

Inducción de la brotación en tubérculos de *Ipomoea batatas* mediante una mezcla de oligogalacturónidos bioactivos para su establecimiento *in vitro*

Orlando S. González Paneque*¹, Alejandro Falcón Rodríguez², Margarita Hernández Espinosa², Ramón Iglesias Cúvelo², Juan J. Silva Pupo¹, Mirtha López Machado², Julio E. Rodríguez Hernández³, Lizardo Arias Gómez³, Juan C. Cabrera² y Edubar Oliva Jaume¹. * Autor para correspondencia.

¹ Universidad de Granma. Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Apdo. 21. Bayamo. CP.: 85 100. Granma. Cuba. e-mail: ogpaneque@udg.co.cu

² Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Apdo. 1. San José de las Lajas. La Habana. Cuba. CP: 32 700.

³ Instituto Nacional de Investigaciones de Viandas Tropicales de Camaguey (INIVIT). Camino de Sabanilla al final. Camaguey. Cuba.

RESUMEN

Se emplearon raíces tuberosas de boniato pertenecientes al clon CEMSA 78-354, procedentes de bancos de semillas, las cuales fueron seleccionadas teniendo en cuenta su sanidad y uniformidad en el tamaño. Las mismas fueron trasladadas al laboratorio a condiciones semicontroladas y se colocaron en frascos de cristal con 300 ml de agua corriente (control) y en frascos con la misma cantidad de agua y diferentes concentraciones de Pectimorf (5, 10, 15 y 20 mg.l⁻¹). Se evaluaron en diferentes momentos los siguientes indicadores: número de brotes por tubérculo, longitud de los brotes y número de yemas por brote. De manera general, con el empleo de 15 mg.l⁻¹ de Pectimorf se obtuvieron los mejores resultados en los indicadores evaluados, superando los alcanzados por el control.

Palabras clave: boniato, brotes, Pectimorf, yemas

ABSTRACT

Tuberous roots of sweet potato, belonging to clone CEMSA 78-354, coming from banks of seeds and collected, keeping in mind their sanity and uniformity in the size, were used. They were transferred to laboratory under semicontrolled conditions and placed in glass flasks with 300 mg.l⁻¹ of tap water (control treatment) and in flasks with the same volume of water and different pectimorf concentration (5, 10, 15 and 0 mg.l⁻¹). At different time the following indicators: number of sprouts per tuber, length of sprouts and number of buds per sprouts. Evaluated indicators were achieved with the use of 15 mg.l⁻¹ Pectimorf overcoming those reached by the control treatment.

Key words: buds, Pectimorf, sprouts, sweet potato

INTRODUCCIÓN

En Cuba, el cultivo del boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) ha incrementado su importancia como alimento para la población en los últimos años; trayendo consigo el aumento de las áreas de siembra y por tanto una mayor aplicación de los adelantos más modernos de la ciencia y la técnica para dar solución a los problemas que aún se presentan en la obtención de altos rendimientos en este cultivo. La aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales reviste una gran importancia, ya que ayuda a resolver problemas que pueden presentarse en el cultivo.

De todos los factores implicados en la respuesta morfogénica, se sabe que la mayor limitante de la inducción de órganos es la concentración de los reguladores del crecimiento en el medio de cultivo y los cambios provocados en la expresión morfogénica del explante dependen de la concentración relativa de los componentes del medio (Plana *et al.*, 2003).

La propagación por tubérculos es una de las formas para reproducir esta especie en los países templados o en las zonas en que las condiciones ecológicas no permiten que se desarrolle por esquejes durante todo el año y se utiliza como forma de refrescar la variedad (Austin, 1992). Para el establecimiento *in vitro* del boniato, dado las características de su hábito de crecimiento rastrero, se hace necesario llevar a cabo la inducción de brotes a partir de tubérculos en condiciones semicontroladas de laboratorio; para lo cual los brotes deben ser sanos y en el mayor número posible, de manera tal que se garantice un alto número de yemas que permitan su establecimiento y multiplicación *in vitro* y el empleo de sustancias estimuladoras del crecimiento puede contribuir a lograr esta finalidad con la mayor calidad posible.

La introducción de los oligogalacturónidos en las tecnologías de regeneración *in vitro* de plantas, pudiera constituir una alternativa para mejorar la eficiencia económica del proceso desarrollado *in vitro*

con insumos nacionales, elevar los coeficientes de multiplicación y obtener un gran desarrollo vegetativo (González, 1998).

Los oligopectatos son oligosacarinas consideradas actualmente como biorreguladores endógenos en el desarrollo de las plantas, pues pueden regular la síntesis y acción de las hormonas y distintos procesos de organogénesis y crecimiento (Bellincampi *et al.*, 1996; Coté *et al.*, 1998) y de manera directa y específica regulan muchos de los procesos fisiológicos que se traducen en la formación de órganos (Creelman y Mullet, 1997; Bolwell, 1999).

Según Gutiérrez *et al.* (1996), el Pectimorf es una mezcla de oligosacáridos bioactivos obtenidos a partir de la pectina cítrica y estimulan el crecimiento y diferenciación celular de distintas especies vegetales.

Los resultados referidos por la literatura científica (Albersheim *et al.*, 1992; Brent *et al.*, 2001), señalan el efecto de los oligogalacturonidos en la morfogénesis de plantas; es por ello que, la ampliación de estos resultados a otras especies vegetales de interés económico, pero aún no estudiadas, permitirá alcanzar un importante peldaño en el conocimiento más completo del Pectimorf y su efecto biotecnológico integral.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto del Pectimorf en la inducción de brotes a partir de yemas de tubérculos de boniato para su empleo en el cultivo *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Granma, en colaboración con el Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) de La Habana. Se procedió a la recolección de raíces tuberosas del banco de semillas de boniato, pertenecientes al clon CEMSA 78-354; teniendo en cuenta su sanidad y uniformidad en el tamaño. Las mismas fueron lavadas varias veces con agua y detergente para eliminar las suciedades e impurezas y se colocaron posteriormente, en frascos con 300 ml de agua corriente (control) y en frascos con la misma cantidad de agua y diferentes concentraciones de Pectimorf (5, 10, 15 y 20 mg.l⁻¹).

Todos los tratamientos fueron colocados en condiciones semicontroladas de laboratorio a temperatura de 27 ± 2°C, humedad relativa del 80-90% e iluminación de 4 000-5 000 lx y se les aplicó semanalmente Ridomil (1 g.l⁻¹) en forma de aspersion foliar para garantizar el control de posibles contaminaciones fungosas.

Fueron empleadas diez raíces tuberosas por tratamiento, con tres repeticiones y se evaluaron en

diferentes momentos (5, 10, 20 y 30 días) los siguientes indicadores:

- Número de brotes por tubérculo.
- Longitud de los brotes (cm).
- Número de yemas por brote.

En el montaje del experimento se empleó un diseño completamente al azar y los resultados fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza factorial simple, teniendo en cuenta los tratamientos empleados para cada tiempo evaluado, al existir interacciones entre los tratamientos y con la finalidad de evidenciar diferencias entre los mismos, se realizó la prueba de comparación de medias de Duncan para el nivel de significación del 1%, contenido en el paquete estadístico TonyStat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se reflejan los resultados obtenidos en la respuesta de inducción de brotes al ser empleadas diferentes concentraciones de Pectimorf. Se observó que la inducción de los brotes se inició a partir de los cinco días después de establecidos los tubérculos en agua, alcanzándose un crecimiento y desarrollo de las yemas a medida que pasaron los días y similar comportamiento se presentó en el tratamiento control. Posteriormente, a los diez días se evidenció la presencia de brotes de mayor tamaño y el tratamiento compuesto por 300 ml de agua y 15 mg.l⁻¹ de Pectimorf fue el que mejor respondió, presentando valores medios de tres brotes por tubérculo y existiendo diferencias significativas con el tratamiento control (300 ml de agua), el cual presentó el mayor número en la emisión de brotes; todo lo cual sugiere que, el balance del Pectimorf empleado a las concentraciones evaluadas, favoreció la inducción de los brotes en longitud y número, y el empleo del agua solamente estimuló el número de brotes por tubérculo.

Al evaluar el comportamiento de los tubérculos a los veinte días, se observó en todos los tratamientos el continuo crecimiento de los brotes; siendo necesario destacar que, el tratamiento con 300 ml de agua y 15 mg.l⁻¹ de Pectimorf presentó los resultados más favorables, existiendo diferencias significativas con el resto de los tratamientos, excepto el número de brotes, donde en este último indicador se obtuvieron los mejores resultados en el tratamiento control, lo cual indicó que el Pectimorf presentó un efecto favorable en la estimulación del crecimiento de los brotes en longitud y el número de yemas por brote.

Por otro lado, al analizar a los treinta días la emisión de los brotes; se obtuvo que de manera general, todos los tratamientos presentaron esta respuesta, siendo mayor en el tratamiento anteriormente mencionado con los indicadores evaluados más favorables, seguido por el control y el resto de los tratamientos, existiendo diferencias significativas entre estos; lo cual demostró la acción estimulante del Pectimorf a determinada concentración. Es necesario destacar que, en todas

las evaluaciones realizadas con el empleo del Pectimorf a 15 mg.l⁻¹ se obtuvo menor número de brotes promedio totales en comparación con el control, pero de mayor longitud y con una mayor cantidad de yemas; obteniéndose un mayor número de estas para ser

empleadas en el cultivo *in vitro* en la multiplicación acelerada del material vegetal. Tanto en el control, como con el empleo del pectimorf a 15 mg.l⁻¹ se obtuvieron brotes sanos, observados a simple vista mediante observaciones morfológicas visuales.

Tabla 1: Respuesta en la inducción de brotes de *Ipomoea batatas* a partir de tubérculos por la acción del Pectimorf.

Tiempo (días)	Tratamientos con Pectimorf (mg.l ⁻¹)	Número de brotes	Longitud de los brotes (cm)	Número de yemas por brote
5	0	0	0	0
	5	0	0	0
	10	0	0	0
	15	0	0	0
	20	0	0	0
	E.S (x)	--	--	--
10	0	4 a	2.6 b	2.5 b
	5	0 c	0c	0 c
	10	0 c	0c	0 c
	15	3 b	6.8 a	4.3 a
	20	0 c	0 c	0 c
	F.S (x)	1.88	1.80	2.02
20	0	9 a	4.1 b	2.8 c
	5	2 c	4.6 b	3.3 b
	10	2 c	3.1 c	3.0 b
	15	7 b	25.3 a	7.6 a
	20	1.6 d	3.0 c	3.2 b
	E.S (x)	2.00	1.89	2.05
30	0	13 a	23.1 b	8.4 b
	5	4 d	5.1 c	4.2 c
	10	6 c	3.9 d	3.6 d
	15	9 b	43.2 a	14.1 a
	20	3.2 e	4.1 d	4.1 c
	E.S (x)	2.45	2.36	2.08

Medias con letras comunes en una columna para cada tiempo no difieren según la prueba de rangos múltiples de Duncan para $p < 0.001$.

De manera general, se observó que al presentarse una mayor longitud de los brotes, se obtuvo un menor número de estos; lo cual sugiere que, las reservas del tubérculo fueron empleadas en la inducción de los brotes y el posterior crecimiento y desarrollo de los mismos. En cuanto al número de yemas por brote, se pudo apreciar que este indicador se vio favorecido al emplear 15 mg.l⁻¹ de Pectimorf y resultados semejantes fueron obtenidos por Montes *et al.* (2000), en especies de plantas ornamentales al utilizar el Pectimorf en la propagación acelerada de *Anthurium cubense*; ya que de esta manera se aumentó el número de yemas disponibles para el cultivo *in vitro* y su multiplicación acelerada.

Los resultados obtenidos demostraron el efecto favorable del Pectimorf al ser añadido al agua para

inducir la brotación de los tubérculos; ya que pasados veinte días se puede obtener material vegetal como explantes (yemas) para ser empleado en el cultivo *in vitro*, debido al crecimiento y desarrollo alcanzado por los brotes en los tratamientos estudiados; porque dada las características del cultivo, en su hábito de crecimiento rastrero, es sumamente difícil llevar a cabo la siembra aséptica y se emplea el procedimiento de inducir los brotes a partir de tubérculos, colocados en frascos con agua en condiciones semicontroladas de laboratorio para su posterior cultivo *in vitro*, el cual demora alrededor de treinta días para poder disponer de material vegetal para la siembra aséptica. Con el empleo del Pectimorf se logró en los tubérculos brotes de una mayor longitud y número de yemas, al ser comparado con el uso del agua solamente; lo que acorta el tiempo

de espera de la brotación de las yemas de los tubérculos para su empleo en el cultivo *in vitro*.

Los resultados obtenidos indican la posibilidad del empleo de los oligogalacturónidos en los procesos de crecimiento y diferenciación de los órganos vegetales a partir de tubérculos y será necesario profundizar en los mecanismos de acción del mismo durante los procesos organogénicos y los resultados obtenidos constituyen un punto de partida para desarrollar otras investigaciones; ya que con respecto a este estudio, hasta la fecha no existen referencias de trabajos realizados por otros autores en el cultivo del boniato.

Según Benítez (1998), actualmente, existen compuestos químicos sintéticos con una actividad fisiológica similar a las fitohormonas endógenas, en la modificación del crecimiento y desarrollo, que puede funcionar en las plantas como señales moleculares que regulan el crecimiento, la diferenciación y la adaptación al ambiente.

REFERENCIAS

- Albersheim, P, Darvill AG, Augur C, Cheong JJ, Eberhard S, Hahn HG, Marfá V, Mohnen D, O'Neill MA, Spiro MD y York WS (1992) Oligosaccharins: Oligosaccharides regulatory molecules. *Acc. Chem. Res.* 25: 77-83
- Austin, DF (1992) Seeds in some poorly known species of *Ipomoea* section *batatas* (Convolvulaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 119(2): 142-144
- Bellincampi, D, Cervone F, Altamura M, Constantino P, De Lorenzo G, Cardarelli M, Zaghi D, Serino G, Salvi G y Gatz C (1996) Oligogalacturonides prevent rhizogenesis in rolB-transformed tobacco explants by inhibiting auxin-induced expression of the rolB gene. *Plant Cell* 8: 477-487
- Benítez, A (1998) Actividad Biológica del PECTIMORF sobre el desarrollo de callos de *Saccharum officinarum* L. de la variedad C 87-51. Tesis de Grado Facultad de Biología, Universidad de la Habana. 75 p
- Bren, L, Malcolm A, Debra M (2001) Pectins: structure, biosynthesis and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry* 57: 929-967
- Bolwell, PG (1999) Role of active oxygen species and NO₂ in plant defense responses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 287-294
- Coté, F, Hamk K, Hahn M, Bergman C (1998) Oligosaccharide elicitors in host-pathogen interactions: Generation, perception and signal transduction. En: Biswas, B y Das, H (eds). *Subcellular biochemistry*, Vol. 29. Plant-microbe interactions. p385-431 Plenum Press, New York
- Creelman, RA y Mullet JE (1997) Oligosaccharins, Brassinolides and Jasmonates: Nontraditional Regulators of Plant Growth, Development and Gene Expression. *Plant Cell* 9: 1211-1223
- González, S (1998) Actividad biológica del Pectimorf en el cultivo *in vitro* de callos y ápices de tabaco. Programas y Resúmenes. XI Seminario Científico del INCA. Taller de Productos Bioactivos y la Agricultura, La Habana. p. 11
- Gutiérrez, A, Falcón A y Nápoles MC (1996) Aislamiento, caracterización parcial y actividad elicitora de fracciones hidrosolubles extraídas de la pared celular de *Phytophthora cinnamomi*. *Cultivos Tropicales* 17(1): 27-31
- Montes, S, Aldaz JP, Cevallos M, Cabrera JC y López M (2000) Uso del biorregulador Pectimorf en la propagación acelerada del *Anthurium cubense*. *Cultivos Tropicales* 21(3): 29-31
- Plana, D, Alvarez M, Florido M, Lara R y Cabrera JC (2003) Actividad Biológica del Pectimorf en la Morfogénesis *in vitro* del Tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) var. Amalia. *Cultivos Tropicales* 24(1): 29-33