



EFECTO DEL PECTIMORF® EN EL CULTIVO DE ÁPICES DE PLANTAS *In Vitro* DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz), CLONES 'CMC-40' Y 'SEÑORITA'

Effect of the Pectimorf® in meristem tip *in vitro* culture cassava (*Manihot esculenta* Crantz), clone 'CMC-40' and 'Señorita'

Lorenzo Suárez Guerra[✉] y María M. Hernández Espinosa

ABSTRACT. The development of more efficient and more sustainable methodologies in the material obtaining yuca (*Manihot esculenta* Crantz) *in vitro*, the improvement of the quality of the seed and vegetable material sanitation, are the objectives of this work to evaluate the effectiveness of Pectimorf® (mixture of oligogalacturonides), innocuous and natural substance taken place in Cuba, to be used as possible complement or substitute of the growth regulators used traditionally in the propagating medium of yuca meristem tip. It was demonstrated that Pectimorf® in the means of cultivation, possible to establish *in vitro* of the meristem tip cultivation in yuca clones 'CMC-40' and 'Señorita' and it stimulated the explant growth too. The results contribute to understand the mechanisms of action of this substance and their future application *in vitro* plant resorts in Cuba.

Key words: micropropagation, oligosaccharides, cultivation medium, meristems

RESUMEN. El desarrollo de metodologías más eficientes y sostenibles en la obtención de material *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), favorece al mejoramiento de la calidad de la semilla y el saneamiento del material vegetal, por ello se trazó como objetivo evaluar la efectividad del Pectimorf® (mezcla de oligogalacturónidos), sustancia inocua y natural producida en Cuba, a emplearse como posible complemento o sustituto de los reguladores del crecimiento empleados tradicionalmente en el medio de cultivo para el crecimiento de ápices meristemáticos de yuca. Se demostró que el Pectimorf® en el medio de cultivo, posibilitó el establecimiento *in vitro* de los ápices en clones de yuca 'CMC-40' y 'Señorita' y favoreció el crecimiento de los explantes. Los resultados contribuyen al esclarecimiento de los mecanismos de acción de esta sustancia y su aplicación futura en las unidades de propagación masiva de plantas del país.

Palabras clave: micropropagación, oligosacáridos, medio de cultivo, meristemas

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un cultivo muy versátil, plantado por pequeños campesinos en más de 100 países (1), como alimento, tiene la facilidad de deshidratarse y almacenarse durante varios años (2). La producción mundial de yuca en el año 2012 alcanzó los 282 millones de toneladas, lo que representó un incremento del 7 % con respecto al volumen del 2011. Las perspectivas futuras apuntan a una continua expansión de la producción de yuca, pues continúa siendo un cultivo estratégico para la seguridad alimentaria en el alivio de la pobreza (1).

En Cuba, este cultivo constituye un valioso alimento desde la época de los aborígenes y forma parte del surtido de raíces y tubérculos que el pueblo cubano denomina viandas. Es un componente importante en la dieta tradicional básica de la población; además, en la dieta animal, donde también se emplea su follaje, tanto en los bancos de proteína para la ganadería como en la confección de concentrados para la alimentación de cerdos y aves. Según el Ministerio de la Agricultura (3), la Proyección estratégica (2010- 2015) previó un incremento en superficie y rendimientos del cultivo durante los próximos años. Para cumplir este reto es imprescindible aumentar los volúmenes de semillas demandados por los agricultores cubanos.

Dentro de la estrategia varietal nacional, definida por el Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), se encuentran los clones 'CMC-40' y 'Señorita'. El primero tiene la particularidad de que

Instituto Nacional Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700.

✉ lguerra@inca.edu.cu

su ciclo es corto (de 6-10 meses) y tiene una alta productividad; mientras que el clon 'Señorita' es de ciclo largo, más de 10 meses, pero se destaca por su excelente calidad culinaria.

Este cultivo se propaga vegetativamente y su multiplicación es generalmente tediosa y lenta (4). Los agricultores cubanos han perpetuado esta vianda al utilizar semillas asexuales (estacas o pedazos de tallos) en siembras repetidas, lo que constituye un riesgo, debido a que es posible diseminar plagas^A, por lo que la obtención de material de plantación de alta calidad constituye una necesidad básica para nuestros productores en la expansión del cultivo.

La baja disponibilidad de material certificado de semilla de yuca (*Manihot esculenta* C.) en el país, similar al resto de los cultivos de reproducción agámica, pudiera solucionarse mediante la aplicación de las técnicas de cultivo *in vitro*. Según plantean diferentes autores^B (5, 6), estas ofrecen múltiples ventajas como recuperar el vigor y la productividad de las plantas. De igual forma puede contribuir a la producción de grandes volúmenes de 'semilla' de alta calidad, así como también permite la propagación de plantas libres de virus y de cualquier otro patógeno.

El desarrollo de métodos eficientes y rápidos de regeneración de plantas de yuca mediante el cultivo *in vitro* de tejidos, ya sea por embriogénesis somática^A (7, 8, 9) u organogénesis^{C, D} (10), generalmente resultan exigentes en cuanto a la composición del medio de cultivo, especialmente en lo referente al empleo de reguladores del crecimiento, por lo que sería importante lograr el empleo de productos bioactivos de producción nacional en la propagación *in vitro* de la yuca (*Manihot esculenta* C.), como alternativa para mejorar la eficacia económica del proceso; entre estos productos bioactivos puede citarse el Pectimorf[®], elaborado por el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Mayabeque, Cuba^E.

^A Medero, V. *Embriogénesis somática en yuca (Manihot esculenta Crantz)* [Tesis de Doctorado], Universidad de Ciego de Ávila, 2006.

^B García, G.; Magaly, V. y Rodríguez Morales, S. "Effect of meristem culture micropropagation on the vigor and yield of the cassava clone «Señorita»." [en línea], (eds. Roca, W.M. y Thro, A.M.), *Proceedings of the First International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network*, edit. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cartagena, Colombia, 1993, [Consultado: 8 de septiembre de 2015], Disponible en: <<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.ormato=2&cantidad=1&expresion=mnfn=007899>>.

^C Dawit, B. *Micropropagation of Selected Cassava Varieties (Manihot esculenta Crantz) from Meristem Culture* [Master Science Thesis], Addis-Abeba University, 2009, 36 p.

^D Medero, V.; Rodríguez, S.; Borroto, C.; Gómez, R.; López, J.; de Fera, M.; García, M.; Ventura, J.; del Sol, L.; Cabrera, M.; Pons, C.; Cortés, C.; Martínez, M.; Álvarez, M. y García, J. *Sistema de inmersión temporal para producción intensiva de material de siembra de yuca*, [3], Continente yuquero. Informativo del Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la investigación y Desarrollo de la Yuca (CLAYUCA), 2001, pp. 10-11.

^E Izquierdo, H. *Empleo de nuevas sustancias como reguladores del crecimiento en la micropropagación del banano (Musa spp) clon «FHIA-18» (AAAB)* [Tesis de Doctorado], Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Mayabeque, Cuba, 2013, 87 p.

El Pectimorf[®] es un producto natural e inocuo, constituido por una mezcla de oligosacáridos biológicamente activos, obtenidos a partir de la pectina cítrica, cuyo principio activo es una mezcla de α -1,4-oligogalacturónidos con grado de polimerización (GP) entre 9 y 16 (11). Es considerado un potente elicitador de defensa en plantas (12, 13) y estimulante del crecimiento y diferenciación celular de diferentes especies vegetales^E (14).

La respuesta de esta mezcla de oligogalacturónidos (OG), cuyo efecto es similar al de las auxinas o citoquininas, puede estar dada principalmente al balance hormonal del explante y de la composición de reguladores del crecimiento en el medio de cultivo; además, regulan entre otros procesos, la interacción entre auxinas, citoquininas, giberelinas y etileno, lo cual valida a esta sustancia como una alternativa promisoriosa en la biotecnología vegetal cubana (15, 16).

Sin embargo, hasta el momento no se conoce el efecto que provoca el Pectimorf[®] en el cultivo *in vitro* de ápices meristemáticos de yuca (*Manihot esculenta* C.), clones 'CMC-40' y 'Señorita', es posible la sustitución total o parcial de ANA (ácido naftalenacético) y 6-BAP (6-bencilaminopurina), reguladores empleados tradicionalmente en los medios de cultivo para esta etapa, por el Pectimorf[®].

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Genética y Mejoramiento de Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado en el municipio San José de Las Lajas, provincia Mayabeque.

MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron dos clones procedentes del banco de germoplasma cubano de yuca, perteneciente al Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Santo Domingo, Villa Clara, con características contrastantes en cuanto a ciclo, productividad y otros caracteres morfoagronómicos.

CARACTERÍSTICAS DEL CLON 'CMC-40'

Plantas de porte semi-erecto, con más de dos ramificaciones. Tallos de color marrón oscuro, follaje joven verde-rojizo, pecíolos rojos, hojas adultas verdes, hojas jóvenes rosadas, hojas 5-7 lóbulos simples, pecíolos inclinados hacia arriba, de forma irregular. Posee más de 10 raíces por planta, de superficie rugosa y crecimiento oblicuo, sésiles, cónicas o cilíndricas, de color castaño oscuro la película externa, corteza rosada y pulpa blanca. Dentro de sus principales características se destacan su alta productividad y ciclo corto (de 6-10 meses).

CARACTERÍSTICAS DEL CLON 'SEÑORITA'

Plantas de porte erecto, no ramificadas o poco ramificadas. Tallo muy vigoroso y de entrenudos cortos. Tallo verde amarillo, con yemas de color amarillo-rosado, hojas verdes con los nervios y pecíolos ligeramente rosados en adultas, en las hojas jóvenes los pecíolos son rojos por la parte superior y verde-rojo por la parte inferior. Posee raíces cortas y de color blanco, cada planta produce un promedio de 8–12, bastante superficiales, lo cual facilita la cosecha. El ciclo es largo, más de 10 meses. En este clon se destaca su excelente calidad culinaria.

Se tomaron estacas de 15-20 cm de longitud de plantas adultas de los clones antes mencionados y se plantaron en macetas de 14 cm de diámetro superior y una altura de 10 cm, que contenían un sustrato compuesto por una mezcla en volumen de 25 % de materia orgánica (cachaza descompuesta) y 75 % de suelo Ferralítico Rojo compactado (17), en una relación 1:2 v/v. Los brotes crecieron en umbráculo con estructura metálica, paredes de tela antiáfidos, techo de nylon con cubierta de malla de sombra negra de polipropileno (30 %) y piso de cemento. El riego se realizó periódicamente (dos veces/semana), a fin de mantener la humedad en el sustrato por encima del 85 %.

Cuatro semanas después de la plantación, se cortaron brotes de las estacas de los clones antes mencionados y se dividieron en secciones de 3 a 5 cm de longitud con dos yemas; los que se llevaron al laboratorio.

PREPARACIÓN Y DESINFECCIÓN DE LOS EXPLANTES

Los explantes fueron desinfectados según la metodología propuesta por Medero^A. En la cabina de flujo laminar se extrajo ápices meristemáticos de 0,5-0,7 mm de longitud con el empleo de un estereomicroscopio marca CARLZEISS con aumento de (4X). Posteriormente, los ápices meristemáticos

fueron establecidos en tubos de ensayo (25/150 mm) con 20 mL de medio sólido. Se utilizó el medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962) (18), además tiamina (1 mg L⁻¹), mioinositol (100 mg L⁻¹), sacarosa (20 mg L⁻¹) y agar (6,5 mg L⁻¹) como agente gelificante. Transcurridos 21 días se extrajo el ápice de las plantas *in vitro* obtenidas, de tamaño 0,8-1,0 mm de longitud con el empleo del estereomicroscopio marca CARLZEISS con aumento de (4X). Se utilizó un total de 15 explantes por tratamiento para cada cultivar.

Fueron empleadas diferentes concentraciones de Pectimorf[®] como sustituto y complemento de los reguladores del crecimiento ANA (ácido naftalenacético) y 6-BAP (6- bencilaminopurina) empleados en el medio control para el crecimiento y desarrollo de ápices meristemáticos de yuca. Se mantuvo en todos los casos el Ácido giberelico (AG₃) para facilitar la elongación de los segmentos nodales. La Tabla I muestra las características de cada tratamiento.

REGULADORES DEL CRECIMIENTO

- ♦ Ácido naftalenacético (ANA): reactivo procedente de Merck
- ♦ Ácido giberelico (AG₃): reactivo procedente de Merck
- ♦ 6 bencilaminopurina (6-BAP): reactivo procedente de Merck
- ♦ Pectimorf[®]: procedente del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Mayabeque, Cuba.

CONDICIONES DE CULTIVO

La esterilización se llevó a cabo en autoclave, durante 20 minutos a 121 °C con 1.5 atmósferas de presión. El material vegetal fue colocado en cámaras de cultivo con temperatura de 25 ± 2 °C, humedad relativa de 80-90 % y luz artificial con un fotoperiodo de 16 horas luz, con una intensidad luminosa de 18,75 μmol m⁻² s⁻¹.

Tabla I. Tratamientos empleados para el establecimiento *in vitro* de ápices de yuca (*Manihot esculenta* C.), clones 'CMC-40' y 'Señorita'.

Tratamientos	ANA (mg L ⁻¹)	AG ₃ (mg L ⁻¹)	BAP (mg L ⁻¹)	Pectimorf [®] (mg L ⁻¹)
1 (control)	0,02	0,05	0,04	-
2	-	0,05	-	-
3	-	0,05	0,04	5
4	-	0,05	0,04	10
5	-	0,05	0,04	15
6	0,02	0,05	-	5
7	0,02	0,05	-	10
8	0,02	0,05	-	15
9	0,02	0,05	0,04	5
10	0,02	0,05	0,04	10
11	0,02	0,05	0,04	15
12	-	0,05	-	5
13	-	0,05	-	10
14	-	0,05	-	15

El pH de los medios de cultivo fue ajustado a 5,7 en todos los casos, previo a la adición del Agar.

Al cabo de los 21 días se realizaron las siguientes observaciones: altura (cm), se midió con una regla graduada desde la base del tallo hasta la parte superior del follaje; número de hojas: se realizó un conteo individual de las hojas por vitroplanta; número de raíces: se contó el número de raíces totales por vitroplanta; coloración de los brotes: se determinó con la ayuda del código de colores hexadecimal^F.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 explantes por tratamiento, los experimentos se repitieron dos veces en tiempo y los datos obtenidos de las observaciones altura, número de hojas y raíces fueron procesados estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA completamente aleatorizado) y las medias se compararon según la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS sobre Windows (19). En todos los casos, previamente se chequeó la distribución normal y la homogeneidad de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la primera semana de establecidos, se observaron algunas alteraciones en el color y la morfología de los ápices en los tratamientos donde se empleó el Pectimorf®, presumiblemente debido al aumento de la velocidad de crecimiento o división celular en esta primera fase. A pesar de ello, los ápices presentaron una coloración verde lima (32CD32) y a partir de los restantes días continuaron su crecimiento normalmente.

Como se observa en la Tabla II hubo diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando una respuesta diferenciada de las variables en ambos clones. En cuanto a la altura de las vitroplantas, en el clon 'CMC- 40', el tratamiento 3, con 5 mg L⁻¹ de Pectimorf® en sustitución de ANA, donde alcanzó el mayor valor de altura de 2,88 cm sin diferencias significativas con el control que contenía ANA y BAP, ni de los tratamientos 6 y 7 donde se añadió el Pectimorf® a 5 y 10 mg L⁻¹ respectivamente en presencia de ANA y sustitución del BAP. Los resultados indican que el producto logró compensar el efecto de la auxina (ANA) en ausencia de esta en el medio; sin embargo, no se produjo un efecto depresivo (antagónico) marcado cuando estuvo presente.

En el clon 'Señorita' los máximos valores de altura se obtuvieron en los tratamientos 6 y 7, donde se empleó el Pectimorf® en presencia de ANA y AG₃ a las concentraciones de 5 y 10 mg L⁻¹, los cuales no difirieron estadísticamente entre ellos y alcanzaron valores por encima de los 2 cm de altura;

ambos tratamientos no difirieron del tratamiento control, tratamiento 3 (6-BAP + 5 mg L⁻¹ Pectimorf®) y del tratamiento donde se empleó el Pectimorf® en presencia de ANA a la concentración de 15 mg L⁻¹. En este caso fue necesaria la presencia de ANA + Pectimorf®, donde el producto tuvo un efecto similar a las citoquininas al suplir la ausencia de BAP y estimular el crecimiento de los ápices de yuca.

El efecto de las citoquininas en el crecimiento y la morfogénesis *in vitro* es importante pues se considera que si la relación auxina/citoquinina en el medio de cultivo es baja, favorece la formación de tallos y lo contrario promueve el enraizamiento (20, 21). Este balance está determinado por las concentraciones endógenas de auxinas y citoquininas presentes en el explante. Usualmente en los ápices la citoquinina endógena es baja debido a que el principal sitio de síntesis son las raíces, por lo que la adición exógena en el medio de cultivo favorece el crecimiento de los meristemas.

Para este carácter podemos plantear que el tratamiento 3, donde se sustituyó el ANA por 5 mg L⁻¹ Pectimorf® fue capaz de estimular el crecimiento de los meristemas en 'CMC-40'; aunque sin diferir de otros; sin embargo, el clon 'Señorita' requirió la presencia de la auxina y concentraciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Pectimorf® tratamiento^B (5), lo que hace pensar que el contenido endógeno de auxinas en este clon es inferior, por lo que se necesita su adición exógena para lograr el balance apropiado para el crecimiento de los ápices.

Para el número de hojas, en el clon 'CMC-40', cuando se utilizó el Pectimorf® en la concentración de 15 mg L⁻¹ de Pectimorf®, en presencia de ambos reguladores, las vitroplantas alcanzaron 5,5 hojas sin diferenciarse estadísticamente del tratamiento 3 (en ausencia de ANA y 5 mg L⁻¹ de Pectimorf®), pero sí del resto de los tratamientos. Las hojas desarrolladas en el tratamiento 3, tenían una coloración verde bosque (228B22), lo cual no ocurrió en el tratamiento 11 (ANA, BAP, AG₃ y 15 mg L⁻¹ de Pectimorf®), ya que estas fueron de color amarillo (FFFF00). Es muy probable que haya ocurrido un desbalance hormonal que trajo consigo alteraciones en la síntesis de pigmentos relacionados con la clorofila.

En el clon 'Señorita', los máximos valores en cuanto al número de hojas se obtuvieron en los tratamientos 6, 7 y 14, los cuales no difirieron estadísticamente entre ellos, ni con el resto de los tratamientos empleados excepto del tratamiento 2, correspondiente al medio sin reguladores del crecimiento (ANA, BAP) ni Pectimorf®, en el cual las hojas tenían un color amarillo (FFFF00) también presente en los tratamientos 9, 10 y 11. En el resto de los tratamientos las hojas fueron de color verde primavera (00FF7F).

^FNombres de colores hexadecimales [en línea], [Consultado: 20 de septiembre de 2015], Disponible en: <<http://www.disfrutalasmaticas.com/numeros/hexadecimales-colores-nombres.html>>.

Tabla II. Efecto del Pectimorf® sobre variables morfológicas de ápices *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* C.), clones 'CMC-40' y 'Señorita' cultivados durante 21 días (n=20).

Tratamientos	CMC- 40				Señorita			
	Altura (cm)	Número de hojas	Número de raíces	Color	Altura (cm)	Número de hojas	Número de raíces	Color
1 (Control)	2,00 ab	2,8 bc	2,8 abc	verde bosque (228B22)	1,12 ab	2,0 ab	1,8 ab	verde bosque (228B22)
2	0,76 b	1,66 c	1,4 bc	amarillo (FFFF00)	0,42 b	1,0 b	0,2 d	amarillo (FFFF00)
3	2,88 a	4,0 ab	4,75 a	verde bosque (228B22)	1,34 ab	3,2 ab	3,2 ab	verde bosque (228B22)
4	0,77 b	2,0 c	1,80 bc	verde bosque (228B22)	0,6 b	2,2 ab	1,0 bc	verde lima (32CD32)
5	0,85 b	2,0 c	0,75 bc	verde bosque (228B22)	0,4 b	1,8 ab	0,4 cd	verde lima (32CD32)
6	2,12 ab	2,60 bc	3,6 ab	verde lima (32CD32)	2,08 a	3,6 a	2,4 ab	verde lima (32CD32)
7	2,37 ab	2,75 bc	3,5 ab	amarillo verde (ADFF2F)	2,18 a	3,6 a	4,0 a	verde lima (32CD32)
8	1,02 ab	2,5 bc	1,5 bc	amarillo verde (ADFF2F)	1,10 ab	2,6 ab	3,4 ab	verde lima (32CD32)
9	1,20 ab	4,0 ab	3,0 abc	amarillo (FFFF00)	0,8 b	2,6 ab	3,0 ab	amarillo (FFFF00)
10	1,35 ab	4,0 ab	3,5 ab	amarillo (FFFF00)	0,64 b	3,0 ab	2,2 ab	amarillo (FFFF00)
11	1,17 ab	5,5 a	2,0 abc	amarillo (FFFF00)	0,72 b	2,0 ab	1,6 ab	amarillo (FFFF00)
12	0,72 b	2,0 c	1,0 bc	verde bosque (228B22)	0,66 b	1,6 ab	2,0 ab	verde bosque (228B22)
13	1,02 ab	2,25 bc	1,2 bc	verde bosque (228B22)	0,76 b	1,8 ab	1,8 ab	verde bosque (228B22)
14	1,22 ab	1,75 c	0,4 c	verde bosque (228B22)	0,56 b	3,4 a	2,4 ab	verde bosque (228B22)
ES	0,41*	0,40**	0,59**		0,43*	0,46**	0,58***	

Tratamiento 1: ANA+AG₃+BAP, tratamiento 2: sin presencia de reguladores (ANA; BAP)+AG₃, tratamiento 3: AG₃+BAP+5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 4: AG₃+BAP+10 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 5: AG₃+BAP+15 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 6: ANA+AG₃+5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 7: ANA+AG₃+10 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 8: ANA+AG₃+15 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 9: ANA+AG₃+BAP+5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 10: ANA+AG₃+BAP+10 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 11: ANA+AG₃+BAP+15 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 12: AG₃+5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 13: AG₃+10 mg L⁻¹ Pectimorf® y tratamiento 14: AG₃+15 mg L⁻¹ Pectimorf®. Medias con letras distintas difieren estadísticamente, según la prueba de Duncan (p≤0,05) (* significativo para p<0,1; **significativo para p<0,01; ***significativo para p<0,001).

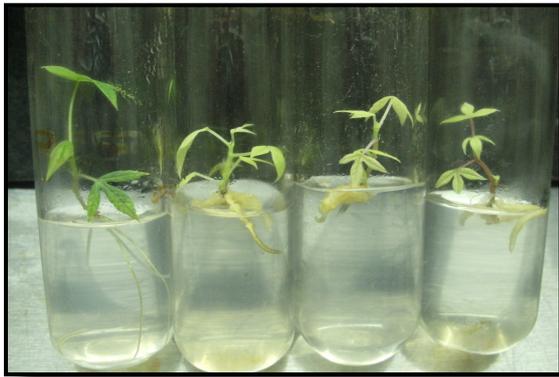
En el clon 'CMC-40' el mejor tratamiento para el número de raíces fue el 3, que contenía 6-BAP y 5 mg L⁻¹ Pectimorf®, sin diferencias significativas con el control ni con los tratamientos 6, 7, 9, 10 y 11 que contenían ANA y 5 y 10 mg L⁻¹ de Pectimorf® respectivamente, en el caso de los dos primeros y ANA y BAP con 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de Pectimorf® en el caso de los tres últimos. Al parecer, esta variable no dependió de las concentraciones exógenas para la movilización de las auxinas en la formación de raíces.

En el número de raíces para el clon 'Señorita' el mayor valor fue el tratamiento 7, con ANA y 10 mg L⁻¹ de Pectimorf®, sin diferencias significativas con los tratamientos que contenían 0,02 mg L⁻¹ de ANA

en todas las concentraciones de Pectimorf®, ni del tratamiento control en presencia de ANA y BAP y de los tratamientos 12, 13 y 14 sin ANA y BAP con las otras concentraciones de Pectimorf®.

Se observó que las concentraciones ensayadas de este producto contribuyeron, en gran medida, al desarrollo del sistema radicular.

En la Figura 1, se observa un engrosamiento de las raíces, lo cual podría ocurrir producto del desbalance hormonal auxina/citoquinina, que pudo producir un exceso en los niveles endógenos del explante y al interactuar con el AG₃ influyó en el engrosamiento de este órgano en ambos clones, este suceso no ocurrió en el resto de los tratamientos.



La imagen es significativa para el clon 'Señorita'. (de izquierda a derecha tratamiento control, tratamiento 9: 0,02 mg L⁻¹ ANA+0,05 mg L⁻¹ AG₃+ 0,04 mg L⁻¹ 6-BAP+ 5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 10: 0,02 mg L⁻¹ ANA+0,05 mg L⁻¹ AG₃+ 0,04 mg L⁻¹ 6-BAP+ 10 mg L⁻¹ Pectimorf® y tratamiento 11: 0,02 mg L⁻¹ ANA+0,05 mg L⁻¹ AG₃+ 0,04 mg L⁻¹ 6-BAP+ 15 mg L⁻¹ Pectimorf®).

Figura 1. Efecto del Pectimorf® como complemento de ANA y 6-BAP sobre el crecimiento de ápices de yuca (*Manihot esculenta* C.), clon CMC-40 a los 21 días de cultivo.

La rizogénesis *in vitro* es un proceso complejo en el que se debe profundizar, ya que influyen múltiples factores entre los que se encuentran la composición del medio de cultivo y el origen del explante inicial (especie, genotipo y edad fisiológica).

Al parecer la rizogénesis es un proceso menos afectado en la yuca por la presencia de reguladores en el medio de cultivo, ya que en los tratamientos donde se empleó Pectimorf® como sustituto total de los reguladores ANA y BAP^D (7, 10) se obtuvieron los peores resultados en el clon 'CMC-40'; sin embargo, la ausencia de dichos reguladores afectó en menor medida al clon 'Señorita', ya que estos tratamientos obtuvieron medias superiores al clon 'CMC-40', fundamentalmente en las concentraciones 10 y 15 mg L⁻¹ Pectimorf® y la coloración fue verde bosque (228B22) (Figura 2). En esta figura se observa que la coloración de las hojas fue amarillo (FFFF00) para ambos clones en el tratamiento 2, correspondiente al medio libre de los reguladores del crecimiento ANA y 6-BAP y sin Pectimorf, al parecer la presencia de AG₃ no es suficiente para activar los mecanismos fisiológicos que promuevan una respuesta en la formación de algunos pigmentos de las hojas, como sobre la altura de los brotes.

La acción de las giberelinas va dirigido principalmente sobre el crecimiento de los entrenudos, eliminar la dormancia de yemas y semillas, inducir y acelerar la floración e intervenir en la tuberización (22, 23).

Sin embargo, otros autores demostraron un efecto sinérgico del Pectimorf® con AIA (24), que repercutió en el incremento del porcentaje de germinación de cápsulas

de semilla artificial de caña de azúcar, sin reacción en la interacción del oligosacárido con la giberelina, aunque en el tratamiento donde se combinaron el Pectimorf® con ambos reguladores del crecimiento (AIA y GA₃) fue donde se logró el mayor número de plantas.



La imagen es significativa para el clon 'Señorita'. (de izquierda a derecha tratamiento control, tratamiento 2: libre de reguladores del crecimiento ANA y 6-BAP, excepto 0,05 mg L⁻¹ AG₃, tratamiento 12: 5 mg L⁻¹ Pectimorf®, tratamiento 13: 10 mg L⁻¹ Pectimorf® y tratamiento 14: 15 mg L⁻¹ Pectimorf®).

Figura 2. Efecto del Pectimorf® como sustituto total hormonal de auxinas y citoquininas sobre el crecimiento de ápices de yuca (*Manihot esculenta* C.). cv 'CMC-40' de 21 días de cultivo.

En el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* C.) son numerosos los autores que emplean como reguladores del crecimiento en los protocolos de micropropagación, la auxina ácido naftalenacético (ANA) y la citoquinina bencilaminopurina (6-BAP), para lograr una mayor eficiencia del proceso (9, 10).

Los oligogalacturónidos también se emplean en diferentes procesos biotecnológicos como: crecimiento de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.) (24), cultivo de embriones de *Citrus macrophylla* W^G, cultivo de brotes de malanga (*Colocassia* spp) (25), formación de callos embriogénicos de mandarina 'Cleopatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan) (16) y ápices meristemáticos de bananos (*Musa* spp.)^E.

Son numerosos los trabajos que corroboran que Pectimorf® ejerce un efecto similar al de las auxinas, en el establecimiento *in vitro* de yemas de boniato (*Ipomea batata* L.) (26), quienes emplearon Pectimorf® (10 mg L⁻¹) en sustitución de ácido indol-3-acético (0,05 mg L⁻¹) y ácido giberélico (10 mg L⁻¹), donde fue posible el crecimiento de las yemas en todas las concentraciones empleadas de Pectimorf®.

^G Bao, L. Efecto del Pectimorf y diferentes brasinosteroides en la embriogénesis somática de *Citrus macrophylla* Wester [Tesis de Grado], Universidad de La Habana, La Habana, Cuba, 2009, 57 p.

En caña de azúcar (*Sacharum* spp.), en la fase de histodiferenciación de callos el mayor número de embriones y la mayor sincronía ocurrió en aquellas combinaciones en las cuales el 2,4-D se redujo a la mitad y a la concentración de 5 mg L⁻¹ del oligosacárido (27).

En la propagación *in vitro* del *Spathiphyllum* spp. (14) se observó que el tratamiento consistente en la reducción del 6-BAP a la mitad de la concentración a utilizar en el medio control (0,5 mg L⁻¹) y la adición de 10 mg L⁻¹ de Pectimorf® produjo la mayor cantidad de brotes en las plantas.

En el cultivar 'CMC-40' la inclusión del Pectimorf® a la concentración más baja (5 mg L⁻¹) en sustitución del ANA (0,02 mg L⁻¹), combinado con la citoquinina (6-BAP) (0,04 mg L⁻¹) resultó superior en altura, número de hojas y raíces, aunque sin diferencias del control; sin embargo, en el clon 'Señorita', se requirió la presencia del ANA (0,04 mg L⁻¹) y concentraciones de 5 y 10 mg L⁻¹ de Pectimorf® para alcanzar los mejores resultados de altura, número de hojas y raíces e incluso estos tratamientos repercutieron sobre el color de las hojas, lo cual evidenció que resultarían suficientes para promover la formación de pigmentos en las hojas. Teniendo en cuenta que, entre ambos tratamientos, en el caso de este clon no hubo diferencias significativas, pudiéramos emplear 5 mg L⁻¹ de Pectimorf® con 0,02 mg L⁻¹ ANA. Esta diferencia en el comportamiento de ambos clones, hace pensar que el contenido endógeno de auxinas en 'Señorita' fue inferior, por lo que resultó necesaria la adición exógena del Pectimorf® en presencia de esta en el medio para igualar los valores de los indicadores.

De estos resultados, es necesario resaltar que el empleo del Pectimorf® favoreció el establecimiento *in vitro* de ápices de yuca (*Manihot esculenta* C.) en los clones 'CMC-40' y 'Señorita'; sin embargo, su efecto no fue idéntico en ambos clones, lo cual demuestra la influencia del genotipo a la hora de establecer modificaciones en cualquier metodología, principalmente cambios en los reguladores del crecimiento y sus concentraciones en los medios de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer al Departamento de Fisiología y Bioquímica, en especial a la Dra. Inés M. Reynaldo Escobar del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), provincia Mayabeque por facilitar el Pectimorf® y a la Tec. Miladys Sánchez Quintana, por ayudar en el montaje de los experimentos desarrollados en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ghanem, H. *The state of food insecurity in the world*. [en línea], (eds. Dawe, D., Stamoulis, K., y Wiebe, K.), edit. Electronic Publishing Policy and Support Branch Communication Division FAO, Rome, Italy, 2009, ISBN 978-92-5-106288-3, [Consultado: 8 de septiembre de 2015], Disponible en: <<http://www.fao.org/docrep/012/i0876e/i0876e00.htm>>.
- Nassar, N.M.A.; Junior, O.P.; Sousa, M.V. y Ortiz, R. "Improving Carotenoids and Amino-Acids in Cassava", *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, vol. 1, no. 1, 1 de enero de 2009, pp. 32-38, ISSN 2212-7984, 1876-1429.
- Pérez, J.L. "Proyección Estratégica hasta el 2015", *Programa Integral de los Cultivos Varios*, 1.ª ed., edit. Liliana, La Habana, Cuba, 2010, p. 95, ISBN 978-959-7111-55-9.
- Santana, M.A.; Romay, G.; Matehus, J.; Villardón, J.L. y Demey, J.R. "Simple and low-cost strategy for micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz)", *African Journal of Biotechnology*, vol. 8, no. 16, 2009, ISSN 1684-5315, DOI 10.4314/ajb.v8i16.62061, [Consultado: 8 de septiembre de 2015], Disponible en: <<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/62061>>.
- Medero, V.V.; Borroto, C.; Rodríguez, S.; Gómez, R.; López, J.; García, M.; Ventura, J.; Espinosa, J.; Cabrera, M.; Martínez, M.; Torres, M.; Torres, Y.; Álvarez, M. y García, J. "Embriogénesis somática a partir de meristemas axilares en yuca", *Biotechnología Vegetal*, no. 1, 2000, pp. 27-32, ISSN 2074-8647.
- Onuoch, C.I. y Onwubiku, N.J.C. "Micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using different concentration of Benzylaminopurine (BAP)", *Journal of Engineering and Applied Sciences*, vol. 2, no. 7, 2007, pp. 1229-1231, ISSN 1816-949x, 1818-7803.
- Li, H.-Q.; Sautter, C.; Potrykus, I. y Puonti-Kaerlas, J. "Genetic transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz)", *Nature Biotechnology*, vol. 14, no. 6, junio de 1996, pp. 736-740, ISSN 1087-0156, DOI 10.1038/nbt0696-736.
- Medina, R.D.; Faloci, M.M.; Neffa, V.S. y Mroginski, L.A. "Embriogénesis somática y regeneración de plantas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) de cultivares de interés para Argentina", *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, vol. 32, no. 3, 2003, pp. 143-160, ISSN 0325-8718, 1669-2314.
- Ochoa, J.C.; Chavarriaga, P.; López, C. y others "Embriogénesis somática y producción de callo embriogénico friable de dos cultivares de yuca (*Manihot esculenta* Crantz)", *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 14, no. 2, 2012, pp. 20-27, ISSN 0123-3475.
- Mapayi, E.F.; Ojo, D.K.; Oduwaye, O.A. y Porbeni, J.B.O. "Optimization of In-Vitro Propagation of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Genotypes", *Journal of Agricultural Science*, vol. 5, no. 3, 2013, p. 261, ISSN 1916-9760, DOI 10.5539/jas.v5n3p261.
- Cabrera, J.; Iglesias, R. y Hormaza, J. *Procedimiento de obtención de una mezcla de oligosacáridos pépticos estimuladora del enraizamiento vegetal*, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba, no. 155, 2003.

12. Hernández-Mata, G.; Mellado-Rojas, M.E.; Richards-Lewis, A.; López-Bucio, J.; Beltrán-Peña, E. y Soriano-Bello, E.L. "Plant Immunity Induced by Oligogalacturonides Alters Root Growth in a Process Involving Flavonoid Accumulation in *Arabidopsis thaliana*", *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 29, no. 4, 30 de mayo de 2010, pp. 441-454, ISSN 0721-7595, 1435-8107, DOI 10.1007/s00344-010-9156-x.
13. Galletti, R.; Ferrari, S. y Lorenzo, G.D. "Arabidopsis MPK3 and MPK6 Play Different Roles in Basal and Oligogalacturonide- or Flagellin-Induced Resistance against *Botrytis cinerea*", *Plant Physiology*, vol. 157, no. 2, 1 de octubre de 2011, pp. 804-814, ISSN, 1532-2548, DOI 10.1104/pp.111.174003, [PMID: 21803860].
14. Hernández, M.M.; Suárez, L. y Valcárcel, M. "Empleo del Pectimorf en la micropropagación de *Spathiphyllum* sp.", *Cultivos Tropicales*, vol. 30, no. 3, septiembre de 2009, pp. 56-58, ISSN 0258-5936.
15. Hernández, A.; Ascanio, M.O.; Morales, M. y León, A. *La historia de la clasificación de los suelos de Cuba*, edit. Félix Varela, La Habana, Cuba, 2006, p. 98, ISBN 959-07-0145-0.
16. Hernández, R.M.; Diosdado, E.; Coll, F. y Cabrera, J.C. "Efecto de los biorreguladores del crecimiento en la embriogénesis somática de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.)", *Cultivos Tropicales*, vol. 31, no. 3, septiembre de 2010, pp. 00-00, ISSN 0258-5936.
17. Hernández, A.; Pérez, J.; Bosch, D. y Castro, N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*, edit. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba, 2015, p. 93, ISBN 978-959-7023-77-7.
18. Murashige, T. y Skoog, F. "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, 1962, pp. 473-497, ISSN 1399-3054.
19. *IBM SPSS Statistics* [en línea], versión 17, [Windows], edit. IBM Corporation, U.S., 2011, Disponible en: <http://www.ibm.com>.
20. Buchanan, B.B.; Gruissem, W. y Jones, R.L. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, 1.^a ed., edit. American Society of Plant Physiologists Rockville, MD, Maryland, USA, 22 de marzo de 2002, p. 1408, ISBN 978-0-943088-39-6.
21. Pernisová, M.; Klíma, P.; Horák, J.; Válková, M.; Malbeck, J.; Souček, P.; Reichman, P.; Hoyerová, K.; Dubová, J.; Friml, J. "Cytokinins modulate auxin-induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, no. 9, 2009, pp. 3609-3614, ISSN 0369-8211, 2250-1746.
22. Bari, R. y Jones, J.D.G. "Role of plant hormones in plant defence responses", *Plant Molecular Biology*, vol. 69, no. 4, 16 de diciembre de 2008, pp. 473-488, ISSN 0167-4412, 1573-5028, DOI 10.1007/s11103-008-9435-0.
23. Lalitha, N.; Kih, S.; Banerjee, R.; Chattopadhyaya, S.; Saha, A.K. y Bindroo, B.B. "High frequency multiple shoot induction and in vitro regeneration of mulberry (*Morus indica* L. cv. S-1635)", *International Journal of Advanced Research*, vol. 1, 2013, pp. 22-26, ISSN 2320-5407.
24. Suárez, L.; Cervone, F.; Hernández, M.M. y Sánchez, M. "Aclimatización de plántulas de yuca (*Manihot esculenta*). Aporte al estudio de los mecanismos de acción de Pectimorf", *IX Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal*, Ciego de Ávila, Cuba, 2013, ISBN 978-959-16-2045-3.
25. Hernández, M.M.; Suárez, L.; Castilla, Y.; González, M.E.; Valcárcel, M. y López, M. "Empleo de una mezcla de oligogalacturonidos en la micropropagación de la malanga (*Colocasia* sp.), var. «Camerum 14»", *XV Congreso Científico del INCA*, edit. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba, 2006, ISBN 959-7023-36-9.
26. González, O.; Falcón, A.; Hernández, M.; Iglesias, R.; Silva, J.J.; López, M.; Rodríguez, J.E.; Arias, L.; Cabrera, J.C. y Oliva, E. "Evaluación del efecto del Pectimorf® en el establecimiento in vitro de yemas axilares de boniato clon CEMSA 78-354", *Biotecnología Vegetal*, vol. 4, no. 2, 2004, pp. 115-119, ISSN 1609-1841, 2074-8647.
27. Cid, M.; González-Olmedo, J.L.; Lezcano, Y. y Nieves, N. "Influencia del Pectimorf sobre la calidad de la semilla artificial de la Caña de azúcar (*Saccharum* sp.)", *Cultivos Tropicales*, vol. 27, no. 1, 2006, pp. 31-34, ISSN 0258-5936, 1819-4087.

Recibido: 5 de enero de 2015

Aceptado: 11 de junio de 2015

¿Cómo citar?

Suárez Guerra, L. y Hernández Espinosa, M. M. "Efecto del Pectimorf® en el cultivo de ápices de plantas *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), clones 'CMC-40' y 'Señorita'" [en línea]. *Cultivos Tropicales*, 2015, vol. 36, no. 4, pp. 55-62. ISSN 1819-4087. [Consultado: ____]. Disponible en: <-----/>.