

Efecto de Pectimorf® en el enraizamiento *in vitro* de plantas de 'FHIA-18' (*Musa AAAB*)

Misterbino Borges García^{1*}, Diana María Reyes Avalos², José Martín Zayas Acosta², Reisel Destrade Batista³.
*Autor para la correspondencia

¹Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma. Carretera Bayamo-Manzanillo km 17, Apdo 21, Bayamo, CP 85 100, Granma. Cuba.
e-mail: mborgesg@udg.co.cu

²Centro Universtario Municipal, Jiguaní, Granma. Cuba.

³Biofábrica Granma, Carretera a Santiago de Cuba km 5, Bayamo, Granma. Cuba.

RESUMEN

El empleo de productos elaborados a base de oligogalacturónidos en el cultivo *in vitro* de plantas promueve diferentes procesos biológicos entre los que se encuentra el enraizamiento. El presente trabajo se realizó con el propósito de comprobar el efecto de Pectimorf® en el enraizamiento *in vitro* de 'FHIA-18' (*Musa AAAB*) y su efecto residual en la fase de aclimatización. Se adicionó Pectimorf® (0.1, 1.0, 2.0 mg l⁻¹) y Acido Indol Acético (AIA) 1.3 mg l⁻¹ (control) en el medio de cultivo MS. A los 9, 12 y 15 días de cultivo se cuantificó el número de plantas con raíces y se calculó el porcentaje de enraizamiento. A los 21 días se cuantificó el número de raíces por planta, se midió la longitud (cm) y el grosor de las raíces (mm). Las plantas se transfirieron a la fase de aclimatización y al cabo de 45 días se determinó en 40 plántulas aclimatizadas por tratamiento, supervivencia (%), altura de la planta (cm), grosor del pseudotallo (cm) y número de hojas. Los resultados demostraron que la incorporación en el medio de cultivo MS de Pectimorf® a razón de 2 mg l⁻¹ es una alternativa factible en el enraizamiento y posterior aclimatización de plantas *in vitro* de plátano cultivar 'FHIA-18' en sustitución del AIA.

Palabras clave: micropropagación, oligogalacturónido, reguladores del crecimiento

Pectimorf® effect in the *in vitro* rooting of 'FHIA-18' (*Musa AAAB*) plants

ABSTRACT

The use of products based on oligogalacturonides in the *in vitro* culture of plants promotes different biological processes including rooting. The present work was carried out to verify the effect of Pectimorf® in the *in vitro* rooting of 'FHIA-18' (*Musa AAAB*) and its residual effect in the acclimatization stage. Pectimorf® (0.1, 1.0, 2.0 mg l⁻¹) and Indole Acetic Acid (IAA) 1.3 mg l⁻¹ (control) were added to the MS culture medium. At 9, 12 and 15 days after culture the number of plants with roots was quantified and the percentage of rooting was calculated. At 21 days the number of roots per plant was quantified, length (cm) and root thickness (mm) were measured. The plants were transferred to the acclimatization stage and after 45 days were determined on 40 acclimatized plants per treatment, survival (%), plant height (cm), pseudostem thickness (cm) and number of leaves. The results showed that incorporation into the Pectimorf® MS culture medium at a rate of 2 mg l⁻¹ is a feasible alternative in the rooting and subsequent acclimatization of 'FHIA-18' *in vitro* plants.

Keywords: micropropagation, oligogalacturonide, plant growth regulators

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos (*Musa spp.*) representan gran parte de la alimentación diaria para más de 400 millones de personas en 100 países del trópico y subtropico (Uzcátegui *et al.*, 2010).

En Cuba, los bananos y plátanos constituyen un reglón de elevada prioridad dentro del

programa alimentario nacional, debido a su capacidad de producir todos los meses del año, su elevado potencial productivo, arraigado hábito de consumo y diversidad de usos.

Entre las especies que más se propagan en Cuba están los plátanos y bananos (*Musa spp.*), que son de gran importancia para el

consumo de la población. Desde la década del 90 del siglo XX, se introdujeron los híbridos de la Federación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), que son resistentes a enfermedades (Pérez *et al.*, 2006) y de gran aceptación por la población.

El cultivar 'FHIA-18' (*Musa* AAAB), es uno de los que más se planta por el interés que tiene entre los productores como plátano fruta. Aunque se propaga *in vitro* de forma rutinaria en las Biofábricas en Cuba la eficiencia de este proceso puede estar condicionada por factores como el medio de cultivo, lo que pudiera influir en un bajo coeficiente de multiplicación. Además, este cultivar, al igual que otros, puede tener afectaciones en la supervivencia durante la fase de aclimatización (Izquierdo *et al.*, 2009).

Uno de los componentes que encarece la propagación masiva de plantas a través del cultivo de tejidos vegetales es el medio de cultivo y dentro de estos los reguladores del crecimiento. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado productos bioactivos que pueden utilizarse como sustitutos parciales o totales de tales sustancias. Dentro de este grupo se encuentran los elaborados en Cuba a base de oligogalacturónidos como el Pectimorf® que tiene diferentes efectos biológicos en plantas y varias aplicaciones agrícolas. Entre ellas, se ha demostrado estimula la elongación de las raíces y ha sido empleado para promover diferentes procesos en plantas, tanto *in vitro* como *ex vitro* (González-Pérez *et al.*, 2012; Suárez *et al.*, 2013; Falcon *et al.*, 2015).

La presente investigación tuvo como propósito comprobar el efecto de Pectimorf® en el enraizamiento *in vitro* del cultivar 'FHIA-18' y su efecto residual en la fase de aclimatización.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la Biofábrica de Granma en colaboración con el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Granma, Bayamo, Cuba.

Material vegetal

Se utilizaron plantas *in vitro* 'FHIA-18' (*Musa* spp., AAAB) en décimo subcultivo. El

material vegetal de origen procedió de plantas élites del banco de germoplasma en condiciones de campo de la Biofábrica de Granma, el cual está certificado por el Departamento de Sanidad Vegetal de la provincia de Granma. Para su establecimiento y multiplicación *in vitro* se empleó el protocolo para la micropropagación de plátanos y bananos mediante organogénesis (Orellana, 2009).

Medios de cultivo y condiciones de crecimiento *in vitro*

Se utilizó el medio de cultivo basal compuesto por las sales de Murashige y Skoog (1962) (MS) al 100% de su concentración, vitaminas MS, sacarosa 30 g l⁻¹ y agar E (Biocen) 7.5 g l⁻¹. Una vez preparado el medio de cultivo, el pH se ajustó a 5.8 y las variaciones se regularon con HCl (0.1N) y NaOH (0.1N) antes de la esterilización con Vitrofur® (35 mg l⁻¹). El medio de cultivo se distribuyó a razón de 80 ml en recipientes de cultivo de 700 ml de capacidad y se mantuvieron en reposo tres días antes de su uso, para detectar cualquier contaminación por microorganismos.

Las condiciones de cultivo en las cámaras de crecimiento de luz solar fueron: temperatura, 25±2°C; humedad relativa, 70 – 80%, intensidad luminosa de 40 µE m⁻² s⁻¹ y duración del fotoperíodo de 12 horas luz.

Enraizamiento de plantas *in vitro*

Con el propósito de determinar el efecto de diferentes concentraciones de Pectimorf® en el enraizamiento de plantas *in vitro* se aplicó un diseño completamente aleatorizado con 250 explantes por tratamiento (25 explantes por frasco). Estos consistieron en la utilización en el medio de cultivo para la fase de enraizamiento de distintas concentraciones de Pectimorf®: 0.1 mg l⁻¹ (tratamiento 1), 1 mg l⁻¹ (tratamiento 2), 2 mg l⁻¹ (tratamiento 3) y Acido Indol Acético (AIA) 1.3 mg l⁻¹ como control (tratamiento 4).

A los 9, 12, 15 días se tomaron aleatoriamente 25 plantas *in vitro* (de un total de 250 plantas por tratamiento con cuatro repeticiones) a las cuales se cuantificó el número de plantas con raíces y se calculó el porcentaje de enraizamiento. A los 21 días se cuantificó el

número de raíces por planta, se midió la longitud (cm) y el grosor de las raíces (mm).

Aclimatización de plantas in vitro

Este experimento se realizó con la finalidad de determinar el efecto residual de diferentes concentraciones de Pectimorf® aplicadas en la fase de enraizamiento sobre la aclimatización de las plantas *in vitro*.

Como material vegetal se emplearon plantas *in vitro* procedentes de la fase de enraizamiento según los tratamientos establecidos en el experimento anterior con cuatro repeticiones y 70 plantas *in vitro* cada una en correspondencia con las bandejas de poliuretano de 70 pocillos con 100 cm³ de capacidad empleadas. Se usó como sustrato 100% de materia orgánica compuesta por estiércol bovino con calidad certificada por el laboratorio provincial de suelos de Granma. Se colocó una planta por pocillo.

Las bandejas fueron ubicadas en casa de cultivo cubierta por una malla plástica (Sarán), que permite un flujo de fotones fotosintéticos de 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (López, 2006). El fotoperíodo fue de aproximadamente de 12 horas luz y la temperatura media de 33 \pm 2°C. El riego se realizó mediante sistema Microjet con una frecuencia de un riego diario a plena capacidad del sustrato. Después de 45 días de cultivo se determinó en 40 plántulas por tratamiento, las siguientes variables: supervivencia (%), altura de la planta (cm), grosor del pseudotallo (cm) y número de hojas.

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de varianza de clasificación simple con prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad del error. Para comprobar la normalidad de los datos se utilizó la prueba de Kolmogorov – Smirnov y para la homogeneidad de varianzas la prueba de Bartlett. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica para WINDOWS, versión 10.0 (StatSoft, 2011).

RESULTADOS

Los resultados del estudio corroboraron que puede emplearse Pectimorf® para el enraizamiento de plantas *in vitro* de 'FHIA-18' y que su efecto depende de la concentración. Cuando se adicionó al medio de cultivo a razón de 2 mg l⁻¹ (tratamiento 3) proporcionó valores significativamente superiores ($p \leq 0.05$) de enraizamiento para cada uno de los tiempos evaluados sin diferencias con el tratamiento control y sí con el resto de los tratamientos (Tabla 1). Se alcanzó 100% de enraizamiento a partir de los 12 días de cultivo.

De igual forma, a los 21 días de cultivo *in vitro* el Pectimorf® influyó sobre el número, longitud y grosor de las raíces de las plantas *in vitro* de 'FHIA-18' (Tabla 2). Los resultados fueron significativamente superiores ($p \leq 0.05$) cuando se adicionaron al medio de cultivo 2 mg l⁻¹ (tratamiento 3) sin diferencias con el tratamiento control (AIA).

Tabla 1. Efecto del Pectimorf® en el porcentaje de enraizamiento de plantas *in vitro* de 'FHIA 18' (*Musa spp.*, AAAB).

Tratamiento (mg l ⁻¹)	Tiempo (días)		
	9	12	15
Pectimorf® 0.1	16.0 c	64.0 c	68.0 c
Pectimorf® 1.0	72.0 b	91.0 b	95.0 b
Pectimorf® 2.0	90.0 a	100.0 a	100.0 a
AIA 1.3	76.0 b	92.0 b	95.0 b
EE	8.5	4.1	3.8

Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente para $p < 0.05$ según prueba de Tukey. EE, error estándar

En la fase de aclimatización las plantas que provenían del tratamiento 3 (Pectimorf®, 2 mg l⁻¹) mostraron un porcentaje de supervivencia significativamente superior ($p \leq 0.05$) al resto de los tratamientos donde se incluyó esta sustancia bioactiva (100%) en el medio de cultivo, sin diferencias con el tratamiento control (98%). También se observó un desarrollo morfológico normal de las plántulas.

De forma similar, las plantas provenientes del tratamiento con 2.0 mg l⁻¹ de Pectimorf® en el medio de cultivo mostraron los mayores valores para las variables altura de la planta, número de hojas y grosor del seudotallo ($p \leq 0.05$) (Tabla 3, Figura 1) en la fase de aclimatización, sin diferencias con el tratamiento control.

Tabla 2. Efecto del Pectimorf® en el número, longitud y grosor de las raíces de plantas *in vitro* de 'FHIA-18' (*Musa spp.*, AAAB) a los 21 días de cultivo *in vitro*.

Tratamiento (mg l ⁻¹)	Número de raíces/planta	Longitud de las raíces (cm)	Grosor de las raíces (mm)
Pectimorf® 0.1	1.7 c	14.68 c	0.50 c
Pectimorf® 1.0	2.0 b	17.08 b	0.80 b
Pectimorf® 2.0	3.2 a	28.20 a	1.15 a
AIA 1.3	2.9 a	24.80 a	1.10 a
EE	0.1	0.1	0.04

Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente para $p < 0.05$ según prueba de Tukey. EE, error estándar

Tabla 3. Influencia del Pectimorf® sobre la supervivencia, altura de la planta, número de hojas y grosor del tallo de plantas *in vitro* de 'FHIA 18' (*Musa spp.*, AAAB) a los 45 días de aclimatización.

Tratamiento (mg l ⁻¹)	Supervivencia (%)	Altura de la planta (cm)	Número de hojas	Grosor del seudotallo (mm)
Pectimorf® 0.1	88.00 b	14.50 b	3.20 b	4.40 b
Pectimorf® 1.0	89.00 b	17.76 b	3.50 b	5.00 b
Pectimorf® 2.0	100.00 a	25.25 a	5.80 a	9.24 a
AIA 1.3	98.00 a	23.10 a	5.10 a	8.10 a
EE	1.06	0.97	0.16	0.24

Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente para $p < 0.05$ según prueba de Tukey. EE, error estándar



Figura 1. Plántulas de 'FHIA-18' (*Musa spp.*, AAAB) a los 45 días de aclimatización procedentes del medio de cultivo de enraizamiento MS + Pectimorf® 2 mg l⁻¹.

DISCUSIÓN

Varios autores han comprobado la estimulación del enraizamiento, el incremento del número de brotes y el crecimiento vegetativo con Pectimorf®, en diferentes especies y fases del cultivo *in vitro* (Cid *et al.*, 2006; Nieves *et al.*, 2006; Falcón y Cabrera, 2007; Izquierdo *et al.*, 2009). Los resultados de este trabajo corroboran informes previos sobre el efecto del Pectimorf®, que dependió de la concentración y con 2 mg l⁻¹ incrementó significativamente el porcentaje de enraizamiento con respecto al AIA desde los 12 días de cultivo.

En este sentido, Falcón y Cabrera (2007) observaron los mayores incrementos de longitud de las raíces en los pecíolos de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* J.C. Wendl) en los tratamientos donde se utilizó el Pectimorf® a razón de 10 mg l⁻¹. Estos autores demostraron que el Pectimorf® aceleraba en una semana la aparición de raíces en la base del pecíolo en relación con el control compuesto por el AIA.

Según Falcón *et al.* (2015) el Pectimorf® promueve el desarrollo de raíces en plantas a concentraciones entre 5 y 20 mg l⁻¹. Sin embargo, aunque las concentraciones empleadas en este estudio estuvieron por debajo de estas, con 2 mg l⁻¹ el efecto se expresó en un mayor alargamiento (longitud de las raíces) y división celular (número y grosor de las raíces), que han sido descritos previamente entre los mecanismos de acción de dicha sustancia (González-Pérez *et al.*, 2012). Ello se puso de manifiesto en los aumentos significativos de los indicadores vegetativos evaluados. Sobre lo anterior, Izquierdo (2013) en la fase de enraizamiento de este mismo cultivar, refirió que la inclusión de Pectimorf® como sustituto del AIA en el medio de cultivo MS a razón de 5 mg l⁻¹ tributó a un 100% de supervivencia y de enraizamiento de las plantas. Los resultados de este trabajo indicaron que es posible reducir aún más la concentración de este regulador del crecimiento y todavía sustituir el AIA en el medio de cultivo.

El efecto de la adición de Pectimorf® en el medio de cultivo de enraizamiento también se observó en la fase de aclimatización donde no se constataron diferencias significativas de las variables evaluadas a las plantas que se

enraizaron en presencia de 2 mg l⁻¹ con el control AIA. Sin embargo, otros autores han informado incrementos en los porcentajes de enraizamiento y en los valores de otras variables evaluadas con este regulador. Por ejemplo, Cid *et al.* (2006) indicaron la influencia del Pectimorf® sobre la calidad de la semilla artificial de caña de azúcar (*Saccharum* spp.), donde incrementó el porcentaje de supervivencia de las plantas *in vitro* al pasar a la fase de aclimatización.

De igual forma, Izquierdo *et al.* (2009) realizaron la imbibición de raíces de plantas *in vitro* de banano (*Musa* spp.) cv. 'FHIA-18' durante 15 minutos en Pectimorf® a diferentes concentraciones (1.0, 5.0 y 10.0 mg l⁻¹) antes de su plantación y la aspersión foliar, 15 días después, incrementó la supervivencia de las plantas en un 8.0% con respecto al control AIA.

La adición de Pectimorf® 2 mg l⁻¹ al medio de cultivo también influyó sobre los valores de altura de las plantas, número de hojas y grosor del pseudotallo, sin diferencias con el control AIA. Estos resultados corroboraron el resultado de la fase de enraizamiento de que el regulador del crecimiento AIA puede ser sustituido por esta sustancia bioactiva a esa concentración.

CONCLUSIONES

La incorporación en el medio de cultivo MS de Pectimorf® a razón de 2.0 mg l⁻¹ es una alternativa factible en el enraizamiento de las plantas *in vitro* con un efecto residual favorable en la aclimatización de las plántulas de 'FHIA-18'.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada gracias al proyecto de colaboración internacional Fomento de la agricultura urbana y periurbana para la producción de alimentos en la provincia Granma, República de Cuba, financiado por la Diputación Foral de Bizkaia y la asociación Euskadi-Cuba.

REFERENCIAS

Cid M, González-Olmedo JL, Lezcano Y, Nieves N (2006) Influencia del Pectimorf® sobre la calidad de la semilla artificial de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). Cultivos Tropicales 27(1): 25-31

- Falcón AB, Cabrera JC (2007) Actividad enraizadora de una mezcla de oligogalacturónidos en pecíolos de violeta africana (*Saintpaulia ionantha*). Cultivos Tropicales 28 (2): 87-90
- Falcón AB, Costales D, González-Peña D, Nápoles MC (2015) Nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas. Cultivos Tropicales 36: 111-129
- González-Pérez L, Vázquez-Glaría A, Perrotta L, Acosta A, Scriven S A, Herbert R, Cabrera J C, Francis D, Rogers H J (2012) Oligosaccharins and Pectimorf® stimulate root elongation and shorten the cell cycle in higher plants. Plant Growth Regul 68 (2): 211
- Izquierdo H, Núñez M, González M C, Proenza R, Cabrera JC (2009) Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatación de vitroplantas de banano (*Musa* spp.) del clon FHIA-18 (AAAB). Cultivos Tropicales 30(1): 37-42
- Izquierdo H (2013) Empleo de nuevas sustancias como reguladores del crecimiento en la micropropagación del banano (*Musa* spp.) cultivar 'FHIA- 18' (AAAB). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana
- López J (2006) Nueva metodología para el desarrollo de la embriogénesis somática en el cultivar de plátano vianda Navolean (*Musa* spp., grupo AAB). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INIVIT. Santa Clara
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15 (3): 473-497
- Nieves N, Poblete A, Cid M, Lezcano Y, González JL, Cabrera JC (2006) Evaluación del Pectimorf® como complemento del 2,4-D en el proceso de embriogénesis somática de caña de azúcar (*Saccharum* spp). Cultivos Tropicales 27(1): 20-25
- Orellana P (2009) Protocolo para la micropropagación de cultivares de plátanos y bananos empleando la organogénesis convencional. IBP. Santa Clara.
- Pérez L, M Pérez, M I Jiménez, M Jama (2006) Ensayo en fragmentos de hojas de bananos y plátanos (*Musaspp.*) para el estudio a nivel monocíclico de la evolución de los síntomas de la Sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Fitosanidad 10 (1): 3-9
- Suárez L, Savatin D V, Salvi G, De Lorenzo G, Cervone F, Ferrari S (2013) The non-traditional growth regulator Pectimorf is an elicitor of defense responses and protects *Arabidopsis* against *Botrytis cinerea*. Journal of Plant Pathology 95 (1): 177-180
- Statsoft Inc (2011) Statistica for Windows. Release 10.0. Tulsa
- Uzcátegui JP, Hernández Y, Osorio D, Rivas M (2010) Evaluación del comportamiento *in vitro* de ápices de plátano *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón Doble Tallo. Producción Agropecuaria Biotecnología 3(1): 7-12

Recibido: 15-05-2015
Aceptado: 10-09-2015