo cada explante en forma individual del vaso de precipitación.

Se realizó una siembra polar colocando cada explante en el medio de manera que la yema apical quedara hacia arriba y el extremo basal en contacto con el medio de cultivo (Anexo 8). Al final de la siembra cada tubo fue tapado con cinta de plástico y con la fecha de siembra. Finalmente los tubos fueron trasladados en bandejas al cuarto de crecimiento.

## CUARTO DE CRECIMIENTO

En el cuarto de crecimiento (Anexo 9) los cultivos se mantuvieron durante 8 semanas después de la siembra a una temperatura de 21 °C y una irradiación de  $36 \text{ umol}^{-2}\text{s}^{-1}$ , un fotoperiodo 16 horas provistas con lámparas fluorescentes del tipo daylight (Anexo 7).

## VARIABLES ANALIZADAS

Para cada variable evaluada, se tomaron los datos semanalmente por un periodo de 8 semanas después de la siembra. Las siguientes variables fueron evaluadas:

- 1.- Altura del brote apical (ABA): para cada explante se midió (cm) con una regla la altura del brote apical.
- 2.- Altura de brotes laterales (ABL): para cada explante se midió (cm) con una regla la altura de los brotes laterales.
- 3.- Número de brotes laterales (NBL): para cada explante se contó el número de brotes laterales.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos (0.5, 1.0, 2.0, y 4.0 mg/L de BAP), tres repeticiones de 25 unidades experimentales para cada tratamiento. Se utilizó el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS 1988) utilizando análisis de varianza usando el Modelo Lineal General con separación de medias Tukey. El nivel de significancia fue de 0.05.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### ALTURA DEL BROTE APICAL (ABA)

El Gráfico 1 muestra los resultados evaluados cada semana hasta la semana ocho, se presenta la media de la ABA en los explantes alcanzada cada semana para cada tratamiento con su respectiva concentración de BAP. Durante el periodo de ocho semanas de duración del experimento, en todos los tratamientos hubo un crecimiento progresivo ascendente de la ABA (Gráfico 1).

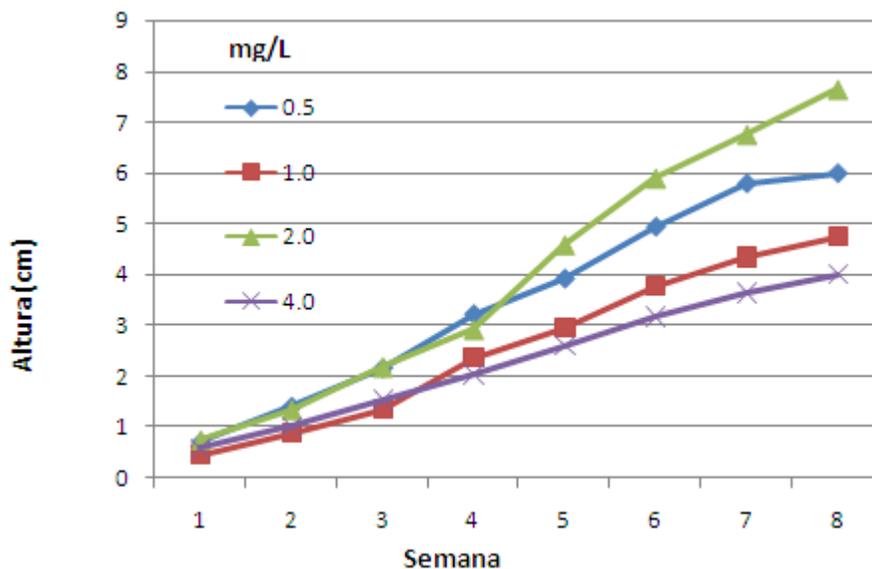


Gráfico 1. Crecimiento semanal en la altura de brotes apicales utilizando cuatro concentraciones de BAP durante el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras, 2010.

La mejor respuesta para la ABA se observó al utilizar concentraciones de 2.0 y 0.5 mg/L de BAP donde se observó una altura de 7.6 y 6.0 cm (Cuadro 3), respectivamente. Sin embargo, estas concentraciones que alcanzaron una mayor ABA no fueron estadísticamente diferentes al utilizar una concentración de 1.0 mg/L de BAP.

Adicionalmente, se observa en este estudio, que las concentraciones que mostraron una mayor ABA, resultaron a su vez, con una mayor altura de los brotes laterales (Cuadro 4), en donde se observa una altura de 2.7 y 3.8 cm al utilizar 2.0 y 0.5 mg/L de BAP, respectivamente.

Cuadro 3. Efecto de BAP en la altura del brote apical a la semana ocho de establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Zamorano, Honduras, 2010.

Concentración de BAP (mg/L)	Altura del brote apical (cm)*
0.5	6.0 <sup>ab</sup>
1.0	4.7 <sup>ab</sup>
2.0	7.6 <sup>a</sup>
4.0	4.0 <sup>b</sup>

\*Valores con diferente letra son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

La aplicación exógena de BAP interactúa con el contenido endógeno de la hormona del explante, incidiendo en un comportamiento irregular de la variable ABA. Es por ello que se explica el hecho de que a mayor concentración de BAP, no necesariamente se observa una mayor ABA.

#### ALTURA DE BROTES LATERALES (ABL)

Para la ABL no se observó diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de BAP utilizadas. Lo que indica que en el cultivo de gladiolo el efecto de BAP en el crecimiento de brotes laterales no es significativo (Cuadro 4). Aunque no haya diferencia significativa entre los tratamientos, se pudo observar que los tratamientos con una tendencia a una mayor ABL, también mostraron una mayor tendencia de ABA por explante (Cuadro 3).

Cuadro 4. Efecto de BAP en la altura de brotes laterales a la semana ocho de establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Zamorano, Honduras, 2010.

Concentración de BAP (mg/L)	Brotes laterales (cm) *
0.5	3.8
1.0	1.7
2.0	2.7
4.0	2.2

\*No hay diferencia estadística

### NÚMERO DE BROTES LATERALES (NBL)

El Cuadro 5 presenta el número promedio de brotes laterales por explante que se obtuvo al final de la semana ocho durante la duración del experimento. Como se puede observar (Cuadro 5) no hubo diferencia estadística entre las diferentes concentraciones de BAP utilizadas.

Cuadro 5. Efecto de BAP en el número de brotes laterales a la semana ocho de establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Zamorano, Honduras, 2010.

Concentración de BAP (mg/L)	Brotos laterales (%) *
0.5	1.2
1.0	1.8
2.0	1.7
4.0	1.7

\*No hay diferencia estadística

### PORCENTAJE DE BROTES LATERALES (PBL)

Al no encontrar diferencia significativa en la brotación de yemas laterales se procedió a evaluar el porcentaje promedio de brotes laterales para cada tratamiento. Se puede observar que las concentraciones de 4.0, 2.0 y 1.0 mg/L de BAP mostraron una tendencia a mayores porcentajes de brotación de las yemas laterales, con porcentajes de brotación de 84.6, 85.7 y 77.8, respectivamente. Se observó un menor PBL al utilizar la concentración menor de 0.5 mg/L de BAP en el medio de cultivo, sin embargo, estos tratamientos no fueron diferentes estadísticamente.

Cuadro 6. Efecto de BAP en el porcentaje de brotes laterales a la semana ocho de establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Zamorano, Honduras, 2010.

Concentración de BAP (mg/L)	Brotos laterales (%) *
0.5	50.0
1.0	77.8
2.0	85.7
4.0	84.6

\*No hay diferencia estadística

## 4. CONCLUSIONES

- A una concentración de 0.5 y 2.0 mg/L de BAP se obtuvo más crecimiento tanto de brotes apicales y laterales, lo cual indica que no es necesario hacer uso de altas concentraciones de BAP para estimular el crecimiento del brote apical.
- La concentración de BAP no tuvo un efecto significativo en el número promedio de brotes laterales por explante.
- Mayores porcentajes de brotación por tratamiento se observaron al aumentar la concentración de BAP, pero no se observó diferencia significativa entre los mismos.

## 5. RECOMENDACIONES

- Evaluar otro tipo de citocinina que estimule la brotación de las yemas laterales y aumente el número promedio de brotes laterales obtenidos por explante.
- Evaluar la remoción o decapitación del brote apical para obtener más número y desarrollo de los brotes laterales y consecuentemente, una mayor reproducción masiva del cultivo a partir de cormillos.
- Estudiar la etapa de multiplicación a partir de brotes laterales de *Gladiolus* sp. iniciados *in vitro*.
- Seleccionar cormos iniciales cultivados bajo las mismas condiciones climáticas, para evitar una variabilidad de respuestas dependiendo del contenido endógeno de la hormona del material vegetal.
- Utilizar material vegetativo procedente de plantaciones que han recibido un óptimo manejo fitosanitario ya que facilita el establecimiento *in vitro* del cultivo y reduce los niveles de contaminación.
- Investigar procedimientos de desinfección, debido a que el material utilizado presentó alto índice de contaminación en el laboratorio.

## 6. LITERATURA CITADA

Chawla, HS. 2007. Introduction to plant biotechnology: micropropagation. 2 ed. United States of America, Pantanargar, India. p 39-56.

Dole, JM; Wilkins, HF. 2004. Floriculture: principles and species; *Gladiolus*. 2 ed. Upper Sadle River, New Jersey. Pearson Education. p 552-556.

Espinal, D. 2009 Guía para la reproducción *in vitro* de cultivos: fundamentos y prácticas de laboratorio. Zamorano, Honduras, Módulo de biotecnología. p 38- 81.

Faheem, A; Memoona, A; Humera, A. *In vitro* shoot multiplication and callus induction in *Gladiolus Hybridus* horst (en línea). Bot J. Department of botany, University of the Punjab, Q. A. Campus, Lahore. Publicado el 7 de Octubre 2007. Consultado el 15 de agosto del 2010. Disponible en [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40\(2\)/PJB40\(2\)517.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40(2)/PJB40(2)517.pdf)

Gutiérrez, T. 2010. Cultivo de gladiolo: descripción de cormo 8 (en línea). Chiapas, México, proyecto estratégico para la seguridad alimentaria. Unidad Técnica Nacional. Publicado en marzo del 2010. Consultado 3 de agosto del 2010. Disponible en [http://www.utn.org.mx/docs\\_pdf/novedades/LECTURA\\_MANUAL\\_FLORICULTURA\\_CULTIVO\\_DE\\_GLADIOLO.pdf](http://www.utn.org.mx/docs_pdf/novedades/LECTURA_MANUAL_FLORICULTURA_CULTIVO_DE_GLADIOLO.pdf)

INFOAGRO 2010. El cultivo de gladiolo: origen (en línea). Copyright Infoagro Systems, S.L. Consultado el 18 de junio de 2010. Disponible en <http://www.infoagro.com/flores/flores/gladiolo.htm>

Taiz, L; Zeiger, E. 2006. Fisiología vegetal: Citoquininas; reguladores de la división celular (en línea). 2 v. Los Ángeles, Universidad de California. p 943-960.

## 7. ANEXOS

Anexo 1. Planta madre de *Gladiolus* sp. Valle de Ángeles, Honduras, 2010.



Anexo 2. Finca Pilar de donde se extrajo el material vegetativo para el experimento, localizada en la comunidad de El Cantón, a 3 km de Valle de Ángeles, carretera a San Juancito, Francisco Morazán, Honduras, 2010.



Anexo 3. Material vegetal (cormillos) de *Gladiolus* sp. utilizado para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Valle de Ángeles, Honduras, 2010.



Anexo 4. Cormo grande de donde se aislaron los pequeños cormillos para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Valle de Ángeles, Honduras, 2010.

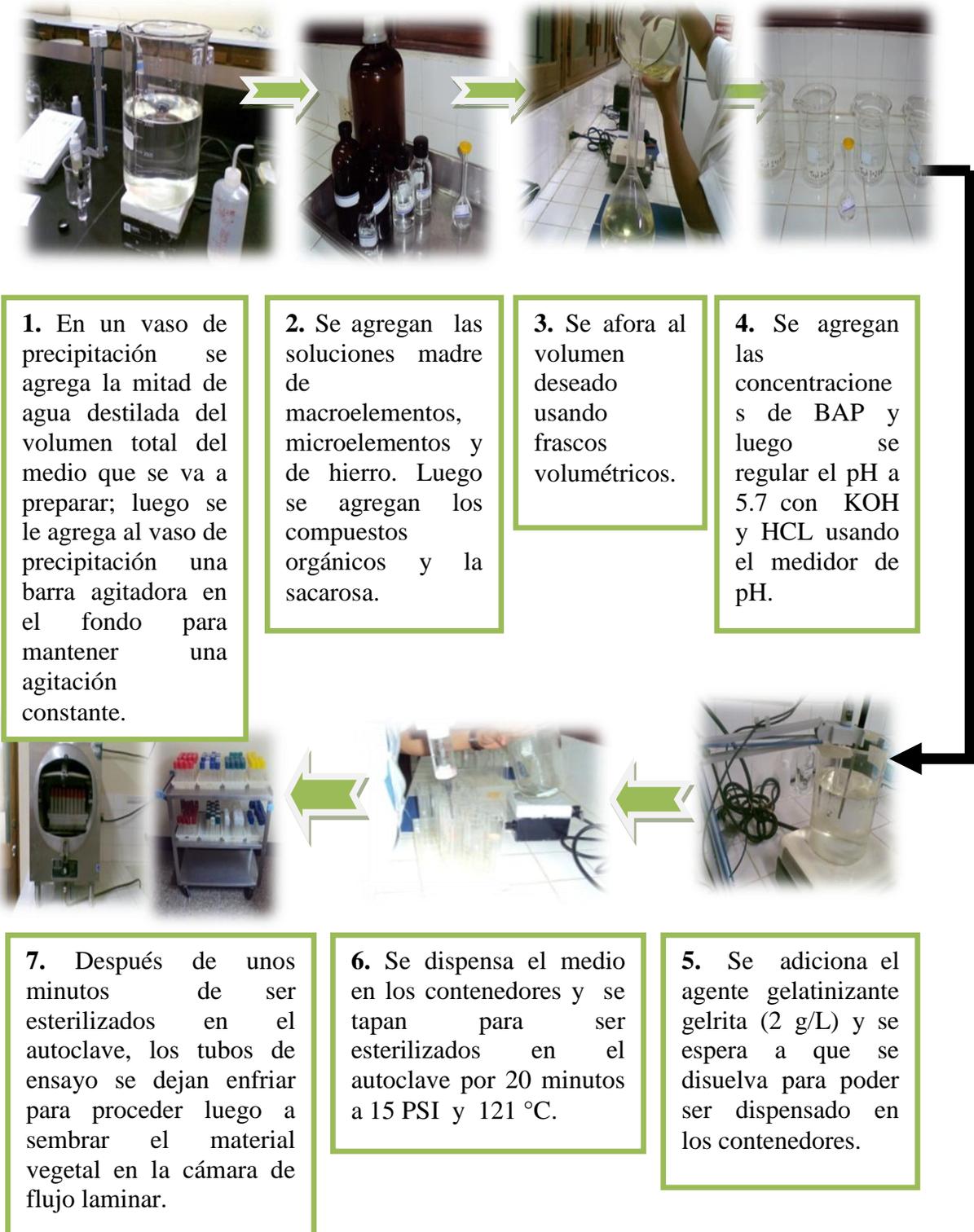


(INFOAGRO 2010)

Anexo 5. Cormillos de *Gladiolus* sp. sin su capa exterior de escamas en el proceso de desinfección en el laboratorio. Zamorano, Honduras, 2010.



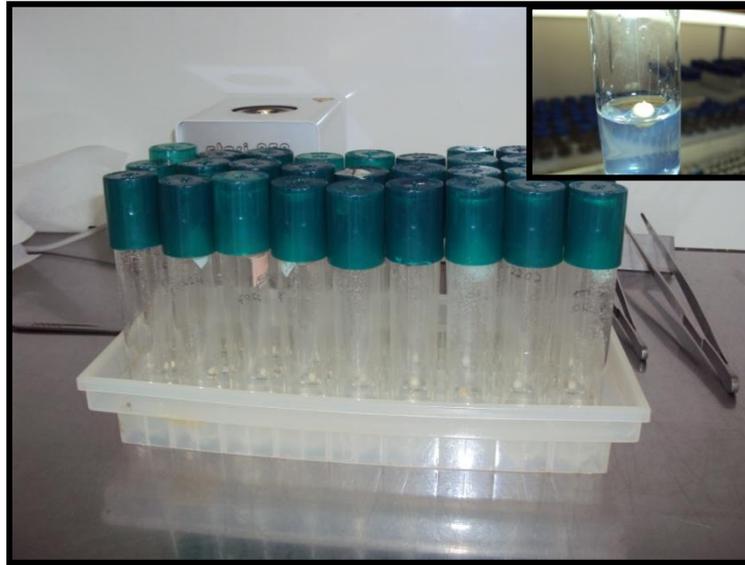
Anexo 6. Procedimiento para la elaboración del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras, 2010.



Anexo7. Protocolo para la preparación y desinfección del explante inicial en el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. a partir de cormillos. Zamorano, Honduras. 2010.



Anexo 8. Cormillos sembrados en el medio de cultivo contenido en los tubos de ensayo para el establecimiento *in vitro* de *Gladiolus* sp. Zamorano, Honduras, 2010.



Anexo 9. Cormillos de *Gladiolus* sp. en la cámara de crecimiento del laboratorio de Cultivo de Tejidos. Zamorano, Honduras, 2010.

