

# BIOTECNOLOGIA PARA LA PRODUCCION DEL CLAVEL JAPONES (*DIANTHUS BARBATUS*)

**P. Díaz, O. Oliva, R. Gutiérrez, Y. Guía, M. Simón y M. Sunchiz.**

*Bioplantas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Apartado Postal 6990, Ciudad de La Habana, Cuba.*

Recibido: 10 de noviembre de 1996.

**RESUMEN.** Se estableció una biotecnología para la producción *in vitro* de plántulas de *Dianthus barbatus*. El mejor sustrato para la adaptación a las condiciones ambientales de las vitroplántulas fue la mezcla de suelo ferralítico rojo y cachaza (50:50). La bandeja de mejor formación de los cepellones resultó la plástica de alvéolos de 4 cm de diámetro y 4 cm de profundidad. Las condiciones de cultivo en canaletas, en la etapa de enero a abril, presentaron los mejores resultados en cuanto a la calidad de la flor y a los rendimientos. La época de cosecha se puede extender con buenos resultados si se realizan los cultivos en condiciones de túneles. En todas las experiencias se logró el 100 % de floración en las plantas cultivadas. Las flores presentaron buena resistencia a las condiciones de exposición por espacio de unos siete días.

## INTRODUCCION

La producción de plantas para la obtención de flores, a través del cultivo de tejidos, se ha convertido en una línea de importantes ingresos en divisas a nivel mundial, superando a las plantas ornamentales o de apartamentos.<sup>1</sup> Sin embargo, el mercado cubano no cuenta con la producción necesaria para satisfacer la demanda que existe.

El *Dianthus barbatus* se cultivó en Cuba en los años 1967 a 1968, de forma muy reducida por sus bajos rendimientos, aunque se conoce que resulta más resistente al *Fusarium* spp. Resulta por excelencia una planta jardinería. Este cultivo se caracteriza porque su espiga floral puede medir desde 10 hasta 60 cm de altura.<sup>2</sup>

Se cuenta con una metodología que va desde la producción *in vitro* de esta especie<sup>3</sup> a escala de laboratorio hasta su floración en condiciones naturales.

Los objetivos de este trabajo consistieron en validar en condiciones de producción la tecnología de micropropagación establecida para esta especie; establecer las condiciones más adecuadas para la adaptación de las vitroplántulas a las condiciones ambientales; completar un ciclo de producción de flores a partir de vitroplántulas que permitiera establecer indicadores para la evaluación de las flores, estudiar las posibles variaciones somacloniales producidas por el cultivo *in vitro*, así como la forma de eliminarlas. Comprobar además, la posibilidad de extender el ciclo de siembra de posturas y cosecha de flores a la época de verano.

## MATERIALES Y METODOS

### Material vegetal

Se utilizaron dos variedades comerciales (GT y ST) del clavel japonés (*Dianthus barbatus*), las cuales fueron establecidas *in vitro* según metodología propuesta.<sup>3</sup>

Las plantas obtenidas en la fase de establecimiento se propagaron hasta P2. A partir de ese momento, se estableció

**ABSTRACT.** A tissue culture technique was established for mass propagation of plantlets sbetter achieved in a mixture of equal parts of red ferralitic soil and mud. Plastic multipot-trays of (4X4) cm post produced the best plant-root relation. Flower quality and yield were better during winter although harvest can be extended under tunel conditions. All conditions gave a 100 % flowering of plants. The flowers had good resistance to the environmental conditions during seven days.

un banco de propágulos en medio de propagación (GP) sólido, el cual se cambió cada 45 a 60d, con cinco plantas por pomo y esquejes de dos yemas. La micropropagación se realizó con yemas apicales y laterales simultáneamente. Las plantas producidas correspondieron a propagaciones entre P3 y P7. En el medio de enraizamiento (RG) sólido, se plantaron ocho esquejes de dos yemas cada uno. El enraizamiento se evaluó a los 21 d por la calidad y homogeneidad de la formación de raíces de las vitroplántulas en cada lote antes de ser transplantado a las condiciones de bandejas.

### Etapa de adaptación

Para la optimización de la fase de adaptación de esta especie, se probaron mezclas 50:50 de diferentes tipos de sustratos: suelo ferralítico rojo y cachaza, suelo ferralítico rojo y turba y suelo ferralítico rojo y guano de murciélagos.

Con la mejor variante de sustrato, se probaron dos tipos de bandejas: plásticas de 66 alvéolos de 4 cm de diámetro y 4 cm de profundidad y de poliespumas de 294 alvéolos de 2,5 cm de diámetro y 4 cm de profundidad. Para los estudios en condiciones de producción, las vitroplántulas fueron sembradas en bandejas plásticas de 66 alvéolos de 4 cm de diámetro y 4 cm de profundidad. Como sustrato se utilizó una mezcla 50:50 de suelo ferralítico rojo y cachaza. Cada bandeja se consideró como una repetición y en cada una se realizaron las mediciones de toda la población.

Para garantizar la sobrevivencia de las vitroplantas se disminuyó en un 30% la intensidad luminosa durante los siete días después del transplante con ayuda de un zarán.

### Control de la variación somaclonal

Durante las diferentes fases de propagación, enraizamiento, adaptación y producción, se chequeó visualmente la aparición de cambios morfológicos visibles en las plantas o en la floración.

## Etapa de producción

Un primer experimento, se realizó en la época de enero a mayo en la que se plantaron 1 500 posturas de dos variedades (GT y ST) de esta especie en condiciones de producción en canaletas, con una mezcla de sustrato de suelo ferrálico rojo y cachaza (50:50) y en suelo ferrálico rojo, bajo zarán. Se sembraron 414 vitroplántulas de las dos variedades según la agrotecnia establecida para el género.<sup>2</sup>

### Siembra fuera de época

Para estudiar la posibilidad de extender la época de siembra, se realizó un segundo experimento en tres condiciones ambientales: bajo túneles de *nylon*, ajoz arán ya id cubierto (control). En esta ocasión, se plantaron vitroplántulas de dos variedades con diferentes tiempos de floración: ST (40 a 60d) y GT (60a 75 d) después del transplante a las condiciones de producción.

Se realizaron dos siembras una en mayo y la otra en junio, con 120 posturas por ambiente o condición de cultivo de cada variedad, sobre un diseño de bloque al azar con tres repeticiones de 40 individuos cada uno. Como medida de la estabilidad fenotípica y calidad de las flores obtenidas se evaluaron los índices siguientes: altura del vástago floral, el diámetro y el número de flores de la inflorescencia, así como su duración después de cortada.

### Tratamiento estadístico

Después de la comprobación de la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianzas,<sup>4</sup> éstos se procesaron mediante análisis de varianzas con arreglo factorial según el caso.<sup>5</sup> Las medias se compararon mediante la prueba de Newmann-Keuls. Estos análisis se llevaron a cabo con el paquete STATISTICF, versión 4.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Etapa de cultivo *in vitro*

En la micropropagación a nivel de producción, se logró un coeficiente de 13, es decir, por cada planta madre se obtuvieron 13 explantes en un mes. A escala de laboratorio se había reportado para la especie un coeficiente de propagación de 15, lo cual muestra que es un resultado estable al ser escalado a niveles de producción.

Para la fase de enraizamiento resulta decisivo la homogeneidad del explante para lograr simultáneamente el enraizamiento y crecimiento de todas las plantas. El porcentaje de enraizamiento en las vitroplantas producidas fue del 97,4%.

### Etapa de adaptación

La metodología más adecuada para la adaptación de las vitroplántulas a las condiciones ambientales consistió en utilizar como sustrato una mezcla 50:50 de suelo ferrálico rojo: cachaza (Tabla I). Resultados similares se obtuvieron con la mezcla de suelo con turba, pero este material es importado, por lo que encarece el costo de producción de la vitroplántula. Por esa razón, se propuso la utilización de cachaza curada por más de un año, la cual constituye un subproducto de la industria azucarera.

Las bandejas plásticas de alvéolos de 4 cm de diámetro y 4 cm de profundidad resultaron las mejores condiciones al obtenerse con ellas una sobrevida de las posturas del 93% (Tabla II). El diámetro del alvéolo resulta un factor crítico en la formación de la raíz y en el éxito en la siembra manual del operario.

**TABLA I**

**Sobrevida de la vitroplántulas en los diferentes tipos de sustratos**

Mezclas (50:50)	Sobrevida (%)
Suelo-cachaza	93
Suelo-turba	92
Suelo-guano	76

**TABLA II**

**Sobrevida de la vitroplántulas en los diferentes tipos de bandejas**

Bandejas	Sobrevida (%)
Plástica	93
Poliespuma	88

El trasplante de las posturas a la producción fue factible de realizar con la tecnología de los cepellones con más de un 98% de sobrevida. La mortalidad en esta fase estuvo asociada a la calidad de la planta, no a la formación del cepellón

### Control de la variación somaclonal

Las variaciones somaclonales detectadas visualmente en las siete propagaciones efectuadas fueron tallos planos, multiyemas apicales y plantas con bandas blancas en las hojas (Tabla III). Sin embargo, la frecuencia de aparición de estas fue despreciable, generalmente se acepta para estas tecnologías porcentajes de variación inferiores al 1%, establecidos en poblaciones superiores a las mil plantas micropropagadas.<sup>3</sup> Estas variaciones, por su naturaleza, resultan fáciles de eliminar en la manipulación, tanto en el flujo laminar como en las condiciones de adaptación o producción. En ningún caso se observó alteración en la calidad de la flor por este concepto.

**TABLA III**  
**Variaciones somaclonales observadas**

Tipo de variación	(%)
Tallo plano	0,05
Multiyemas apicales	0,04
Bandas blancas en las hojas	0,06

### Etapa de producción

Para las condiciones de cultivo en canaletas y canteos con zarán, en la época de enero a abril, la variedad ST presentó un comportamiento superior a la GT. Esta última, se caracterizó por presentar una altura del vástago floral menor, pero un mayor diámetro de la inflorescencia.

El tiempo de floración resultó más largo en las canaletas (que están al descubierto) y la altura del vástago floral favoreció a las plantas cultivadas en zarán, el cual disminuye en un 30% la intensidad de la luz natural (Tablas IV y V). Inicialmente, esto favorece el cultivo en condiciones tapadas porque las plantas experimentan un alargamiento provocado por la falta de luz y florecen también más rápido. La variedad GT cosechada en junio presentó los mejores resultados para el diámetro de la inflorescencia.

**TABLA IV**  
**Etapa de producción en época. Producción en canaletas**

Variedades	Tiempo de floración (d)	Altura del vástago (cm)	Diámetro de la inflorescencia (cm)	Cantidad de flores
ST	50,0 ± 10,0	50 ± 5	12,5 ± 2,5	16,0 ± 3,0
GT	67,5 ± 7,5	40 ± 5	17,5 ± 2,5	20,5 ± 1,5

**TABLA V**  
**Etapa de producción en época. Producción en suelo bajo zarán**

Variedades	Tiempo de floración (d)	Altura del vástago (cm)	Diámetro de la inflorescencia (cm)	Cantidad de flores
ST	45,0 ± 10,0	55,0 ± 5,0	12,0 ± 2,0	15,5 ± 1,5
GT	61,5 ± 8,5	42,5 ± 2,5	18,5 ± 2,5	20,0 ± 1,0

Resulta un elemento importante a favor del cultivo en canaleta, la presencia de un mayor rendimiento en docenas, lo cual se le atribuye a la calidad del sustrato o también pudiera desempeñar un papel en esta época una cierta reducción de la iluminación natural que produzca un alargamiento del vástago floral. Resultaría interesante cultivar las plantas en canaletas y taparlas con un zarán apropiado para buscar los dos efectos simultáneos.

En las siembras de mayo a julio (fuera de la época óptima del cultivo) se pudo observar que la altura del vástago floral presentó interacción *mes por las condiciones de cultivo* (Tabla VI). Para las dos variedades estudiadas y los dos me-

ses tanto para la altura del vástago floral, el diámetro de la inflorescencia y la cantidad de flores por inflorescencia, las condiciones de cultivo en túneles fueron las de mejores resultados. Aquí se hizo evidente también, el efecto de la luz difusa que actúa en el alargamiento de la planta.

Para el diámetro de la inflorescencia y la cantidad de flores, en los dos meses estudiados se encontraron diferencias significativas entre los dos genotipos. El más destacado resultó el GT en los tres ambientes estudiados. Las plantas cultivadas en los túneles presentaron los mejores resultados en relación con las cultivadas en zarán y al descubierto (Tablas VII y VIII).

**TABLA VI**  
**Experimento de extensión del ciclo de siembra**

Variedad	Evaluación de la altura del vástago floral (cm)					
	Cosecha de junio			Cosecha de julio		
	Túnel	Zarán	Descubierta	Túnel	Zarán	Descubierta
ST	47,9 a	25,9 e	25,8 e	41,4 b	41,1 b	32,4 d
GT	35,8 c	32,8 d	27,3 e	36,9 c	29,2 e	27,3 e

MG 33,6; DE 4,9; CV (%) 14,6.

Letras distintas muestran las diferencias entre los promedios para  $p < 0,001$ .

En esta época, el cultivo en condiciones naturales se hace irrentable por la pérdida de las plantas debido a las altas precipitaciones y la incidencia directa de la luz solar. Por esa razón, para estos meses los rendimientos en las condiciones de zarán o de intemperie resultaron inferiores a los mínimos reportados para la especie. Sin embargo, en las condiciones de los túneles, la cosecha estuvo entre los intervalos establecidos.<sup>2</sup>

#### **Calidad de las flores**

En todas las experiencias se logró el 100 % de floración en las plantas cultivadas. Las flores obtenidas fueron ofer-

tadas en el mercado en dos grupos, una de primera calidad correspondiente a las tres primeras floraciones de la planta y otra de segunda que abarcó desde las de la 4ta a la 6ta floración.

Las flores presentaron buena resistencia a las condiciones de exposición y mantuvieron verdes sus tallos y el color de sus pétalos por espacio de unos 7 d. Resultaron cómodas de manipular por el florista y constituyeron un componente de color atractivo para adornos pequeños y de baja estatura e incluso para elaborar pequeños detalles como componente floral único.

**TABLA VII**  
**Experimento de extensión del ciclo de siembra**

Mes	Evaluación del diámetro de la inflorescencia (cm)						
	Interacción						
	Mes x condición			Genotipo	Condición x genotipo		
	Túnel	Zarán	Descubierta		Túnel	Zarán	Descubierta
Junio	13,5 a	8,4 d	8,3 d	ST	11,3 b	8,4 d	7,5 e
Julio	11,7 b	9,2 c	7,8 d	GT	13,7 a	9,1 c	8,6 cd

MG 9,8; DE 1,6; CV (%) 16,6.

Letras distintas muestran las diferencias entre los promedios para  $p < 0,001$ .

**TABLA VIII**  
**Experimento de extensión del ciclo de siembra**

Mes	Evaluación de la cantidad de flores por inflorescencia						
	Interacción						
	Mes x condición			Genotipo	Condición x genotipo		
	Túnel	Zarán	Descubierta		Túnel	Zarán	Descubierta
Junio	18,1 a	9,5 c	13,2 b	ST	12,2 b	8,3 d	9,9 c
Julio	19,6 c	8,3 cd	7,6 d	GT	15,4 a	9,6 c	10,9 c

MG 11,1; DE 3,3; CV (%) 30,1.

Letras distintas muestran las diferencias entre los promedios para  $p < 0,001$ .

La producción de esta especie constituye una alternativa económica más para el país por sus bondades agrícolas, tales como un menor daño por el *Fusarium* y un porte erecto de la espiga floral. En la actualidad, la producción de flores en Cuba es muy reducida y de una calidad inferior a la del mercado mundial. La importación de flores cortadas, fundamentalmente de Ecuador y Colombia, representa un peligro potencial de introducción en el país de plagas y enfermedades, por lo cual, además de su precio, se le adicionan a estas operaciones, rigurosas medidas de conservación y cuarentena.

**Tabla IX**  
**Rendimientos estimados en las diferentes épocas y condiciones de siembra**

Epoca de siembra	Condiciones	Rendimientos (docenas / ha)
Enero-abril	Canaletas	45 300
Enero-abril	Zarán	41 200
Mayo-julio	Nylon	38 500

## CONCLUSIONES

Se cuenta con una biotecnología para la producción vitroplántulas de clavel japonés, con un coeficiente de propagación mensual de 13.

Las variaciones somacloniales detectadas fueron tallos planos, multiyemas apicales y plantas con bandas blancas en las hojas, sin embargo, la frecuencia de aparición es despreciable. En ningún caso, se observó disminución en la calidad de la flor por este concepto. El mejor sustrato para la adaptación a las condiciones ambientales de las vitroplántulas resultó la mezcla 50:50 de suelo ferralítico rojo y cachaza. La bandeja de mejores resultados en la formación de los cepelones resultó la plástica de alvéolos de 4 cm de diámetro y 4 cm de profundidad.

Las condiciones de cultivo en canaletas resultó la de mejores resultados en relación con la calidad de la flor y los rendimientos. La época de cosecha se puede extender con buenos resultados si se realizan los cultivos en condiciones de túneles.

## BIBLIOGRAFIA

1. Debergh P., Roggeman J. and Standaert de Metsanaere R. Tissue culture in relation to ornamental plants in Plant Tissue Culture: in Applications and Limitations. Edited by S.S. Bhojwain, Elsevier, Amsterdam, 171-193, 1990.
2. Alvarez M. Floricultura. Editorial Pueblo y Educación, 167, 1976.
3. Korneva S.B., Maribona R.H., Soto A., Simón M. y Oliva O. Memorias XII Seminario Científico, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Revista CENIC, 26, Número Especial, 27, 1995.
4. Kolmogorov H. and Smirnov A. Ann. Math. Statist., 12, 461, 1941.
5. Sicheeffe H. Analysis of variance, Wiley, New York, 1959.