

# EFECTO DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO EN LA MULTIPLICACIÓN *In Vitro* DE *Mentha piperita* Y *Mentha citrata*

Lianette Godoy<sup>✉</sup>, E. Héctor, B. Díaz, Annarella Chea y A. Torres

**ABSTRACT.** The *Mentha* genus includes several important species, which serve as raw material for industries like perfumery, cosmetics, distillery and pharmacy. In Cuba, up to date, the growing of mints does not represent a first line commercial item; however, mint extracts are some way important for their medicinal properties and use in manufacturing liquors. The objective of this work was to determine hormonal requirements for the *in vitro* multiplication of *Mentha citrata* and *Mentha piperita*, as a part of a rapid multiplication technology and the subsequent achievement of propagation material from species of this genus. Five treatments were assayed, based on Murashige and Skoog medium without growth regulators. The following variables were measured: number of internodes per shoot, number of shoots, and number of roots. There were not significant differences at the number of internodes per shoot for both species. Nevertheless, significant interactions were observed for the variables number of shoots and number of roots. The use of 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) provoked a significant increase for both variables in *Mentha piperita*. Shoots and roots in *Mentha citrata* were obtained independently of the hormonal combination assayed. It is recommended to continue using the Murashige and Skoog medium without growth regulators for the multiplication of *M. citrata*, and to employ the basal medium of Murashige and Skoog supplemented with 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) for the *in vitro* propagation of *M. piperita*.

**Key words:** *Mentha*, tissue culture, plant growth regulators

**RESUMEN.** El género *Mentha* agrupa una cierta cantidad de especies de gran importancia como materia prima en diferentes industrias como la perfumería, la cosmética, la licorería y la farmacéutica. En Cuba, el cultivo de las mentas no constituye hasta el momento un renglón comercial de primer orden; sin embargo, sus extractos tienen cierta importancia por sus propiedades medicinales y su utilización en la fabricación de licores. Este trabajo se propuso como objetivo determinar los requerimientos hormonales para la multiplicación *in vitro* de *Mentha citrata* y *Mentha piperita*, como parte de una tecnología para la multiplicación acelerada y la consiguiente obtención de material de propagación de especies de este género. Se ensayaron cinco tratamientos basados en diferentes concentraciones de ácido indolacético y 6-bencilaminopurina, utilizando como control el medio de Murashige y Skoog sin reguladores del crecimiento. Las variables evaluadas fueron: cantidad de entrenudos/brote, cantidad de brotes y cantidad de raíces. No se detectaron diferencias significativas en la variable cantidad de entrenudos/brote para las especies estudiadas. En cambio, se observaron interacciones significativas especie x tratamiento para las variables cantidad de brotes y cantidad de raíces. El empleo de 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) provocó un incremento significativo en ambas variables para *Mentha piperita*. La producción de brotes y raíces para *M. citrata* fue independiente de la combinación hormonal empleada. Se recomienda continuar utilizando el medio de Murashige y Skoog sin reguladores del crecimiento para la multiplicación *in vitro* de *Mentha citrata*, y emplear el medio basal de Murashige y Skoog suplementado con 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) para la multiplicación *in vitro* de *Mentha piperita*.

**Palabras clave:** *Mentha*, cultivo de tejidos, sustancias de crecimiento vegetal

## INTRODUCCIÓN

El género *Mentha* agrupa una cierta cantidad de especies de gran importancia como materia prima en diferentes industrias. A partir de los aceites esenciales que de estas especies se obtienen, se fabrica toda una gama

de productos de perfumería, cosmética, licorería y farmacéutica. Las mentas se cultivan, por lo general, en zonas de clima templado con noches relativamente frías, como algunas regiones con características desérticas de Estados Unidos, Australia y México, entre otros (1).

En Cuba, el cultivo de las mentas no constituye hasta el momento un renglón comercial de primer orden; sin embargo, sus extractos tienen cierta importancia por sus propiedades medicinales y su utilización en la fabricación de licores.

Ms.C. Lianette Godoy y B. Díaz, Profesores Instructores, Dr. C. E. Héctor, Profesor Auxiliar, Annarella Chea, Estudiante de Agronomía y Dr.C. A. Torres, Profesor Titular del Grupo de Biotecnología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad Agraria de La Habana, Gaveta Postal 18-19, San José de las Lajas, La Habana, CP32700, Cuba.

✉ efidel@isch.edu.cu

La propagación de estas especies en nuestro país se realiza de forma tradicional, empleando para ello estacas; este método tiene como desventajas su lentitud y el hecho de que, al igual que en otras especies que se multiplican de forma vegetativa, se emplea como material de propagación una parte cosechable de la planta. Sin embargo, el cultivo de tejidos ha demostrado su utilidad en la solución de ambos problemas en numerosas especies, entre ellas las mentas (2,3).

La mayoría de las tecnologías actuales de propagación *in vitro* utilizan como base las sales de Murashige y Skoog (4) y diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento, propias de la especie objeto de investigación. Este trabajo se propuso como objetivo determinar los requerimientos hormonales para la multiplicación *in vitro* de *Mentha citrata* y *Mentha piperita*, como parte de una tecnología para la multiplicación acelerada y la consiguiente obtención de material de propagación de especies de este género.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Agraria de La Habana. Como explantes se utilizaron segmentos nodales de *Mentha citrata* y *Mentha piperita*, los que se desinfectaron y posteriormente se implantaron (3). Los explantes, una vez establecidos, se subcultivaron tres veces en el medio de Murashige y Skoog (4) sin reguladores de crecimiento.

El estudio de la influencia de los reguladores del crecimiento se desarrolló en el cuarto subcultivo, para lo cual se emplearon 10 plantas de cada especie por cada tratamiento. Los tratamientos (Tabla I) consistieron en diferentes combinaciones de ácido indolacético (AIA) y 6-bencilaminopurina (6-BAP), utilizando como medio basal el de Murashige y Skoog (4).

**Tabla I. Combinaciones de reguladores de crecimiento empleadas en la multiplicación de *Mentha piperita* y *Mentha citrata***

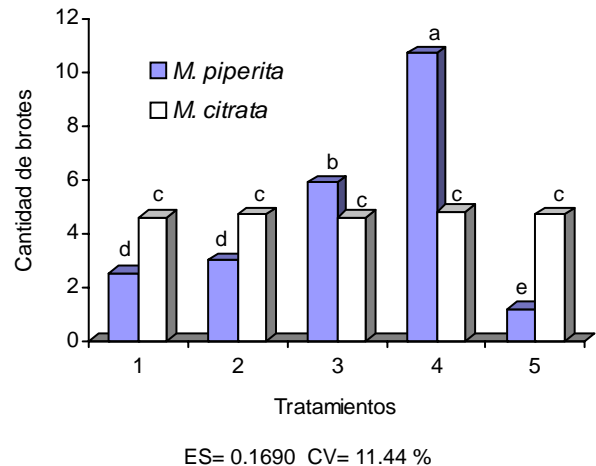
Tratamiento	6-BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	AIA (mg.L <sup>-1</sup> )
1	0.5	0.0
2	0.5	0.5
3	1.0	0.5
4	1.0	0.0
5 (control)	0.0	0.0

Los explantes se mantuvieron en una cámara de crecimiento en condiciones asépticas a 26°C y 3000 lux. Las evaluaciones se realizaron a los 90 días de iniciado el experimento. Las variables estudiadas fueron: cantidad de entrenudos/brote, cantidad de brotes y cantidad de raíces. Se comprobó la aproximación de los datos a la distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de varianza (prueba de Bartlett). Los datos se procesaron a través de un análisis de varianza

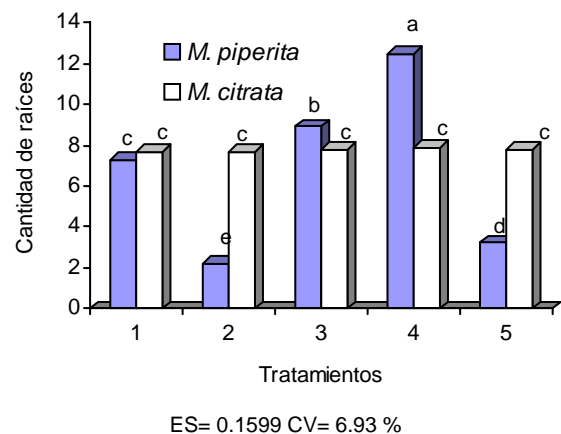
bifactorial (dos especies x cinco tratamientos) con arreglo a un diseño completamente aleatorizado. Las medias se compararon a través de la dócima de Tukey para  $p < 0.05$  en los casos en que hubo diferencias significativas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las condiciones experimentales ensayadas, no se detectaron diferencias significativas en la variable cantidad de entrenudos/brote en ninguna de las dos especies estudiadas. En cambio, se observaron interacciones significativas especie x tratamiento para las variables cantidad de brotes y cantidad de raíces (Figuras 1 y 2).



**Figura 1. Cantidad de brotes en diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento en *Mentha piperita* y *Mentha citrata***



**Figura 2. Cantidad de raíces en diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento en *Mentha piperita***

*Cantidad de brotes.* El tratamiento 4 (6-BAP 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>) produjo los mejores resultados en *M. piperita*, superando significativamente a las demás combinaciones hormonales y al control (Figura 1). Este resultado indica la importancia de esta citoquinina en la producción de brotes para esta especie. En *M. citrata*, aunque se detectaron diferencias significativas con respecto a los resultados obte-

nidos para la otra especie en estudio, no hubo diferencias internas para la especie entre el control y los tratamientos, lo que permite recomendar el tratamiento 5 (control) consistente en el medio de Murashige y Skoog (4) sin reguladores del crecimiento para la multiplicación *in vitro* de esta especie.

**Cantidad de raíces.** Se observó un comportamiento similar al de la variable cantidad de brotes. El tratamiento 4 (6-BAP 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>) condujo a los mejores resultados en *M. piperita*, y fue significativamente diferente a las demás combinaciones hormonales y al control (Figura 2). En *M. citrata*, los tratamientos aplicados difirieron significativamente con respecto a los resultados obtenidos en *M. piperita*, pero no mostraron diferencias internas para la especie entre el control y los tratamientos.

Estas especies se multiplican a partir de los entrenudos que se obtienen de cada uno de los explantes (3). De ahí que aunque no existan diferencias significativas para la cantidad de entrenudos/brote, la obtención de una cantidad de brotes significativamente superior en presencia de 1 mg.mL<sup>-1</sup> de 6-BAP para *M. piperita* garantiza un incremento significativo en la obtención de mayores cantidades de propágulos para esta especie. En cuanto a *M. citrata*, el empleo del medio de Murashige y Skoog (4) sin reguladores de crecimiento representa un ahorro de recursos, al no utilizar fitohormonas para la multiplicación de esta especie.

La abundante experiencia acumulada en la multiplicación de especies vegetales *in vitro* (5) sugiere que no es conveniente la obtención de raíces en la etapa de multiplicación, ya que esto suele restar potencialidades al desarrollo de nuevos brotes. Sin embargo, aunque los mayores valores de la variable cantidad de raíces para *M. piperita* se obtuvieron en el tratamiento 4, esto no restó posibilidades al desarrollo de nuevos brotes, ya que los mayores valores de esta variable se obtuvieron también en el mismo tratamiento. Al parecer, las características propias de la especie (1), en cuanto a su tendencia a formar raíces para adaptarse a las condiciones del medio, pudieran ser responsables de la respuesta de esta variable. Por lo que respecta a *M. citrata*, la cantidad de raíces mostró la misma independencia de la presencia de fitohormonas en el medio que la cantidad de brotes, lo que permite recomendar el empleo del medio de Murashige y Skoog (4) sin reguladores del crecimiento para la propagación de esta especie, con un consumo mínimo de recursos.

En la propagación *in vitro* de plantas medicinales, como en la de otras especies vegetales, se ha estudiado el efecto de las fitohormonas. Se ha establecido un protocolo para la propagación masiva de *Cleome gynandra* (6), empleando para ello el medio basal de Murashige y Skoog (4)

y diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento. En algunas especies como *Pelargonium* (7), existe relación entre la producción de aceites esenciales y el empleo de reguladores de crecimiento para el cultivo *in vitro*. En el caso de las mentas, este es un aspecto que es recomendable estudiar, dado que es de interés para la producción comercial de plantas medicinales la obtención de altas cantidades de propágulos con elevada calidad (8).

## CONCLUSIONES

- \* La multiplicación *in vitro* de *Mentha citrata* puede llevarse a cabo empleando únicamente el medio basal de Murashige y Skoog, sin necesidad de un suplemento adicional de reguladores de crecimiento.
- \* La especie *Mentha piperita* necesita un suplemento de 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) para el mejor desarrollo de brotes y raíces en el medio de cultivo empleado para la multiplicación *in vitro*.

## REFERENCIAS

1. Gutiérrez, R.; Avila, M. R. y Jacobo, J. L. Avances de la producción del aceite de menta en el noroeste de Chihuahua. INIFAP : Folleto Técnico. 1999, no. 11 p. 18.
2. Reed, B. M. *In vitro* storage conditions for mint germplasm. *Hort. Sci.*, 1999, vol. 34, no. 2, p. 350-352.
3. Barrón, M. L. y Héctor, E. Propagación *in vitro* de *Mentha x gracilis* var. Scotch: Resúmenes. En: Congreso Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agropecuario DGTA (11:2000:Tabasco) 2000. p. 39.
4. Murashige, T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, p. 431-497.
5. Orellana, P. Introducción a la propagación masiva. En: Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Santa Clara : IBP, 1998. p. 125-133.
6. Naseem, M. y Jha, K. K. Rapid clonal multiplication of *Cleome gynandra* DC. through tissue culture. *Phytomorphology*, 1997, vol. 47, no. 4, p. 405-411.
7. Rao, B. R. R.; Bhattacharya, A. K.; Singh, K.; Kaul, P. N. y Singh, C. P. Growth, biomass production, and essential oil profile of rose-scented geranium (*Pelargonium* spp.) as influenced by plant growth regulators. *Pafai Journal*, 1998, vol. 19, no. 4, p. 11-14.
8. Giulietti, A. M. y Ertola, R. J. Biotechnological strategies for production of plants and secondary metabolites of pharmaceutical interest. *Acta Horticulturae*, 502: II WOCMAP Congress of Medicinal and Aromatic Plants, Part 3: Agricultural Production, Post Harvest Techniques, Biotechnology. Disponible en: <www.actahort.org>, 2001.

Recibido: 18 de marzo de 2004

Aceptado: 18 de noviembre de 2004