

Efecto de la iluminación en la inducción de callos morfogénicos en boniato

Orlando S. González Paneque*, Juan J. Silva Pupo, Angel Espinosa Reyes, Edubar Oliva Jaume e Isabel Milanés Vega. *Autor para correspondencia.

Universidad de Granma. Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Apdo. 21. Bayamo. C.P: 85100. Granma. Cuba. e-mail: ogpaneque@udg.co.cu

RESUMEN

Explantes de limbos foliares obtenidos a partir de brotes de raíces engrosadas en condiciones semicontroladas de laboratorio, pertenecientes a los clones Cemsa 78-354, Inivit B 90-1, Inivit B 93-1, Yabú-8 y Jewel, fueron sembrados con la superficie adaxial en contacto con el medio de cultivo compuesto por las sales de Murashige y Skoog (1962), sacarosa (3%), agar-agar (0.6%), mioinositol (100 mg.l^{-1}), 2,4-D (0.1 mg.l^{-1}) y regulado el pH a 5.8. Colocados en las condiciones de iluminación: luz solar, oscuridad permanente y fotoperíodo (16 horas luz artificial), para evaluar la capacidad de inducción de callos morfogénicos. Se logró desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo la inducción de los callos morfogénicos de color crema amarillentos, nodulares y friables, siendo el crecimiento de los mismos fue superior en presencia de luz solar, en comparación con las restantes condiciones evaluadas.

Palabras clave: fotoperíodo, *Ipomoea*, tubérculos

ABSTRACT

Explants from foliar limbs of Cemsa 78-354, Inivit B 90-1, Inivit B 93-1, Yabú-8 and Jewel tubers shoots put under semicontrolled laboratory conditions. They were sowed in a medium with Murashige and Skoog (1962) salts, (3%) sucrose, (0.6%) agar-agar, (0.1 mg.l^{-1}) 2,4-D and (100 mg.l^{-1}) myoinositol with a fixed pH of 5.8. The explants were put in contact with the medium. Put under energy illumination, permanent darkness and a 16 h artificial illumination photoperiod they were evaluated to morphogenic callus induction capacity. It was evaluated to morphogenic callus induction capacity. It was established that from both quantitative and qualitative viewpoint the morphogenic callus induction of yellows cream color and growths were higher under energy illumination condition.

Key word: photoperiod, *Ipomoea* and tubers

INTRODUCCIÓN

En contraste con la cantidad de información que se ha divulgado sobre la optimización de los medios de cultivo y del uso de sustancias de crecimiento; poca atención se ha dedicado a los parámetros físicos que influyen en el crecimiento y el desarrollo de los órganos cultivados *in vitro* (Litz y Jarret, 1993). El área de incubación o crecimiento *in vitro* debe proporcionar un buen control de la temperatura, la iluminación y la humedad relativa.

Según Mroginski y Roca (1993), es conveniente que los cultivos sean incubados en ambientes controlados, por lo menos en lo referente a la luz y a la temperatura y estos dos factores son de gran importancia y la información existente sobre ellos suele ser fragmentaria y a menudo contradictoria. Las respuestas morfogénicas pueden ser alteradas por la temperatura de incubación (Martín, 1980; Hughes, 1981). En general, temperaturas entre 25 y 28°C son adecuadas para el establecimiento de los cultivos (Mroginski y Roca, 1993).

El fotoperíodo también puede afectar los niveles internos de los reguladores del crecimiento (Heide y Skoog, 1967; Cheng y Voqui, 1977; Thorpe, 1980); donde un cambio en la intensidad luminosa puede causar organogénesis (Hasegawa *et al.*, 1973); además, pueden ocurrir cambios morfogénicos específicos debido a la longitud de onda de la iluminación. Por todo lo anteriormente planteado se llevó a cabo el presente estudio, para evaluar el efecto que tienen las condiciones de iluminación en la inducción de callos morfogénicos en el boniato.

MATERIALES Y MÉTODOS

Raíces engrosadas de boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) pertenecientes a los clones Cemsa 78-354, Inivit B 90-1, Inivit B 93-1, Yabú-8 y Jewel, fueron recolectados y trasladados al laboratorio, donde fueron colocadas en frascos con agua para inducir la brotación de las yemas. A los 25 días se seleccionaron los limbos foliares, lavados varias veces con agua y detergente (1%), desinfectados con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%, durante 15 minutos y enjuagados tres veces con agua destilada estéril en la cabina de flujo laminar.

Posteriormente, se seccionaron en segmentos de 1cm² y fueron sembradas con el haz en contacto con el medio de cultivo compuesto por las sales de Murashige y Skoog (1962), sacarosa (3%), agar-agar (0.6%), mioinositol (100 mg.l⁻¹) y 2,4-D (0.1 mg.l⁻¹). Colocados en condiciones de luz solar (4 000-5 000 Lu), oscuridad permanente y fotoperíodo (16 horas luz artificial), los cuales constituyeron los tratamientos evaluados para la inducción de callos morfogénicos. El pH del medio fue ajustado a 5.8 ± 0.01, y se esterilizó en autoclave a 121°C.

Se colocó un explante por frasco y el medio de cultivo se añadió a razón de 20 ml, con un tamaño de muestra de 25 explantes por tratamiento. A las cuatro semanas de cultivo fueron evaluados los siguientes indicadores:

- Porcentaje de explantes con formación callos.
- Desarrollo de los callos (Escala de Santana, 1982).
- Color de los callos.
- Consistencia de los callos (compacta o friable).

Descripción de la escala empleada por Santana (1982):

- 1- No formación del callo.
- 2- Ligera formación del callo (se observa una débil proliferación en zonas del borde del explante).
- 3- Formación del callo (hay proliferación de células por todos los bordes del explante, sin llegar a formar una masa).
- 4- Abundante formación del callo (formación de una masa voluminosa de callos).

Se llevó a cabo un análisis de comparación de proporciones para evaluar el efecto en la inducción de callos, tomando como resultados los callos morfogénicos pertenecientes al grado 3 de la escala de Santana (1982) obtenidos en el experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al colocar los explantes en la luz solar el porcentaje de callos de grado 3 fue del 92.0-100% en los clones estudiados, presentando características morfogénicas favorables, dadas por coloraciones crema-amarillentas, friables y de consistencia nodular, sobresaliendo los resultados obtenidos en los clones Cemsá 78-354, Inivit B 93-1 y Jewel (Fig. 1).

En la oscuridad permanente durante cuatro semanas, se logró entre 84.0-96.0% de callos de grado 3, con características morfológicas similares a los obtenidos a la luz solar. Encontrándose los mayores valores en el clon Jewel (Fig. 1 e).

En condiciones de fotoperíodo (16 horas luz artificial), se obtuvieron resultados en la inducción de callos de grado 3, con características morfológicas similares a las observadas en las condiciones de incubación anteriormente analizadas, aunque con

mayor predominio de callos de grado 2; en comparación con el resto de las condiciones estudiadas, prevaleciendo el color amarillento y en ocasiones amarillento-pardo y de consistencia.

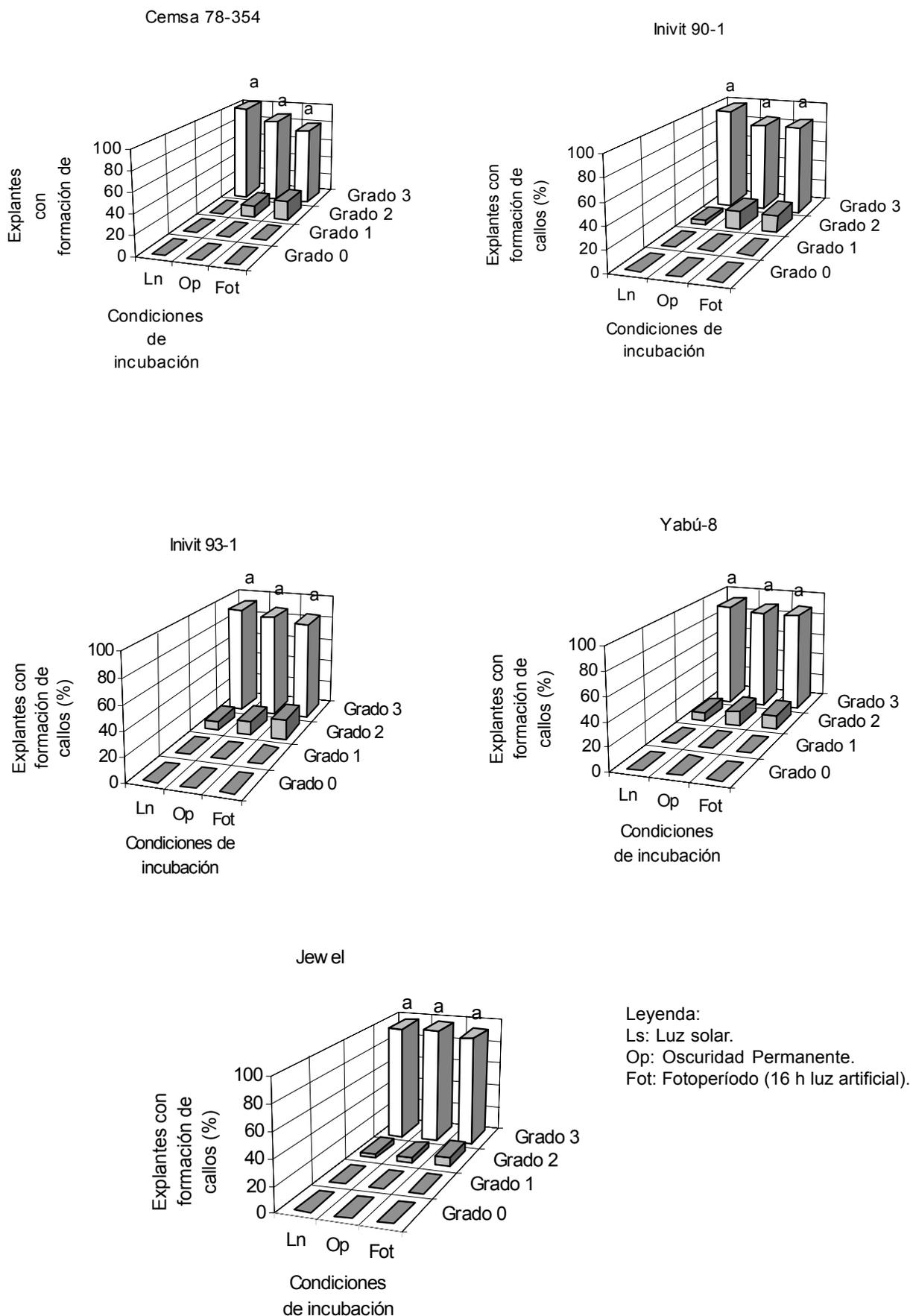
De manera general, se observó mediante análisis visual comparativo, diferencias en la iniciación de la inducción de los callos y la velocidad de crecimiento durante las cuatro semanas de incubación; lográndose los mejores resultados en los explantes colocados a la luz solar. De ahí que podamos decir, que la luz solar no solo favoreció el inicio del proceso; sino también, la velocidad de crecimiento y la calidad del callo formado, aunque cuantitativamente no se revelaron diferencias estadísticas.

Desde el punto de vista cualitativo existieron diferencias, encontrándose con el empleo de la luz solar callos con características morfológicas superiores al resto de las condiciones empleadas; por presentar coloraciones crema-amarillento, consistencia friable y apariencia nodular; además, se apreció que la velocidad de crecimiento fue mayor en esta condición.

Se observaron diferencias en la respuesta de los callos frente a los tipos de luz que se utilizaron. Ellos en sí son diferentes, comportándose superior la luz solar en los parámetros evaluados. Desde el punto de vista del desarrollo *in vitro* quedaron demostradas las ventajas de la luz solar, lo cual puede deberse a que la calidad espectral es muy superior a cualquier luz artificial, siendo además económico su empleo. El hecho de que la luz artificial y la oscuridad permanente tengan el mismo efecto, menos favorable que la luz solar, y que haya una tendencia a aumentar la velocidad de crecimiento de los callos y a mejorar sus características cualitativas por esta última, indica que la composición espectral de la luz solar desempeñó un papel importante en la inducción de callos morfogénicos, no siendo así con el empleo de las demás condiciones de incubación evaluadas.

Alleweldt y Radler (1962), estudiaron el efecto de la luz en el crecimiento de callos de boniato, para lo cual emplearon el medio de Murashige y Skoog (1962), suplementado con 2,4-D y BAP, incubados a 25 ± 2°C y luz continua. Los callos obtenidos fueron de color amarillento-pálido y el crecimiento con la presencia de la luz fue significativamente alto. En nuestro trabajo se obtuvieron resultados similares con el empleo de la luz solar, donde la velocidad de crecimiento y la calidad de los callos morfogénicos fue superior al empleo de la luz artificial.

Según Loyola (1990), se podría pensar que generalmente las condiciones óptimas de una planta en su hábitat natural son similares en el cultivo *in vitro*, pero esto no es necesariamente cierto. En algunas especies se han identificado condiciones óptimas diferentes para ambas situaciones.



Leyenda:
 Ls: Luz solar.
 Op: Oscuridad Permanente.
 Fot: Fotoperiodo (16 h luz artificial).

Letras comunes no difieren significativamente $p < 0.01$
 Figura 1: Evaluación del efecto de la luz en la inducción de callos morfogénicos de boniato.

Gómez (1998) planteó que en el cultivo de la caña de azúcar las condiciones de incubación tienen una marcada influencia en el cultivo *in vitro*; observándose diferencias en los tipos de luz utilizados (luz artificial con fotoperíodo de 12:12 y luz solar), comportándose superior la luz solar en los parámetros de regeneración y altura de las plantas y desde el punto de vista del desarrollo *in vitro* dejó demostradas las ventajas de la luz solar.

CONCLUSIONES

Con el empleo de la luz solar, fue factible obtener a las cuatro semanas poblaciones uniformes con predominio de callos pertenecientes al grado 3 de la escala de Santana (1982) en el cultivo del boniato.

La luz solar resultó ser la mejor en la obtención de callos morfogénicos, en comparación con las condiciones de oscuridad permanente y de fotoperíodo (16 horas luz artificial).

Son factibles las posibilidades de empleo de la luz solar en la inducción de callos morfogénicos en boniato empleando las técnicas biotecnológicas, ya que además de los resultados obtenidos, también tiene un efecto económico favorable.

REFERENCIAS

Alleweldt, G y Radler F (1962) Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue culture. *Plant Physiol* 37: 376-379

Cheng, T y Voqui T (1977) Regeneration of Douglas-fir plantlets through tissue culture. *Science* 198: 306-307

Gómez, KR (1998) Cultivo de células y Tejidos. En: Pérez JN (Ed) Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Cap. 2, Vol. 1, pp. 25- 44. IBP, Santa Clara

Hasegawa, P, Murashige T y Takatori F (1973) Propagation of asparagus through shoot apex culture; 2: Light and temperative requirements, transplantability of plants and cytological characteristics. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* 98: 143-148

Heide, OM y Skoog (1967) Cytokinin activity in Begonia and Bryophyllum. *Physiol Plant* 20: 771-780

Hughes, KW (1981) *In vitro* ecology, exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture systems. *Env. Exp. Bot.* 21: 281-288

Litz, RE y Jarret RL (1993) Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: Embriogénesis somática y organogénesis. En: Roca, W y Mroginski LA (Eds) Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Cap. 7, pp. 143-172. CIAT, Cali

Loyola, VV (1990) Cultivo y fusión de protoplastos. En: Roca, W y Mroginski LA (Eds) Fundamentos teórico-prácticos del cultivos de tejidos vegetales, pp. 61-65. FAO

Martín, SM (1980) Environmental factor B: Temperature, aeration, and pH. En: Staba JE (Ed) Plant Tissue Culture as a Source of biochemicals, pp. 143-148

Mroginski, LA y Roca W (1993) Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. En: Roca W y Mroginski LA (Eds) Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Cap. 2, pp. 19-40. CIAT, Cali

Santana, BN (1982) Determinación de un medio adecuado para la obtención de callos en variedades de caña de azúcar (*Saccharum* species). *Cultivos Tropicales* 4 (3): 48-54

Thorpe, T (1980) Organogenesis *in vitro*: Structural, physiological and biochemical aspects. Supplement 11 A: 71- 111