

Artículo original

## **Aclimatización de plántulas de *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) cultivar 'Mariachi Blue' con un oligogalacturonido**

Marian Rodríguez-Hernández<sup>1</sup> 

Humberto Izquierdo-Oviedo<sup>2\*</sup> 

Lluvia de Abril A. Soriano-Melgar<sup>3</sup> 

Víctor Manuel Calaña-Janeiro<sup>1</sup> 

Idalmis de la Caridad Hernández-Escobar<sup>4</sup> 

Dayne Horta-Fernández<sup>2</sup> 

Rodolfo Guillama-Alonso<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”, carretera a Tapaste y Autopista Nacional, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Saltillo, Coahuila de Zaragoza. México

<sup>4</sup>Unidad Docente “William Soler” de la Universidad Agraria de La Habana (UNAH), carretera Bejucal Quivicán, Quivicán, Mayabeque, Cuba. CP 33 500

\*Autor para correspondencia: [hioviedo@inca.edu.cu](mailto:hioviedo@inca.edu.cu)

### **RESUMEN**

Los oligogalacturónidos son sustancias que regulan el crecimiento y el desarrollo de las plantas y estimulan las respuestas defensivas; sin embargo, no existe información acerca de los efectos que estos compuestos ejercen cuando las plántulas *in vitro* de *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) se transfieren a las condiciones *ex vitro*, por lo que se llevó a cabo un experimento con el objetivo de evaluar la influencia de un oligogalacturonido de origen péctico (mOLG) en las plántulas de *Lisianthus* cultivar ‘Mariachi blue’ durante la fase de aclimatización. Los tratamientos consistieron en la aspersión foliar de las plántulas en el momento del trasplante y 15 días después del mismo, a razón de 2 mgL<sup>-1</sup>

de AIA; 1, 5 y 10 mgL<sup>-1</sup> de la mOLG y se utilizó un tratamiento control en el que no se realizó aspersion foliar. Se evaluaron variables morfológicas: altura y número de hojas por planta y, fisiológicas: masa fresca y seca de la planta, contenido relativo de agua (CRA) y fotosíntesis. El experimento se realizó mediante un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA simple y las medias entre los tratamientos se procesaron mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Las plántulas asperjadas con la mOLG (1 mgL<sup>-1</sup>), alcanzaron la mayor altura (9,37 cm), el número de hojas osciló entre 9-10 y las que se trataron con la mOLG (10 mgL<sup>-1</sup>), presentaron mayor masa fresca; sin embargo, las plántulas tratadas con la mOLG (1 mgL<sup>-1</sup>), alcanzaron mayor masa seca (0,209845 g), CRA (90,75 %) y, fotosíntesis (12,873  $\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Existe potencial para el cultivo de esta flor de corte en Cuba.

**Palabras clave:** adaptación, bioestimulador del crecimiento, fisiología, flores, supervivencia

Recibido: 11/12/2019

Aceptado: 16/11/2020

## INTRODUCCIÓN

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery), pertenece a la familia *Gentianaceae*, es una planta herbácea bienal, cultivada como anual, de tallo erecto, con follaje y flores vistosas <sup>(1)</sup>. Es una planta ornamental de corte, nativa de los estados del Norte de México y el sur de Estados Unidos. Actualmente, se cultiva principalmente en Japón, Europa y Estados Unidos debido a la gran diversidad de flores y alta productividad que presenta <sup>(2)</sup>. Su hábitat natural le permite adaptarse a condiciones de baja humedad relativa y temperaturas, hasta cierto punto, extremas; crece a lo largo del cauce de ríos y arroyos, donde siempre tiene acceso al agua <sup>(3)</sup>.

El interés de la producción de esta especie se relaciona con la gran diversidad de flores y su elevada productividad <sup>(4)</sup>. Lisianthus es un cultivo floral relativamente nuevo en el mercado internacional; sin embargo, se ha ubicado rápidamente entre las principales flores de corte a nivel global. En el año 2012 en Estados Unidos y Taiwán se comercializaron entre 10 y 14,9 millones de tallos de Lisianthus, respectivamente. En el año 2008, en Japón se comercializaron 23,4 millones de tallos de esta especie; además, se debe destacar que Lisianthus ocupó el tercer lugar entre las especies ornamentales por superficie sembrada (435 ha) y en ese mismo año, en Taiwán se ubicó en el sexto lugar, también por superficie sembrada (130 ha), mientras que en los Países Bajos alcanzó el décimo lugar (45 ha).

Durante los años 2017 y 2018, se ha continuado incrementado la superficie de siembra de esta especie ornamental por su elevado potencial productivo y para su comercialización <sup>(5)</sup>.

Según estudios realizados <sup>(6)</sup>, la propagación por semillas de las plantas de *Lisianthus* es complicada y difícil, debido a la lenta germinación y crecimiento. Además, las poblaciones de plántulas que se obtienen son variables con respecto al tiempo de floración, la longitud del tallo y las cualidades de las flores. La propagación vegetativa de cultivares seleccionados puede proporcionar una alternativa útil a la propagación de semillas.

Por lo tanto, la micropropagación sirve como una potente herramienta para desarrollar un método de propagación rápida de genotipos seleccionados de *Lisianthus*. La multiplicación clonal de estas flores de corte, especialmente a través del cultivo de tejidos, puede proporcionar una alternativa útil a la propagación por semillas, por lo que se obtiene material de plantación de mejor calidad. La multiplicación *in vitro* de genotipos élites ofrecen la oportunidad para multiplicar gran cantidad de material de siembra libre de enfermedades y vigoroso en el menor tiempo posible <sup>(6)</sup>.

La introducción en Cuba, a través del intercambio de germoplasma resulta de gran importancia, ya que contribuye a incrementar la diversidad de flores de corte, una vez que se tenga una metodología para su multiplicación. Por otra parte, se abrirían nuevos horizontes para la investigación en la fisiología y mejoramiento genético para las condiciones edafoclimáticas del país.

Una vez finalizada la propagación *in vitro* de las plántulas es imprescindible la adaptación de las mismas a las condiciones ambientales *ex vitro* no controladas, tanto en casa de cultivo como en condiciones de campo; esta fase se conoce como aclimatización. Las plantas deben aclimatizarse desde el punto de vista morfológico y fisiológico después de su transferencia del cultivo *in vitro* a las condiciones *ex vitro*; es decir, que cambian su metabolismo heterotrófico o mixotrófico al autótrofo <sup>(7)</sup>.

Como resultado del ambiente *in vitro*, las plantas presentan una anatomía y fisiología diferente a las que son cultivadas en condiciones de campo o casas de cultivo <sup>(8)</sup>. Los desórdenes observados afectan todos los órganos de la planta, aunque no todos tienen el mismo peso sobre el comportamiento *ex vitro*. Dentro de estos desórdenes se encuentran el pobre desarrollo del aparato fotosintético, de la cutícula de las hojas, la emisión de raíces no funcionales sin conexión con los haces conductores y otros más que pueden afectar la supervivencia de las plantas en la fase de aclimatización <sup>(9)</sup>.

La introducción de sustancias activas de producción nacional en la metodología de regeneración *in vitro* de plantas de *Lisianthus*, pudiera constituir una alternativa para mejorar el enraizamiento y aclimatización *ex vitro* de las plántulas.

De las sustancias bioactivas de mayor uso en la actualidad se encuentra el bioestimulador del crecimiento de producción nacional llamado Pectimorf<sup>®</sup>, que es mezcla de (1-4)  $\alpha$ -D-oligogalacturónidos, con grado de polimerización de entre 9 y 16 <sup>(10,11)</sup>. El mismo ha sido estudiado en cultivos como papaya (*Carica papaya* L.), cultivar “Maradol roja” (16) y ajo (*Allium sativum* L.), clon ‘Criollo-9’ (17), con resultados favorables. Puede resultar una alternativa para la propagación *in vitro* de diferentes cultivares de *Lisianthus*, con lo cual se lograría mayor uniformidad de las plántulas y se alcanzaría un mayor vigor y supervivencia de las mismas durante la fase de aclimatización.

Por todo lo antes expuesto el objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de un oligogalacturonido de origen péptico (mOLG) en vitroplantas de *Lisianthus* cultivar ‘Mariachi blue’ durante la fase de aclimatización.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Cuba.

### Material vegetal

Se emplearon plántulas *in vitro* de *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) cultivar ‘Mariachi blue’ de al menos 3 cm de altura y 4 hojas, provenientes de la fase de multiplicación *in vitro*, obtenidas en un medio de cultivo MS + 6-BAP (2 mgL<sup>-1</sup>) y sin raíces, provenientes del tercer subcultivo, que se realizaron entre los 21-25 días y todas las plántulas *in vitro* procedían del mismo lote de micropropagación.

### Condiciones de cultivo

Las plántulas provenientes del cultivo *in vitro* se plantaron en bandejas plásticas de 40 alvéolos, que tenían una capacidad de 90,0 cm<sup>3</sup> y contenían un sustrato compuesto por materia orgánica (cachaza) y suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico, en una proporción en volumen de 75 y 25 %, respectivamente. El sustrato empleado no se desinfectó. A las plántulas se les garantizó el riego por nebulización en los primeros siete días, durante 2 minutos (9:00 am, 12:00 m y 3:00 pm) para lograr una elevada humedad relativa (90-95 %). Para el sombreo se utilizó una malla negra (70 % de reducción de luz solar). Las características químicas del sustrato se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Características químicas del sustrato empleado para la aclimatización de las plántulas *in vitro* de *Lisianthus (Eustoma grandiflorum (Raf.) Shinners)* cultivar ‘Mariachi blue’

Sustrato	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	Na
	H <sub>2</sub> O	(%)	(ppm)	Cmolkg <sup>-1</sup>			
Cachaza: Suelo (75 %: 25 %)	7,0	13,93	2640	4,71	29,4	8,27	0,49

Los tratamientos se realizaron por aspersión foliar de las plántulas en el momento del trasplante a las bandejas plásticas y 15 días después del trasplante se asperjaron a razón de 2 mL por plántula.

### Tratamientos

- 1- Control (sin aspersión foliar).
- 2- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con AIA (2 mgL<sup>-1</sup>).
- 3- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG (1 mgL<sup>-1</sup>).
- 4- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG (5 mg L<sup>-1</sup>).
- 5- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG (10 mgL<sup>-1</sup>).

### Evaluaciones

A partir de los siete días, se realizaron las diferentes evaluaciones y a los 60 días se tomaron los datos durante la fase de aclimatización. Se evaluó:

- Porcentaje de supervivencia de las plantas: total de explantes vivos que sobrevivieron con respecto al total de explantes, para determinar posteriormente el porcentaje de supervivencia.
- Altura de las plantas (cm): se midió con una regla graduada, desde la base del sustrato hasta la última hoja completamente extendida.
- Porcentaje de enraizamiento de las plantas: total de plantas enraizadas con respecto al total que se trasplantó y posteriormente se determinó el porcentaje de enraizamiento.
- Número de hojas por plantas: se contó el total de hojas y posteriormente se obtuvieron las medias para cada tratamiento.

En el caso de las variables fisiológicas, se tomaron tres plantas al azar provenientes de los diferentes tratamientos y se determinó:

- Masa fresca de las plantas (MFP) (g): se determinó la masa del tallo y las hojas, así como de las raíces (en las plantas que presentaron ese órgano) de las plantas en una balanza analítica marca *SARTORIUS* (Francia)  $\pm 0,001$  g.
- Masa seca de las plantas (MSP) (g): se tomaron plantas, que se colocaron en una estufa marca *MEMMERT* (Alemania) a una temperatura de  $75 \pm 5$  °C durante 72 horas y, posteriormente, se determinó la masa en una balanza analítica marca *SARTORIUS* (Francia), hasta que la masa fuera constante.
- Contenido de clorofilas totales (CCT) (Unidades SPAC): se utilizaron cinco hojas de cada planta. Las mediciones se realizaron en unidades SPAC y se empleó un Medidor de Clorofila Minolta *SAPD-502 Plus* fabricado en España.
- Contenido Relativo de Agua (CRA) [%]: se determinó en las dos primeras hojas de la planta (hojas más jóvenes), medidas desde el ápice hacia la base de las mismas y con un instrumento de 0,5 cm de diámetro, se extrajeron entre 4-5 discos de la hoja, a los cuales se les determinó la masa y se colocaron en agua destilada por 4 h. Posteriormente, se volvió a determinar la masa y se colocaron en una estufa marca *MEMMERT* (Alemania) a una temperatura de  $75 \pm 5$  °C durante 72 horas y, posteriormente, se determinó la masa en una balanza analítica marca *SARTORIUS* (Francia), hasta que la masa fuera constante. El CRA se calculó con la fórmula:

$$\text{CRA} = [(\text{masa fresca} - \text{masa seca}) / (\text{masa fresca} - \text{masa seca})] \times 100$$

- Fotosíntesis máxima ( $\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ): para las determinaciones se utilizaron hojas totalmente expandidas en la misma posición (hojas uno y dos) contadas desde la base hacia el ápice, a los 60 días. Se realizaron las determinaciones en tres plantas por tratamiento con cinco mediciones en cada una para un total de 15 mediciones. La misma se determinó con el equipo *CIRAS-2* (Sistema Portátil de Fotosíntesis, Reino Unido), acoplado a una cubeta universal *PLC6*. Las mediciones se realizaron siempre entre las 8:30-9:30 am.
- Transpiración total ( $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ): se siguió un procedimiento similar que para determinar la Fotosíntesis máxima.
- Conductancia estomática (CE) ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ): se siguió un procedimiento similar que para determinar la Fotosíntesis máxima.

## Diseño experimental y análisis de los datos

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con 10 plantas por tratamiento. El experimento se repitió tres veces. Los datos se procesaron mediante Análisis de Varianza de Clasificación Simple (ANOVA) con el programa SPSS 11.5 para *Windows* (SPSS, Inc., Chicago, IL) y la comparación entre las medias se realizó de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). En todos los casos, previamente se chequeó la distribución normal (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de varianza (Bartlett) <sup>(12)</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

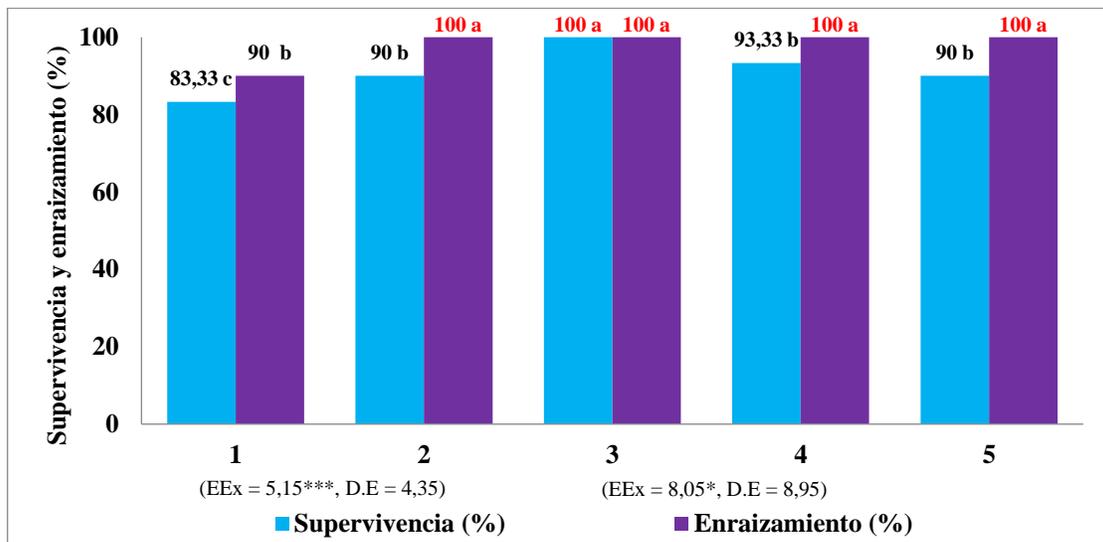
En relación con el porcentaje de supervivencia de las plantas hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 1). Los mejores resultados los obtuvieron las plantas del tratamiento 3 [Aspersión foliar en el momento del trasplante (AFMT) y 15 días después del trasplante (AFDT) con la mOLG ( $1 \text{ mgL}^{-1}$ )], con 100 % de supervivencia y se diferenciaron de las del resto de los tratamientos. En general, las plantas cuando se les aplicó el AIA o la mOLG con independencia de la concentración, la supervivencia fue elevada, osciló entre 90-100 %; solo las plantas del tratamiento control, obtuvieron una supervivencia inferior al 90 %.

Según algunos autores <sup>(13)</sup>, al transferir las plántulas de *Lisianthus* provenientes del cultivo *in vitro* a un sustrato compuesto por una mezcla de cáscara de arroz quemado y estiércol orgánico y sumergiéndolas en una solución de pesticida al 1 % y recubriendo las macetas con un plástico transparente, durante 15 días, en un área de intensidad de luz reducida ( $100-120 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) se produjo una elevada supervivencia de las mismas (81-100 %), 90 % como promedio después de un mes de aclimatización.

En estudios realizados en las plántulas de *Lisianthus* <sup>(14)</sup>, en un medio de cultivo basal MS enriquecido con AIB ( $0,5$  y  $1,5 \text{ mgL}^{-1}$ ) presentaron un mejor porcentaje de enraizamiento *in vitro*; se aclimatizaron mejor y al transferirlas a invernadero mostraron un crecimiento normal y una supervivencia del 90 %.

En la Figura 1 se observa el porcentaje de enraizamiento de las plantas y hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Los mejores resultados se obtuvieron con el empleo del AIA (Tratamiento 2) y la mOLG ( $1, 5$  y  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) con la AFMT y con la AFDT, con 100 % de enraizamiento, sin diferencias entre las plantas, pero sí se diferenciaron de las del tratamiento control, que obtuvieron un 90 % de enraizamiento.

Los mejores resultados con las plantas de *Lisianthus* cultivar 'Azul', según algunos autores <sup>(15)</sup>, se obtuvieron con concentraciones de AIA de 1000 y 500 ppm ( $\text{mgL}^{-1}$ ), equivalentes a 100 y 92 % de enraizamiento, respectivamente.



Medias con letras distintas difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (\* significativo para  $p < 0,1$ ; \*\*\* significativo para  $p \leq 0,001$ )

1- Control (sin aspersión foliar)

2- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con AIA ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ )

3- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ )

4- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ )

5- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ )

EEx.- error estándar de la media. D.E.- desviación estándar

n- total de explantes del experimento en las tres repeticiones

AIA.- ácido indol acético

mOLG.- mezcla de oligogalacturónidos

**Figura 1.** Porcentaje de supervivencia y enraizamiento de las plantas de *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) cultivar ‘Mariachi blue’ tratadas o no con Pectimorf® mOLG, a los 60 días una vez finalizada la fase de aclimatización (n=30)

Por otra parte, algunos autores plantearon que en la papaya (*Carica papaya* L.) cultivar ‘Maradol roja’, el mayor porcentaje de plantas con raíces (84,2 %) se obtuvo con la concentración de  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de Pectimorf® en complemento con la auxina AIB<sup>(16)</sup>.

También otros autores informaron en el ajo (*Allium sativum* L.) clon ‘Criollo-9’, que el enraizamiento de los microbulbillos se incrementó mediante su inmersión 15 minutos y la aspersión foliar 15 días después de la plantación en una solución de Pectimorf® ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) y cuando los mismos se plantaron en un sustrato compuesto por zeolita [litonita] (25 %) y materia orgánica [cachaza descompuesta] (75 %) <sup>(17)</sup>.

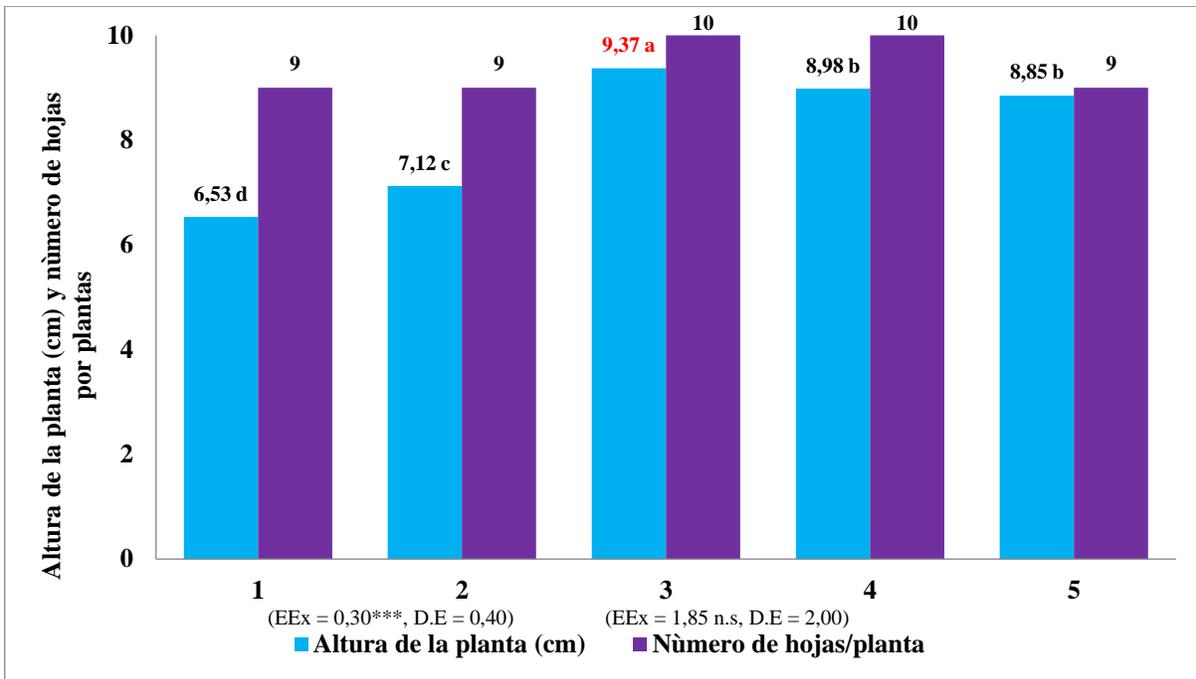
Puede existir una activación de la biosíntesis de los oligogalacturónidos como la mOLG cuando se aplican exógenamente en las plantas e influyen en la supervivencia de las mismas y, por consiguiente, en su crecimiento y desarrollo. Por otra parte, durante la fase de aclimatización, es probable que las

plantas acumularan mayor biomasa durante la fase *in vitro*, que las condicionó favorablemente para sobrevivir al estrés provocado por el cambio a las condiciones *ex vitro*.

Con respecto a la altura de las plantas hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 2). Los mejores resultados lo obtuvieron las plántulas del tratamiento 3 que se trataron con la mOLG ( $1 \text{ mgL}^{-1}$ ) [9,37 cm] y los más bajos fueron las del tratamiento 1 (Control) [6,53].

Se informó que las plantas de *Lisianthus*, tratadas con diferentes dosis de nitrógeno (50-300 mg) suministradas por fertirrigación no tuvo influencia en la altura del pedúnculo, que osciló entre 3,31-5,06 cm<sup>(18)</sup>.

Según algunos autores, informaron que los mejores resultados se obtuvieron con la inmersión de las raíces de las plántulas durante 15 minutos y la aspersión foliar de las mismas 15 días después de la plantación con Pectimorf<sup>®</sup> (5 y  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ), cuyos valores respectivos fueron 14,17 y 14,42 cm<sup>(19)</sup>, sin diferencias estadísticas entre ellos ni con ANA a la concentración de  $10 \text{ mgL}^{-1}$ , con 14,12 cm de altura. En la propia Figura 2, se aprecia que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al número de hojas, que osciló entre 9-10 por plantas. Resultados similares se informaron en ajo, clon 'Criollo-9'<sup>(17)</sup>, con un número de hojas que fue de 2,37 cuando se realizó la inmersión de las raíces durante 15 minutos en una solución de Pectimorf<sup>®</sup> ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ ), pero sin diferencias estadísticas con esa oligosacarina, a la concentración de  $5 \text{ mgL}^{-1}$  (2,27) o en ANA ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) (2,20) y la aspersión foliar de las plántulas 15 días después de la plantación con la misma concentración de esas sustancias.



Medias con letras distintas difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (\*\*\*) significativo para  $p \leq 0,001$

1- Control (sin aspersión foliar)

2- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con AIA ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ )

3- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ )

4- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ )

5- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ )

EEx.- error estándar de la media. D.E.- desviación estándar

n- total de explantes del experimento en las tres repeticiones. n.s.- no significativo

AIA.- ácido indol acético. mOLG.- mezcla de oligogalacturónidos

**Figura 2.** Altura (cm) y número de hojas de las plantas de *Lisianthus (Eustoma grandiflorum (Raf.) Shinners)* cultivar ‘Mariachi blue’ tratadas o no con la mOLG, a los 60 días una vez finalizada la fase de aclimatización ( $n=30$ )

En relación con la masa fresca y seca de las plantas hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2). En el primer caso, los mejores resultados fueron para las plantas del tratamiento 5 ( $1,88888 \text{ g}$ ) y en el segundo caso, las del tratamiento 3 ( $0,209845 \text{ g}$ ). En ambos casos, las plántulas tratadas con la mOLG con independencia de la concentración ( $1, 5$  o  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) alcanzaron resultados superiores a las tratadas con AIA o las del tratamiento control.

Según otros autores, las plántulas de *Lisianthus* cultivar ‘Mariachi blue’, cultivadas en zeolita modificada cargada con  $\text{Ca}^{2+}$  mostraron una mayor masa fresca de la plántula. Lo planteado, puede deberse a que el calcio interviene en la división celular, permeabilidad de las membranas celulares, por lo que le proporciona vigor a la planta<sup>(2)</sup>.

Algunos autores, informaron que en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) la masa fresca de los minitubérculos fue mayor en las variedades ‘Yuya’ con 18,67 g y ‘Grettel’ con 23,20 g, sin diferencias significativas entre ellas y sí con el resto de las variedades<sup>(20)</sup>. De igual manera, ‘Grettel’ mostró los mayores valores en la masa seca de los minitubérculos con 19,3 g sin diferencias significativas con ‘Ibis’ que alcanzó 19,4 g.

De acuerdo con estudios realizados<sup>(3)</sup>, las variables masa fresca y masa seca de los rizomas no mostraron diferencias entre los tratamientos evaluados<sup>(21)</sup>, obteniéndose valores de 11,88 g y 2,52 g respectivamente, valores similares a los obtenidos para el cultivo.

**Tabla 2.** Masa fresca y seca, así como contenido de clorofilas totales, contenido relativo de agua, fotosíntesis máxima, transpiración total y conductancia estomática de las plantas de *Lisianthus (Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinners) cultivar ‘Mariachi blue’ tratadas o no con la mOLG, a los 60 días una vez finalizada la fase de aclimatización (n=5)

No.	MFP (g)	MSP (g)	CCT (Unidades SPAC)	CRA (%)	Fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	Transpiración ( $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	CE ( $\text{mmolm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
1	1,58 e	0,15 e	56,33 d	80,00 c	10,81 d	9,00 e	0,33 d
2	1,61 d	0,16 d	60,08 c	81,85 b	11,54 c	9,47 d	0,40 c
3	1,70 c	0,20 a	70,97 a	90,75 a	12,87 a	11,27 a	0,50 a
4	1,75 b	0,17 c	66,66 b	89,57 a	12,12 b	10,84 b	0,46 b
5	1,88 a	0,18 b	62,01 c	82,12 b	12,09 b	10,00 c	0,40 c
E.Ex (±)	0,0052***	0,00061**	0,27***	1,14*	0,39**	0,34***	0,04***
D.E	0,07	0,01	3,32	1,80	0,45	0,41	0,05

MFP.- masa fresca de la planta. MSP.- masa seca de la planta. CCT.- contenido de clorofilas totales. CRA.- contenido relativo de agua. CE.- conductancia estomática. EEx.- error estándar de la media. D.E.- desviación estándar

AIA.- ácido indol acético. mOLG.- mezcla de oligogalacturónidos

n- total de explantes del experimento en las tres repeticiones

Medias con letras distintas difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (\* significativo para  $p < 0,1$ ; \*\* significativo para  $p < 0,01$ ;

\*\*\* significativo para  $p < 0,001$ )

1- Control (sin aspersión foliar)

2- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con AIA ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ )

3- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ )

4- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ )

5- Aspersión foliar en el momento del trasplante y 15 días después del trasplante con la mOLG ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ )

En el contenido de clorofilas en las plantas hubo diferencias significativas entre los tratamientos, tal como lo refleja la Tabla 2. Los mejores resultados lo alcanzaron las plantas del tratamiento 3 (AFMT) y (AFDT), con 70,97 unidades SPAC, que se diferenciaron de las plantas del tratamiento control, con 56,33 unidades SPAC. En sentido general, las plántulas que se trataron con la mOLG con

independencia de la concentración fueron superiores a las del resto de los tratamientos, una vez finalizada la fase de aclimatización.

Los resultados anteriores pudieran indicar, que las plantas tratadas con la mOLG (Pectimorf®) al finalizar su aclimatización, están mejor nutridas y es posible que tengan un mayor contenido de clorofilas totales y, por consiguiente, están lista para su trasplante definitivo a macetas o campo.

Según algunas investigaciones realizadas, con diferentes líneas híbridas de *Lisianthus* encontró un elevado porcentaje de clorofila (unidades SPAC) en las líneas L<sub>5</sub> ('Nandini Lemon Doublel') [60,5 %], seguida por L<sub>9</sub> ('Nandini Royal Violoet') [58,3 %] y L<sub>8</sub> ('Nandini rose') [54,8 %], mientras que los peores resultados fueron para el híbrido L<sub>15</sub> ('Nandini Lavender') [33,3 %] <sup>(22)</sup>. Otros autores también observaron una variación similar en el porcentaje de clorofilas en un estudio realizado con ocho líneas de *Lisianthus* <sup>(23)</sup>; así como en crisantemo <sup>(24)</sup>.

De acuerdo con estudios realizados, informaron que las plántulas de *Lisianthus* presentaron una respuesta similar en cuanto al contenido de pigmentos al aumentar la Conductividad Eléctrica (CE) [2,5; 4; 6 y 8 dSm<sup>-1</sup>] y el contenido de clorofilas totales respectivo fue: 2,85; 3,08; 2,05 y 2,79 mgg<sup>-1</sup> <sup>(25)</sup>. Agregaron, que en las soluciones de 6 dSm<sup>-1</sup> se observó una disminución en la concentración de clorofilas, la cual posteriormente se recuperó cuando las plantas se irrigaron con soluciones de 8 dSm<sup>-1</sup>; las plantas tratadas con Ca<sup>2+</sup> adicional, logaron mantener una mayor concentración de los pigmentos en comparación con aquellas tratadas con 9 meqL<sup>-1</sup> de Ca<sup>2+</sup> cuando la CE de la solución fue de 6 y 8 dSm<sup>-1</sup>.

Los resultados relacionados con el Contenido Relativo de Agua (CRA) se muestran en la Tabla 2. Hubo diferencias significativas entre las plantas de los diferentes tratamientos. Los mejores resultados fueron para los tratamientos 3 y 4, con 90,75 y 89,57 %, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos; mientras que los resultados más bajos fueron para las plantas que se obtuvieron con el tratamiento 1 (control), con 80,00 %.

En estudios realizados con plantas de *Lisianthus* <sup>(25)</sup>, el CRA en hojas jóvenes osciló entre 69,7-89,1 % y en las maduras (76,0-80,3 %); en ambos casos; por lo general, disminuyó en plantas con 9 meqL<sup>-1</sup> de Ca<sup>2+</sup>; sin embargo, en plantas suplementadas con Ca<sup>2+</sup> adicional, se observó un aumento en el CRA, el cual supera al de las plantas con 9 meqL<sup>-1</sup> cuando se trataron con soluciones de CE mayor de 4 dSm<sup>-1</sup>.

El mantenimiento del CRA en hojas jóvenes estuvo relacionado con la acumulación de una mayor biomasa por parte de las plantas tratadas con la mOLG, lo demás pudiera estar relacionado con un mayor potencial hídrico en las hojas.

Los bioestimuladores del crecimiento Biobras-6® (0,2 µmolL<sup>-1</sup>) y Pectimorf® (0,47 µmolL<sup>-1</sup>), influyeron positivamente en el CRA de las plantas de banano (*Musa* spp.) clon 'FHIA-18' (AAAB), cuando se

sumergieron las raíces de las mismas y 15 días después de la plantación se asperjaron con las soluciones anteriores, los valores fueron 96,64 y 96,7 %, respectivamente <sup>(26)</sup>.

La fotosíntesis, la transpiración y la conductancia estomática fueron otras variables fisiológicas que se evaluaron al finalizar la fase de aclimatización de las plantas de *Lisianthus* cultivar ‘Mariachi blue’. Hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2). Los mejores resultados lo obtuvieron las plantas del tratamiento 3 (AFMT y AFDT), con una fotosíntesis de  $12,873 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , la transpiración fue de  $11,273 \text{ mmol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$  y la conductancia estomática de  $0,508 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ . En sentido general, las plantas que se obtuvieron con la mOLG (Pectimorf<sup>®</sup>), con independencia de la concentración, mostraron los mejores resultados, cuando se evaluaron las variables fisiológicas anteriores.

Otros autores plantearon que las plantas del cultivar de *Lisianthus* ‘ABC Blue’, con independencia de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en la solución nutritiva, la CE afectó la tasa de fotosíntesis al presentarse una disminución <sup>(25)</sup> cuando la CE fue de  $4 \text{ dSm}^{-1}$  (con  $9 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $10,1 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y con  $13 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $9,4 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ); sin embargo, al aumentarla hasta  $6 \text{ dSm}^{-1}$  (con  $9 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $10,6 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y con  $13 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $11,4 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y  $8 \text{ dSm}^{-1}$  (con  $9 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $12,4 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y con  $13 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , la fotosíntesis fue de  $12,0 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), la tasa de fotosíntesis se recupera a niveles comparables al de las plantas con baja CE.

En general, en las plantas de *Lisianthus* cultivar ‘ABC Blue’, la conductancia de la hoja (con  $9 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , osciló entre  $0,241\text{-}0,308 \text{ mol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$  y con  $13 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , fue entre  $0,219\text{-}0,312 \text{ mol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), así como la tasa de transpiración (con  $9 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , osciló entre  $9,2\text{-}10,2 \text{ mmol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$  y con  $13 \text{ meqL}^{-1}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , fue entre  $8,6\text{-}10,5 \text{ mmol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$ ); por lo general, disminuyeron conforme se aumentaba la CE, independientemente del nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  en la solución nutritiva <sup>(25)</sup>.

Los resultados que se obtuvieron en las plantas *in vitro* de papaya (*Carica papaya* L.) cultivar ‘Maradol roja’ a los 37 días de cultivo, durante la fase de aclimatización, mostraron que el empleo de AIB ( $2 \text{ mgL}^{-1}$ ) con zeolita como soporte, alcanzaron los mejores resultados con respecto a la fotosíntesis ( $3,828 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), transpiración ( $1,506 \text{ mmol H}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y conductancia estomática ( $34,85 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y superaron a los tratamientos en los que se empleó el Pectimorf<sup>®</sup> ( $7, 9$  y  $12 \text{ mgL}^{-1}$ ) y AIB ( $2 \text{ mgL}^{-1}$ ) <sup>(17)</sup>.

Los resultados antes expuestos <sup>(17)</sup> no coinciden con los de este trabajo, ya que la mOLG (Pectimorf<sup>®</sup>) con independencia de la concentración empleada ( $1, 5$  y  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) favoreció la fotosíntesis, la transpiración y la conductancia estomática de las plantas de *Lisianthus* cultivar ‘Mariachi blue’; por lo que, para la aclimatización de las plántulas se debe emplear un sustrato compuesto por 75% de

materia orgánica (cachaza descompuesta) y 25% de suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico y realizar la aspersión foliar de las plántulas en el momento del trasplante y 15 días después de la plantación a razón de 2 mL por plántula con la mOLG (Pectimorf® [1 mgL<sup>-1</sup>]).

## CONCLUSIONES

El empleo del bioestimulador de origen péctico (mOLG) tuvo un efecto positivo en las variables morfológicas y fisiológicas que se evaluaron en las plantas de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinners) cultivar ‘Mariachi blue’ al finalizar la fase de aclimatización.

## RECOMENDACIONES

Que se realicen estudios de diferentes sustratos y condiciones de cultivo, así como del rendimiento y la calidad postcosecha de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinners) cultivar ‘Mariachi blue’, como flor de corte.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández C. Respuesta de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* [Raf.] [Internet]. Colegio de Postgraduados; 2011 [cited 18/01/2021]. Available from: <https://go.gale.com/ps/i.do?p=IFME&sw=w&issn=&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA568727276&sid=googleScholar&linkaccess=abs>
2. Enríquez, G. Germinación y producción de plántula de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinners.) var. ‘Mariachi blue’, en mezclas de Peat-Moss y Zeolita. [Tesis de Ingeniería]. [Tenancingo, Estado de México]: Universidad Autónoma del Estado de México; 2017. 67 p.
3. de La Riva-Morales FP, Mazuela-Águila PC, Urrestarazu-Gavilán M. Comportamiento productivo del lisianthus *Eustoma grandiflorum* [Raf.] Shinn) en cultivo sin suelo. Revista Chapingo. Serie horticultura. 2013;19(2):141-50.
4. Barbaro LA, Karlanian MA, Morisigue D. El sistema flotante como alternativa para la producción de plantines de Lisianthus *Eustoma grandiflorum* L.). Agriscientia. 2009;26(2).
5. Fernández-Pavía YL, Trejo-Téllez LI. Biología, importancia económica y principales líneas de investigación en lisianthus: una especie ornamental nativa de México. AGROProductividad. 2018;11(8).
6. Nomita L, Raj K, Arvinder S. Lisianthus micro propagation. International Journal of Agricultural Sciences. 2012;8(2):541-6.

7. Martins JPR, Verdoodt V, Pasqual M, De Proft M. Impacts of photoautotrophic and photomixotrophic conditions on in vitro propagated *Billbergia zebrina* *Bromeliaceae*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2015;123(1):121-32.
8. Gutiérrez-Mora A, González-Gutiérrez AG, Rodríguez-Garay B, Ascencio-Cabral A, Li-Wei L. Plant somatic embryogenesis: some useful considerations. *Embryogenesis*. 2012;229-48.
9. Alvarez C, Sáez P, Sáez K, Sánchez-Olate M, Ríos D. Effects of light and ventilation on physiological parameters during in vitro acclimatization of *Gevuina avellana* mol. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2012;110(1):93-101.
10. Cabrera JC, Gómez R, Diosdado E, Hormaza JV, Iglesias R, Gutiérrez A, et al. Procedimiento de obtención de una mezcla de oligosacáridos pécticos estimuladora del enraizamiento vegetal. *Patente Cubana*. 2003;22859.
11. Falcón R, Costales M, González-Peña F, Nápoles G. New natural products for agriculture: the oligosaccharins. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(Suppl. 1):111-29.
12. Cochran WG, Cox GM. Diseños experimentales. Trillas ^ eD. FDF; 1990.
13. Winarto B, Rachmawati F, Setyawati AS, da Silva JAT. Leaf-derived organogenesis in vitro for mass propagation of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2015;495-501.
14. Pop R, Cantor M, Buta E, Csete I. In vitro plant propagation and crop improvement in *Lisianthus* (*Lisianthus russelianus* Hook.). *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*. 2016;73(2):168-74.
15. Sotomayor León EM, Escobar Tolosa MR, Rosas Guerra CA. Propagación del *Lisianthus* cv. Azul por esquejes en macetas de turba bajo nebulización, con distintas concentraciones de ácido  $\beta$ -indolbutírico, en el Valle de Azapa. *IDESIA (Chile)*. 2012;29(1):99-102.
16. Posada-Pérez L, Padrón-Montesinos Y, González-Olmedo J, Rodríguez-Sánchez R, Barbón-Rodríguez R, Norman-Montenegro O, et al. Efecto del Pectimorf<sup>®</sup> en el enraizamiento y la aclimatización in vitro de brotes de papaya (*Carica papaya* L.) cultivar Maradol Roja. *Cultivos Tropicales*. 2016;37(3):50-9.
17. Izquierdo H, Diosdado E, Cepero MCG, de la C Núñez M, Cabrera JC, Hernández RM, et al. Contributions to knowledge of the functioning of national bioestimulators in plant biotechnology processes. *Biotecnología Aplicada*. 2016;33(3):3511-6.
18. Katz I. Fertirrigação com diferentes doses de nitrogênio, em plantas de *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.). 2004.
19. Izquierdo Oviedo H, Alcaraz Meléndez L, Rodríguez-Álvarez M. Micropropagación de chiltepín (*Capsicum annum* L. cv. 'Glabriusculum') mediante el empleo de una oligosacarina de origen péctico. *Acta Universitaria*. 2017;27(5):34-43.

20. García-Águila L, Rodríguez M, Edirisinghage KD, Bernal ILM, La M, Pérez M, et al. Formación de minitubérculos de cuatro variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. en casa de cultivo. *Biología Vegetal*. 2016;16(4).
21. Reyes AE, Pupo JJS, García MB, Paneque OSG, Pérez JLP, Rosabal LF. Evaluación de plantas de *Curcuma longa* L. obtenidas por cultivo de tejidos en condiciones de organopónico. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2012;14(2):196-202.
22. Ahmad H. Phenotypic screening of *lisianthus eustoma grandiflorum* lines for production in bangladesh. 2017.
23. Uddin AJ, Roni MZK, Islam MS, Ona AF, Sarker MS, Shimasaki K. Study on growth, flowering and seed production of eight nandini *Eustoma grandiflorum* varieties. *International journal of business, social and scientific research*. 2015;3(1):25-9.
24. Uddin A, Taufique T, Ona AF, Shahrin S, Mehraj H. Growth and flowering performance evaluation of thirty two chrysanthemum cultivars. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*. 2015;4(01):40-51.
25. López-Pérez CA, Valdez-Aguilar LA, Robledo-Torres V, Mendoza-Villarreal R, Castillo-Gonzalez AM. El calcio imparte tolerancia a alta conductividad eléctrica en *Lisianthus Eustoma grandiflorum* Raf. Shinn.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2014;5(7):1193-204.
26. Izquierdo Oviedo H, González MC, Nuñez Vázquez M. Bioestimuladores del crecimiento para la micropropagación del banano. *Académia Española*; 2017.