



Biotecnología vegetal

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

Evaluación *in vitro* de la acción del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-d) y el thidiazuron (tdz) en la producción de callos embriogénicos en el plátano variedad dominico (AAB) fase I

Buitrago S, Hernández C, Rodríguez E, Vélez M. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Corporación para Investigaciones Biológicas –CIB-. cesaraugu@epm.net.co

Han sido múltiples las técnicas empleadas para la obtención de callo embriogénico en el plátano a partir de diferentes explantes, y en la mayoría de los casos, solo se ha logrado a partir de las inflorescencias. En todos los ensayos realizados en este estudio, se utilizaron como explantes las inflorescencias masculinas y el cormo de la variedad Dominico, los cuales fueron recolectados en el municipio de Andes, zona cafetera del Departamento de Antioquia. Se empleó un diseño estadístico de Test de Múltiple Rango. Los explantes se sembraron en el medio de cultivo MS (1962) con la adición de diferentes concentraciones de TDZ y una sola concentración de 2-4 D (4 mg/L). Ninguna de las concentraciones evaluadas de TDZ sin la presencia de 2-4 D, mostraron la obtención de callo embriogénico a partir de la inflorescencia masculina. Al utilizar una concentración de 1.5 mg/L de TDZ en ausencia de 2-4 D y el cormo como explante, se encontró el mayor porcentaje (40%) de formación de callo, mientras que con la combinación de 0.1 mg/L TDZ y 4 mg/L de 2-4 D se obtuvo el 20% de formación de callo tanto a partir del cormo como de la inflorescencia masculina. Igualmente se observó que al utilizar el cormo como explante y una concentración de 0 mg/L de TDZ y 4 mg/L de 2-4 D se encontró la mayor formación de callo equivalente al 80%. Otros resultados obtenidos a partir de las inflorescencias masculinas y los cormos, mostraron que factores como la luz y la temperatura del cuarto de crecimiento influyeron en su regeneración. Este trabajo se realizó con el propósito de evaluar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ y una sola concentración de 2,4-D, que permitieran obtener callos embriogénicos del plátano Dominico, útiles para la implementación de un sistema de propagación vía embriogénesis somática a partir de suspensiones celulares.

Absorción y distribución de la Cipermetrina en kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex chiov.) en cultivo hidropónico

Herrera MdellR, Márquez-Girón SM. Universidad de Antioquia, Grupo de investigación en gestión y modelación ambiental GAIA. rosa@agronica.udea.edu.co

En la mayoría de las lecherías especializadas de nuestra región, las praderas son monocultivos de Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Este pasto es muy exigente en fertilización química y orgánica. El manejo inadecuado de las pasturas (sobrefertilización) ha permitido un gran desarrollo de las poblaciones del chinche chupador de los pastos (*Collaria scenica*). Para el control de esta plaga se usan diferentes insecticidas entre ellos los piretroides cuyo principio activo

es la cipermetrina. El uso de los insecticidas es frecuente, lo cual genera una alta concentración del agroquímico en el pasto permitiendo una magnificación del xenobiótico en la cadena trófica. En este trabajo se determinará la tendencia de acumulación y depuración de la cipermetrina en los diferentes compartimentos del tejido vegetal, raíz y follaje del pasto kikuyo, bajo condiciones controladas de invernadero en cultivo hidropónico y con diferentes dosis de aplicación. La bioacumulación se estimará a través de cromatografía de gases, con el fin de determinar que cantidad de cipermetrina pasa al animal por consumo directo.

Caracterización de cepas de *Colletotrichum spp.* en clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) de origen asiático, centroamericano y suramericano ubicados en la subestación Paraguaicito, departamento del Quindío

Peláez J, Hernández C, Afanador L, Restrepo L. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Universidad Nacional, Sede Medellín, Universidad de Antioquia. cesaraugu@epm.net.co.

El hongo *Colletotrichum spp* se ha encontrado como agente causal de la antracnosis del caucho (*Hevea brasiliensis* Müll Arg.), afectando tallos, hojas y frutos tanto a nivel de jardín clonal y vivero como en plantación en producción. En estudios realizados con aislamientos del patógeno provenientes de distintos frutales como mango y tomate de árbol, se ha observado una alta variabilidad en sus características morfológicas, aspecto que al conocerse mejor, contribuye a entender la dinámica de la enfermedad, lo cual permite ejecutar y facilitar diferentes planes de control. Para la evaluación de los resultados se utilizó un diseño completamente aleatorizado, efecto fijo de índole balanceado y para comprobar el efecto promedio de los tratamientos, se utilizó la Prueba de comparación de Tukey al 5% de significancia. La primera fase de esta investigación incluyó la colecta de cepas de *Colletotrichum spp* a partir de hojas, tallos y frutos de árboles con presencia del patógeno provenientes de campo y jardín clonal de caucho ubicados en la subestación Paraguaicito, departamento del Quindío. Se realizaron cultivos monospóricos de cada una de las cepas, los cuales se utilizaron para estudios de identificación y caracterización bajo los siguientes criterios: morfología de las colonias, crecimiento en diferentes medios de cultivo, sensibilidad al benzimidazol y morfología de las conidias, obteniendo los siguientes resultados: el hongo *Colletotrichum spp* mostró un crecimiento más rápido en medio PDA a los 10 días de evaluación con una producción de micelio muy abundante. Igualmente se estableció que el medio de cultivo más apropiado para la producción de conidias fue el medio PDA acidificado con ácido láctico al 25%, con una cantidad promedio de 4.15×10^6 conidias/ml, creciendo a temperatura ambiente. Se evaluó la resistencia de las cepas obtenidas al benzimidazol, y se encontró que el hongo redujo su crecimiento comparado con el testigo, a dosis de benomyl entre 5 ug/ml a 500 ug/ml, En las infecciones realizadas con el patógeno sobre tallos y hojas

sanas utilizando una mezcla de todas las cepas aisladas a una concentración de 1.2×10^6 conidias/ml bajo condiciones de cámara húmeda, se presentaron lesiones causadas por la presencia del patógeno. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las cepas de *Colletotrichum spp* de caucho, en cuanto a sus características morfológicas y respuesta al fungicida, se ubican mas en la especie *C. acutatum* que *C. gloeosporioides*. Este trabajo se realizó con el propósito de contribuir al conocimiento sobre los diferentes aspectos del hongo en aislamientos de clones de caucho de origen asiático, suramericano y centroamericano.

Algunos efectos de la aplicación experimental de lorsban (Clorpirifos) en un cultivo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov.)

Márquez-Girón SM¹, Palacio-Baena JA², ¹Ingeniera Agrícola, Magister en Ingeniería Ambiental, ²Biologo, Dr Recursos Naturales, Grupo de investigación en gestión y modelación ambiental GAIA, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. saram@agronica.udea.edu.co

En la zona del norte de Antioquia las praderas de Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov.), ocupan el 80% del área en producción lechera. Este pasto se fertiliza con porquinaza favoreciendo la acumulación de nitritos y nitratos en el suelo y el aumento de algunas plagas como el insecto *Collaria scenica*. Para el control de esta plaga se utilizan diferentes insecticidas como los organofosforados. En el estudio se evaluó la presencia del insecticida Lorsban cuyo principio activo es el clorpirifos, después de aplicado en el cultivo de Kikuyo para esta determinación se utilizó un diseño de parcelas, aplicable a condiciones experimentales. Las parcelas principales corresponden a un grupo de bolsas plásticas con *P. clandestinum* sembrado en suelo extraído de los potreros de la finca. En cada parcela se establecieron los tratamientos con 200, 400, 800 y 1600 cm³ / Ha de Lorsban por una sola vez y el control. A las parcelas se les realizó el seguimiento días 7, 35 y 63 luego de la aplicación del producto, según cada tratamiento. La extracción de clorpirifos en muestras de suelo y follaje de *P. clandestinum* se determino mediante un cromatógrafo de gases. Se detectó la presencia de clorpirifos en el suelo y en el pasto, aún en el día 63 posterior a la aplicación.

Estudios preliminares en la estandarización de un protocolo para la obtención de callos embriogénicos en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis* MÜLL. ARG.) de diferentes orígenes geográficos

Cadavid S, Hernández C, Hoyos R, Medina M, Restrepo LF. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Universidad Nacional, Sede Medellín, Universidad de Antioquia. cesaraugu@epm.net.co

Se investigó la influencia de los reguladores de crecimiento para la obtención de callos friables en caucho (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg) sin llegar a obtenerse regeneración de plántulas. En todos los ensayos realizados en este estudio, se utilizaron dos clones de diferentes orígenes geográficos: el FX 3864 (suramericano) y el PB 254 (asiático). Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado, efectos fijos, balanceado, simétrico con un arreglo factorial 2³ y 2⁴ y la prueba de comparación por el método de Tukey al 5% de significancia con el propósito de comparar el efecto promedio de los distintos tratamientos sometidos a experimentación. Para los diferentes tratamientos se utilizaron como explantes hojas jóvenes e integumento de semillas de ocho a diez semanas de edad de ambos clones, los cuales se cultivaron inicialmente en los medios MH (Carrón, 1989), MH modificado (Montero 1993, 2000) y el MS modificado (Carrón et al., 1992), sin obtener ninguna respuesta a los 25 y a los 50 días. Sin embargo, se realizaron otros ensayos con el integumento

en el medio de cultivo MS (1962) modificado con la adición de 0.67 mg/L de BAP y 0.66 mg/L de 2-4 D, como medio para la iniciación de embriogénesis, observándose a los 25 días la formación de callos friables y de color blanco, en los dos clones seleccionados. Estos callos fueron subcultivados en medio MS (1962) suplementado con 0.35 mg/L de BAP y 0.2 mg/L de 2-4 D como medio de expresión de callogénesis, observando a los 50 días expresión embriogénica en ambos clones. Igualmente, se obtuvo callo friable de color blanco a partir de hojas jóvenes en los dos clones en medio de cultivo MS suplementado con 1.0 mg/L de BAP, 1.0 mg/L de ANA pero sin IBA y kinetina a los 25 días. Callos subcultivados en el mismo medio suplementado con 0.5 mg/L de BAP y 0.5 mg/L de ANA, presentaron una mejor consistencia de callo friable después de 50 días de cultivo. Este trabajo es un informe parcial de un macroproyecto sobre la optimización de un protocolo para la multiplicación de caucho (*H. brasiliensis*) via embriogénesis somática.

Efecto de mezclar leguminosas taníferas y gramíneas sobre la liberación de amonio en un sistema *in vitro*

Cortés JE¹, Tiemann T², Hess HD², Lascano CE³, Kreuzer M², Pabón ML^{1,4}, Carulla J¹ 1- Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia 2-Instituto de Investigaciones Tecnológicas de Zurich (ETHZ) 3-Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) 4-Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. jecarullaf@unal.edu.co

Simulando una dieta de campo, se incubó una gramínea (*Brachiaria dictyoneura* CIAT 6133) y se reemplazo el 33% por una mezcla de dos leguminosas, una con contenido de taninos condensados (TC) y otra sin TC. Esta mezcla se hizo en 4 proporciones: 3:0, 2:1, 1:2 y 0:3. Se utilizaron las leguminosas taníferas: *Calliandra calothyrsus* CIAT 22310, *C. calothyrsus* CIAT 22316 y *Flemingia macrophylla* CIAT 17403, adaptadas a suelos ácidos, y *Leucaena leucocephala* CIAT 734. Además se utilizó *Cratylia argentea* CIAT 18668, especie adaptada a suelos ácidos y sin TC. Las mezclas con la gramínea se incubaron en un sistema *in vitro* que contenía fluido ruminal y saliva artificial en una relación 1:4 para establecer la liberación de amonio a las 0, 6, 12, 24 y 48 horas de incubación. La liberación de amonio fue similar para los diferentes tratamientos hasta la hora 12. A partir de la hora 24 se observaron diferencias entre los tratamientos que fueron más evidentes a las 48 hr. La tasa de liberación de amonio fue significativamente menor ($p < 0.05$) para las dos variedades de *Calliandra* comparadas con variedades con niveles menores de taninos (*C. calothyrsus*, *F. macrophylla*, *L. leucocephala*) o variedades sin taninos (*C. argentea*). Se observaron diferencias significativas entre las diferentes especies taníferas y entre las diferentes relaciones ($p < 0.05$). El efecto de los taninos sobre la liberación de amonio dependió no solamente de su concentración en la leguminosa sino de la proporción de esta en la mezcla y su especie.

Efecto de la degradación biológica del hongo *Pleurotus sajor cajú* sobre el valor nutricional del aserrín para rumiantes

González L, Garulla J. Grupo de Investigación en Nutrición Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, imgonzalezp@unal.edu.co, jecarullaf@unal.edu.co

Se determinó el efecto de la degradación del hongo *Pleurotus sajor cajú* (orellana) sobre los componentes de la pared celular y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVAS) de un sustrato basado en aserrín de *Cannosperma panamensis* o «sajo». Se evaluaron 2 tratamientos: un sustrato que incluía aserrín de sajo sin tratar (T1) y otro con inclusión de aserrín tratado con hidróxido de sodio (T2). El sustrato se desinfectó en autoclave, se inoculó con micelio del hongo y se incubó a temperatura media de 21 °C y oscuridad completa. Posteriormente, se estimuló el crecimiento de las setas aumentando

la luminosidad. En esta última fase, la temperatura media fue de 17 °C y la humedad relativa de 70%. El desarrollo del micelio fue más rápido para el tratamiento con soda. Por lo cual, la primera y segunda cosecha de las setas se lograron más rápidamente en el tratamiento dos (32 y 40d) que en el tratamiento uno (37 y 45 d). La eficiencia biológica del uso de la materia seca por parte del hongo fue mayor para el tratamiento con soda (11.4%) que para el control (3.4%). La DIVMS del sustrato sin incubar fue de 18,8 y 21.2% para el tratamiento 1 y 2, respectivamente. Al finalizar el ciclo productivo, la digestibilidad aumentó en un 53% y 14.3% para el tratamiento 1 y 2, respectivamente. Después del ciclo productivo, se incrementó la concentración de proteína cruda y cenizas en el sustrato y se observó una pérdida de materia seca, materia orgánica, celulosa y hemicelulosa para ambos tratamientos. Sin embargo, la tasa de degradación de estas fracciones fue mayor para el sustrato tratado. A pesar de un aumento en la DIVMS después del ciclo productivo, la baja digestibilidad y el aumento de las concentraciones de cenizas y lignina sugieren que este material tendrá un uso limitado para la alimentación de rumiantes.

Efecto de los taninos condensados de *Lofus pedunculatus* sobre la degradación de proteína de *Pennisetum clandestinum* en un sistema *in vitro*

Chipatecua MR¹, Cárdenas EA¹, Rabón ML², Garulla J¹. ¹Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, y ²Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. mrchipatecuaa@unal.edu.co, jecarulla@unal.edu.co

Los taninos han sido utilizados para disminuir la degradabilidad de la proteína en el rumen. Se realizaron 2 incubaciones *in vitro* con el objetivo de evaluar el efecto de los taninos presentes en *Lotus pedunculatus* var. makú, sobre la degradación de la PC y la MS del *Pennisetum clandestinum* (kikuyo). En la primera incubación se determinó la liberación de N-NH₃ (mg/dL) a las horas 6, 12, 24, 36 y 48. En la segunda, la digestibilidad de la MS se midió con y sin adición de pepsina. El tiempo de incubación con fluido ruminal y saliva artificial fue de 48 horas. Las muestras con pepsina se incubaron por 24 horas adicionales después de su adición. Los tratamientos fueron: kikuyo, lotus, 70:30 kikuyo-lotus, 50:50 kikuyo-lotus, esto dos últimos tratamientos con o sin adición de polietilenglicol (PEG) (inhibidor de la actividad de los taninos). Las concentraciones de

amonio fueron menores para el kikuyo solo en todos los tiempos de incubación. Hasta la hora 12, la tasa de liberación de amonio del lotus fue mayor y diferente ($p < 0.05$) de los demás tratamientos. Los tratamientos con PEG presentaron niveles de amonio superiores a los sin PEG ($p < 0.001$), indicando un efecto inhibitorio de los taninos sobre la degradación de la proteína. Los niveles de amonio fueron superiores en la medida que se aumentó la proporción de lotus en la mezcla ($p < 0.001$). La DIVMS del lotus fue menor que la del kikuyo ($p < 0.05$). Adicionalmente, los taninos y la inclusión de leguminosa al 50 % disminuyeron la degradabilidad de la MS ($p < 0.05$). La adición de lotus a dietas basadas en kikuyo no parece tener un beneficio sobre la disminución de las concentraciones de amonio en el rumen a pesar de su contenido de taninos debido a que sus concentraciones de proteína son muy superiores a las del kikuyo.

Comparación del método de Broderick con el método Naun para medir degradación ruminal *in vitro* de proteínas

Contreras C¹, Pabón ML^{1,2}, Carulla J². ¹Departamento de Química, Facultad de Ciencias, ²Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. mlpabonr@unal.edu.co.

Se determinó la producción de amonio *in vitro* resultante de la degradación de la torta de soya o la torta de algodón a diferentes tiempos de incubación por los métodos NAUN, Nutrición Animal Universidad Nacional. Se incubó torta de soya o torta de algodón y se utilizaron tiempos de incubación 8, 12 y 24 horas para el método NAUN y 4, 8 y 12 horas para el de Broderick. La producción de amonio para la torta soya fue mayor a la de torta de algodón en todos los tiempos de incubación independientemente del método. Sin embargo, las tasas de producción de amonio fueron mayores para el método NAUN (1.4 vs 0.57 mg/dL/h N-NH₃/h para la soya y 1.08 vs 0.41 mg/dL N-NH₃/h para la torta de algodón). Los dos métodos lograron diferenciar dos fuentes de proteína con diferentes patrones de degradación ruminal clasificándolas de manera similar. El sistema NAUN presenta mayores tasas de degradación debido a que no contiene inhibidores microbiales y por lo tanto, logra diferenciar en mayor medida las características de degradación ruminal de las fuentes de proteína, lo que lo hace un sistema más sensible. Aparentemente, la adición de inhibidores del uso de amonio en el sistema *in vitro* no es necesaria para evaluar recursos ricos en proteína.