

# Aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) “violeta africana” a condiciones de invernadero

## Acclimation of *in vitro* seedlings of *Saintpaulia ionantha* H.Wendl. (Gesneriaceae) “African violet” to greenhouse conditions

**Armando Efraín Gil Rivero, Segundo Eloy López Medina & Angélica López Zavaleta**

Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Avenida Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ.

a.gr108@hotmail.com

sellome88@gmail.com

angylz@outlook.es



## Resumen

Las "violetas africanas" *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) son plantas ornamentales muy valoradas en el mundo por su belleza y capacidad de dar flores durante todo el año. Esto ha conllevado a que su demanda sea mayor, pues es idónea para decorar espacios interiores del hogar. Por ello, su cultivo con fines comerciales ha aumentado, siendo la propagación *in vitro* y su posterior aclimatación una buena alternativa de emprendimiento en floricultura. Sin embargo, ante escasa información referida a la aclimatación *ex vitro* de *S. ionantha*, se propuso como objetivo estandarizar un protocolo de aclimatación. Para ello, se seleccionaron plántulas *in vitro* del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, las cuales fueron transportadas al invernadero para su siembra, empleándose diferentes sustratos, constituidos por: T1 = arena + musgo + humus; T2 = arena + musgo; T3= arena + humus y T4 = arena. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas, siendo el tratamiento T1 el que evidenció un buen porcentaje de plantas aclimatadas, el mayor porcentaje de plantas enraizadas, el mayor número promedio de hojas, el mayor número promedio de raíces normales, y la mayor longitud y ancho promedio de hoja. Se concluye que el sustrato constituido por arena + musgo + humus es el más óptimo para la aclimatación *ex vitro* de *S. ionantha*.

**Palabras clave:** aclimatación, plántulas, *in vitro*, *Saintpaulia*, "violeta africana".

## Abstract

"African violets" *Saintpaulia ionantha* H.Wendl. (Gesneriaceae) are ornamental plants very valued in the world for their beauty and ability to give flowers throughout the year. This has brought an increase in their demand, as they are suitable for decorating interior spaces at home. That is the reason because their cultivation for commercial purposes has increased, and the propagation *in vitro* and its subsequent acclimation is a good alternative of entrepreneurship in floriculture. However, the scarce information of *ex vitro* acclimation of *S. ionantha* leads us to propose a standard acclimation protocol. For this purpose, we selected *in vitro* seedlings from the Biotechnology Laboratory of the Potato and Andean Crops Institute. They were transported to greenhouse for planting using different substrates consisting of: T1 = sand + moss + humus; T2 = sand + moss; T3 = sand + humus and T4 = sand. Statistically significant differences were found, with treatment T1 showing a good percentage of acclimated plants, the biggest percentage of rooted plants, the biggest average number of leaves, the biggest average number of normal roots and the biggest average leaf length and width. It was concluded that the substrate constituted by sand + moss + humus is the most optimal for *ex vitro* acclimation of *S. ionantha*.

**Keywords:** acclimation, seedlings, *in vitro*, *Saintpaulia*; "african violet".

## Introducción

La "violeta africana" *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. pertenece a la familia Gesneriaceae, es una planta ornamental muy popular en todo el mundo. Pues posee características particulares que le confieren un atractivo especial, además de tener capacidad para prosperar bajo condiciones comúnmente encontradas en la mayoría de los hogares (Terenti & Verdes, 2013; Alabama A & M University & Auburn University, 2004).

Esta especie es muy comercializada como planta decorativa, pues existen muchas variedades, con diferentes tipos y colores de flores (McCaleb, 2011; Doubrava & Polomski, 2015). Por ello, es que existen diferentes formas de propagación de *S. ionantha*. Una vía de propagación es a través de la técnica de cultivo de tejidos vegetales, la cual consiste en sembrar un explante con potencialidad de diferenciación bajo condiciones asépticas en presencia de nutrientes y hormonas, tales como: BA,

KN, 2,4-D, NAA, BAP y TDZ (Ábdelnour & Vincent, 1994; Sunpui & Kanchanapoom, 2002; Khan *et al.*, 2007).

Durante la transición de *in vitro* a *ex vitro* se presentan los problemas más serios, ya que es donde ocurren las mayores pérdidas. La aclimatación de plantas provenientes de cultivo de tejidos vegetales es una etapa muy importante, considerada como la fase crítica. Ya que las plantas no pueden tolerar el cambio de las condiciones ambientales del tubo de ensayo a las de invernadero o vivero, donde no se presentan las condiciones adecuadas, como: un ambiente estéril, elevada humedad relativa y un medio rico en nutrientes (Sandoval *et al.*, 1991; García *et al.*, 2004). Es fundamental que las plántulas *in vitro* sean de buena calidad, porque de ello depende el porcentaje de supervivencia *ex vitro*. Para esto, se deben seleccionar las plántulas que presenten un buen desarrollo (Sánchez *et al.*, 2012). Según Hartmann & Kester (1995), durante la aclimatación son esenciales varias condiciones ambientales. Una de ellas es mantener la humedad relativa durante 2 a 3 semanas para proteger la planta de la desecación y permitir el crecimiento de raíces y brotes. Otro es el sustrato utilizado, el cual debe ser estéril y bien drenando, para que permita que las raíces se desarrollen con rapidez. Otro requerimiento es la protección contra diversos organismos patógenos empleando fungicidas preventivos, hasta que la planta logre resistencia. Todo ello implica que las plantas deben adaptarse, de una condición heterótrofa (en donde la fuente de carbono es agregada al medio de cultivo), a una nutrición autótrofa. El fracaso en la aclimatación se debe a que las plántulas mueren por pérdida excesiva de agua o por el ataque de microorganismos. La capacidad de obtener plantas aptas va en relación al manejo que se le brinde

durante su periodo de adaptación, ello implica una larga fase de adaptación en invernadero con cuidados especiales como: Riego por neblina, iluminación y control de temperatura. Por lo tanto, es de gran importancia desarrollar protocolos de aclimatación, con la finalidad de obtener un alto porcentaje de supervivencia a un bajo costo, pues una aclimatación por encima del 80% es considerada como aceptable (Sandoval *et al.*, 1991; García *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2012). Por ello, ante la escasa información referida a la aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) "violeta africana", se propuso alcanzar su aclimatación a invernadero empleando diferentes combinaciones de sustratos.

### Material y métodos

El presente trabajo, se realizó en el invernadero de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, donde se acondicionó un área de aclimatación provista de un techo de plástico azul para evitar la incidencia directa de la radiación solar. En lo que respecta a los sustratos tanto el musgo como el humus, previo a la siembra fueron esterilizados en horno a una temperatura superior a los 105 °C por 2 horas. Mientras que la arena fue tratada bajo solarización por 1 semana, previa desinfección con legía al 2%. Por otro lado, el material vegetal (plántulas *in vitro* de *S. ionantha*), procedieron del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, las cuales fueron trasladadas al invernadero, donde se eliminó el medio de cultivo, lavando las plántulas con abundante agua de caño, hasta que quedaron completamente limpias. Luego, fueron sumergidas en una solución de Benlate a 1g por litro, durante

5 minutos. Posteriormente, las plántulas de *S. ionantha* fueron sembradas en vasos de tecnopor de 10 onzas, los cuales contenían diferentes sustratos, según los tratamientos indicados: T1 = Arena + musgo + humus; T2 = arena + musgo; T3= arena + humus y T4 = arena. Con la finalidad de proporcionar una cámara húmeda, se colocó una bolsa de polipropileno en cada vaso, sujetándose con una liga (Fig. 1). El riego se efectuó 2 veces

por semana. Según la metodología descrita por Figueroa *et al.* (2003), a los 5 días de la siembra se realizó el 1er corte del extremo izquierdo de la bolsa, a los 12 días se realizó el 2do corte, del extremo derecho y a los 20 días el corte total de la base de la bolsa plástica. A los 30 días después de la siembra se procedió a retirar totalmente la bolsa, considerándose plántula aclimatada.



**Fig. 1.** Plántula *in vitro* de *S. ionantha* en cámara húmeda, mediante la colocación de una bolsa de polipropileno sobre la boca de cada vaso.

A los 60 días de haber sido sembradas, las plantas fueron evaluadas, tomándose como parámetros de evaluación, los caracteres: % de plantas aclimatadas, % de plantas enraizadas, n° promedio de hojas, n° promedio de raíces normales, n° promedio de raíces necrosadas, longitud promedio de hoja mayor y ancho promedio de hoja mayor. El diseño estadístico fue completamente al azar, los datos obtenidos, fueron sometidos a Análisis de Varianza (ANOVA) y Tukey.

Las muestras de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. se encuentra depositadas en el Herbarium Truxillense (HUT), con el número de registro 58871.

## Resultados y discusión

En lo referente al porcentaje de plántulas

de *S. ionantha* aclimatadas (Tabla 1), se obtuvieron resultados favorables en los diferentes tratamientos. 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) (Osuna & Saucedo, 2010). Esto se debe a que se emplearon sustratos estériles por autoclavado o solarización, evitándose la interferencia de enfermedades fungosas. Por otro lado, el proporcionar una cámara húmeda (Fig. 1) empleando bolsas de polipropileno, se evita la pérdida brusca de agua por evapotranspiración. Los cortes realizados a la bolsa, es indicador de que poco a poco se va reduciendo la humedad relativa, pues existe una notable variación entre la humedad relativa dentro de la bolsa y la

humedad relativa ambiental. Por otro lado, estudios indican que resultados positivos se obtienen también, cubriendo la maseta con un frasco de vidrio transparente (Panicker *et al.*, 2009; Thomas, 1998; Osuna & Saucedo, 2010; Figueroa *et al.*, 2003). La razón de mantener una alta humedad relativa se debe a que las plantas que crecen en condiciones *in vitro* presentan una cutícula delgada y una baja densidad estomática, lo cual las hace susceptibles a la deshidratación. Recientes investigaciones corroboran esta información, al afirmar que las hojas de las plántulas *in vitro* de *S. ionantha*, evidencian células del parénquima cortical y esponjoso, más grandes y menos compactas que de las hojas de *S. ionantha* cultivadas en condiciones naturales (Sandoval *et al.*, 1991; Petrus & Sipos, 2010).

La vigorosidad de una vitrolanta aclimatada va en relación al sustrato empleado, lo cual se ve reflejado en el desarrollo radical, el cual se ve expresado en la presencia de raíces normales y en el porcentaje de plantas enraizadas (Domínguez & Donayre, 2006). Lo cual fue observado en el tratamiento T1 (arena+ humus + musgo) y T2 (arena+ musgo) de *S. ionantha* (Tabla 1, Figs. 2 y 3). Investigadores coinciden en afirmar que *S. ionantha* tienen raíces finas, por lo tanto, requieren un sustrato bien aireado y drenado, con capacidad de retención de agua y que sea rico en materia orgánica para su mejor adaptación y desarrollo (Alabama A & M University & Auburn University, 2004). Por otro lado, investigaciones confirman que la adición de cierta cantidad de humus, como materia orgánica en la aclimatación de plántulas, favorece al desarrollo radical en número y longitud (Díaz *et al.*, 2004). Reportes afirman que un enraizamiento favorable de *S. ionantha*, se obtiene

también empleando como sustrato: turba, vermiculita (Park, 1991; Chen & Henny, 2009; Sunpui & Kanchanapoom, 2002).

Las "violetas africanas" del tratamiento T4 (arena), presenciaron un menor desarrollo radical (Tabla 1 y Fig. 2), debido a que la mayoría estaban necrosadas. Esto se debe a que la arena como sustrato no aporta nutrientes y no tiene capacidad amortiguadora, además de tener una baja retención de agua, favoreciendo la necrosis radical. Por ello, investigaciones recomiendan mezclar este sustrato con compuestos orgánicos a cierta proporción. Por otro lado, las plantas de *S. ionantha*, provenientes del tratamiento T3, constituido por arena+ humus, evidenciaron necrosis. Esto se debe a que el exceso de humus, trae consigo problemas de fijación iónica debido a la presencia de arcillas que brindan propiedades coloidales que favorece a la compactación del sustrato y priva a las raíces de oxígeno (Alabama A & M University & Auburn University, 2004; FAO, 2012; Calderón & Cevallos, 2001). Siendo necesario considerar que demasiada agua hace que *S. ionantha* sea susceptibles a la pudrición de la raíz, mientras que la carencia de agua limita el crecimiento y posterior floración (Ross, 2001; Iowa State University, 2006).

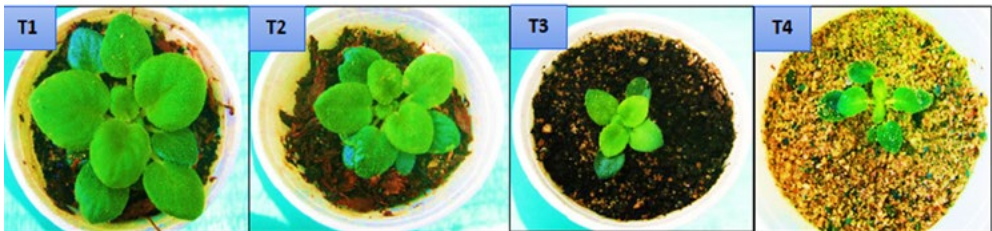
En lo que respecta al desarrollo foliar, los tratamientos T1 (arena + humus + musgo) y T2 (arena+ musgo) presenciaron un mayor promedio de hojas por planta, así como los valores más altos en longitud y ancho promedio de hoja mayor (Tabla 1 y Fig. 3). Investigaciones que tuvieron como objetivo evaluar el contenido de clorofila, llegaron a la conclusión que la presencia de macro- y micronutrientes ante la presencia

**Tabla 1.** Resultados de los parámetros evaluados en la aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* "violeta africana" a condiciones de invernadero.

Tratamiento	Sustrato	% de plantas aclimatadas	% de plantas enraizadas	Nº promedio de hojas	Nº promedio de raíces normales	Nº promedio de raíces necrosadas	Longitud promedio de hoja mayor	Ancho promedio de hoja mayor
T4	Arena	100 %	95 %	7.95	2	5.15	0.98	0.8
T3	Arena + Humus	90 %	95 %	8.83	5.39	4.22	1.13	0.99
T2	Arena + Musgo	100 %	100 %	11.35	0.35	1.63	1.43	
T1	Arena + Musgo+ Humus	95 %	100 %	11.32	18.68	0	1.76	1.56



**Fig. 2.** Desarrollo radicular a los 60 días de la aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* "violeta africana" a condiciones de invernadero. Empleando los sustratos: T1: arena + musgo + humus; T2: arena + musgo; T3: arena + humus y T4: arena.



**Fig. 3.** Desarrollo foliar a los 60 días de la aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* "violeta africana" a condiciones de invernadero. Empleando los sustratos: T1: arena + musgo + humus; T2: arena + musgo; T3: arena + humus y T4: arena.

de un buen desarrollo radical, favorece la producción de hojas fotosintéticamente competentes, aumentando el contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales. Todo ello contribuirá a que se generen mejores atributos morfológicos en la planta (Latsague *et al.*, 2014; Monsalve *et al.*, 2009).

Los resultados del análisis de varianza para los diferentes parámetros evaluados: % de plantas aclimatadas, % de plantas enraizadas, n° promedio de hojas, n° promedio de raíces normales, n° promedio de raíces necrosadas, longitud promedio de hoja mayor y ancho promedio de hoja mayor. Nos indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, con un nivel de confianza de 95,0%. Esto corrobora la existencia de diferentes respuestas de aclimatación y adaptación de *S. ionantha* en diferentes sustratos. Por otro lado, los resultados de la prueba Tukey, nos permiten afirmar que el tratamiento 1 y 2 son los más óptimos para la aclimatación, enraizamiento y desarrollo foliar de *S. ionantha*, por lo tanto, son los tratamientos que se recomiendan utilizar para futuros experimentos.

### Conclusión

El sustrato constituido por arena, musgo y humus, es el más óptimo para la aclimatación de plántulas *in vitro* de *S. ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) "violeta africana" a condiciones de invernadero.

### Literatura citada

- Abdelnour, E. & E. Vincent. 1994. Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales. Edit. Bib. Orton IICA / CATIE: Costa Rica.
- Alabama A & M University & Auburn University. 2004. Greenhouse Production of African Violets. Disponible en: <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-1257/ANR-1257.pdf>
- Calderón, F. & F. Cevallos. 2001. Los sustratos. Disponible en: [http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Los\\_Sustratos.htm](http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Los_Sustratos.htm)
- Chen, J. & J. Henny. 2009. Cultural Guidelines for Commercial Production of African Violets (*Saintpaulia ionantha*). Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/ep360>
- Díaz, L.; L. Medina; J. Latife; P. Digonzelli & S. Sosa. 2004. Aclimatación de plantas micropropagadas de "caña de azúcar" utilizando el humus de lombriz. Rev. de Investigaciones Agropecuarias, 33 (2) : 115-128.
- Domínguez, G. & M. Donayre. 2006. Aclimatación de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Producida *in vitro*. Rev. Ecología Aplicada, 5(1): 67-74.
- Doubrava, N. & B. Polomski. 2015. African Violets. Clemson University Cooperative Extension Service. Disponible en: [https://www.clemson.edu/extension/hgic/plants/pdf/hgic15\\_50.pdf](https://www.clemson.edu/extension/hgic/plants/pdf/hgic15_50.pdf)
- FAO. 2002. El Cultivo Protegido en Clima Mediterráneo. Departamento de agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/S8630S/s8630s00.htm#Contents>
- Figuroa, C.; Norma, A.; C. Valdebenito & M. Beatriz. 2003. Preaclimatación *in vitro* de plantas de "violeta africana" (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) y su efecto sobre aclimatación. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (Chile). Área de Fruticultura. Disponible en: [http://ucv.altavoz.net/prontus\\_unidacad/site/artic/20061214/asocfile/20061214162241/figuroa\\_norma.pdf](http://ucv.altavoz.net/prontus_unidacad/site/artic/20061214/asocfile/20061214162241/figuroa_norma.pdf)
- García, M.; R. Quintero & A. López. 2004. Biotecnología alimentaria. Edit. LIMUSA S.A: México.
- Iowa State University. 2006. African Violets. Disponible en: <http://www.reimangardens.com/search/?cx=003074495176662961374%3Aaddpq9jw0d-vk&cof=FORID%3A11&ie=UTF-8&q=african+violet&sa=Search&sa=Search>
- Khan, S.; S. Naseeb & K. Ali. 2007. Callus induction, plant regeneration and acclimatization of African violet (*Saintpaulia ionantha*) using leaves as explants. Pakistan Journal of Botany, 39(4): 1263-1268.
- Latsague, M.; P. Sáez & M. Mora. 2014. Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook. f. Rev. Gayana Bot., 71 (1): 37:42.
- McCaleb, W. 2011. African Violets. Virginia Polytechnic Institute and State University. Disponible en: <https://>

pubs.ext.vt.edu/HORT/HORT-2/HORT-2.html

- Monsalve, J.; R. Escobar; A. Acevedo; M. Sánchez & R. Coopman.** 2009. Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus* producidas a raíz cubierta. *Rev. BOSQUE*, 30(2): 88-94.
- Osuna, P. & C. Saucedo.** 2010. Propagación *in vitro* de "vid" variedad Globo Rojo. Reportes técnicos de investigación. Universidad Autónoma de Ciudad de Juárez.
- Park, S.** 1991. African Violets. Environmental Horticulture Department of the University of Florida. Disponible en: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/MG/MG02800.pdf>
- Panicker, B.; P. Thomas & T. Janakiram.** 2009. Acclimatization and field evaluation of micropropagated plants of chrysanthemum cv.'Arka Swarna'. *Rev. J. Horti. Sci.*, 4 (1): 32-35.
- Petrus, A. & M. Sipos.** 2010. Anatomical structure of African violet (*S. ionantha* L.) *in vitro* –and *ex vitro*–plantlets. *Analele Universitatii din Oradea. Fascicula Biologie*, 17 (2): 219-224.
- Ross, J.** 2001. Basic Care for African violets. Disponible en: <http://avsa.org/sites/default/files/files/Basic%20Care%20for%20African%20violets.pdf>
- Sánchez, A.; D. Saavedra & H. Mauricio.** 2012. Acclimatación y endurecimiento de materiales de palma de aceite obtenidos mediante técnicas de cultivo de tejidos vegetales. *Rev. Palmas*, 33(4): 41-52.
- Sandoval, J.; G. Brenes & L. Pérez.** 1991. Micro propagación del "plátano" y "banano" (*Musa* AAB, AAA) en el CATIE. Edit. Bib. Orton IICA / CATIE: Costa Rica.
- Sunpui, W. & K. Kanchanapoom.** 2002. Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) cultured *in vitro*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 24(3): 357-364.
- Terenti, C. & P. Verdes.** 2013. Micropropagación de *Saintpaulia ionantha* H. Wendel var. Bangle Blue. *Rev. Huayllu-Bios*, 7: 25-38.
- Thomas, P.** 1998. Humid incubation period and plantlet age influence acclimatization and establishment of micropropagated grapes. *Rev. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 34 (1) : 52-56. doi:10.1007/BF02823123