Rev. Agricultura Tropical Vol. 8, No. 2:46-52, julio-diciembre, 2022
ISSN on line: 2517-9292, RNPS: 2397

RESPUESTA DE PLANTAS *IN VITRO* DE *Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. 'CEMSA-78-354' AL ESTRÉS HÍDRICO INDUCIDO CON POLIETILENGLICOL 6000

Jorge López Torres, Arletys Santos Pino, Aymé Rayas Cabrera, Milagros Basail Pérez.*
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba.
**Autora para la correspondencia: organog.biotec@inivit.cu*

Recibido: 21 de septiembre de 2022; Aceptado: 16 de noviembre de 2022

RESUMEN

El boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) en Cuba, constituye una de las viandas más importantes en la alimentación de la población, favorecido por su naturaleza rústica, amplia adaptabilidad, ciclo corto y facilidad de propagación durante todo el año en todas las regiones del país. En contraste a lo anterior, debido al efecto del cambio climático, la sequía constituye uno de los más grandes desafíos a los que se enfrenta la agricultura para la producción de alimentos a nivel mundial. Todo lo cual hace que sea necesario el uso de métodos de selección temprana a través del cultivo *in vitro*, que permitan agilizar la selección de cultivares que se adapten más a las condiciones de sequía imperantes en campo. Este tipo de selección *in vitro* de genotipos tolerantes ofrece ventajas sobre la selección en campo, pues permite ahorrar tiempo, recursos y trabajar con mayores volúmenes de plantas. Con el objetivo de determinar *in vitro* indicadores morfológicos de crecimiento y desarrollo, asociados con la respuesta al estrés hídrico inducido por el polietilenglicol 6000 (PEG 6000), se utilizó el cultivar de boniato 'CEMSA-78-354'. Los descriptores morfológicos evaluados, número de entrenudos, altura de la planta, número de hojas y número de raíces de las plantas sometidas a estrés hídrico con PEG 6000 constituyeron indicadores morfológicos asociados con la respuesta al estrés hídrico inducido. Se determinó que la DL_{50} fue de 15 g L^{-1}.

Palabras claves: selección *in vitro,* sequía.

RESPONSE OF *IN VITRO* PLANTS OF *Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. 'CEMSA-78-354' TO WATTER STRESS INDUCED WITH POLYETHYLENGLICOL 6000

ABSTRACT

The sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) in Cuba is one of the most important tuberous roots in the diet of the population, favored by its rustic nature, wide adaptability, short cycle and ease of propagation throughout the year in all regions of the country. In contrast to the above, due to the effect of climate change, drought is one of the greatest challenges facing agriculture for food production worldwide. All of which makes necessary the use of early selection methods through *in vitro* cultivation, which allow speeding up the selection of cultivars that are more adapted to the prevailing drought conditions in the field. This type of in vitro selection of tolerant genotypes offers advantages over field selection, since it saves time and resources and allows working with larger volumes of plants. In order to determine *in vitro* the main morphological

indicators of growth and development associated with the response to water stress induced by Polyethylene glycol 6000 (PEG 6000), the sweet potato cultivar 'CEMSA-78-354' was used. The morphological descriptors evaluated, number of internodes, plant height, number of leaves and number of roots of plants subjected to water stress with PEG 6000 constituted morphological indicators associated with the response to induced water stress. The LD_{50} was determined to be 15 g L^{-1}.
Keywords: *in vitro* selection, drought.

INTRODUCCIÓN

El boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) es considerado en varios países como un producto básico para la alimentación, por ser fuente de carbohidratos, como el almidón que brinda gran aporte calórico y energía, además de poseer la posibilidad de desarrollarse en varios climas, lo que hace de este cultivo un sistema productivo clave para la seguridad alimentaria (Krochmal-Marczak *et al*., 2018; Murillo-Martínez *et al*., 2021).

Mas recientemente, en los últimos años el boniato ha sido utilizado también con fines medicinales, debido a su enorme proyección como alimento funcional y poseer una excelente fuente de sustancias anticancerosas o quimiopreventivas (Salgado *et al*., 2023).

En Cuba, constituye una de las viandas más importantes en la alimentación de la población, favorecido por su naturaleza rústica, ciclo corto y facilidad de propagación del material de plantación durante todo el año y en todas las regiones del país (INIVIT-ACTAF, 2007). En contraste a lo anterior, varios autores han señalado que el mayor rendimiento del boniato se obtiene con un límite de humedad antes del riego de 75 a 85 % de la capacidad de campo (Castellanos *et al*.1984; Martínez y Arce 1985 y Sierra *et al*. 1987). Por otra parte, otros estudios han demostrado en este cultivo un incremento lineal del contenido total de azúcares con el aumento del agua de riego aplicada (Thompson *et al*. 1992).

El efecto del cambio climático agudiza las condiciones adversas para la producción, debido al aumento de las temperaturas y el cambio en los regímenes pluviales que inciden directamente sobre el rendimiento de los cultivos, lo cual limita la disponibilidad de agua de riego. Todo lo anterior hace que la sequía constituya uno de los más grandes desafíos que se enfrenta la agricultura para la producción de alimentos a nivel mundial (Henry *et al*., 2011). De manera que resulta necesario el uso de métodos de selección temprana a través del cultivo *in vitro*, que permitan agilizar la selección de cultivares que se adapten más a las condiciones de sequía imperantes en campo.

Los métodos de selección *in vitro* de tolerancia a la sequía representan un paso inicial que evitan las evaluaciones en campo de un elevado número de individuos. Para ello el uso de polímeros no penetrantes como el Polietilenglicol (PEG) de alto peso molecular en el medio de cultivo en condiciones *in vitro* disminuye el potencial hídrico de una manera similar a la sequía en el suelo. Su empleo en el cultivo *in vitro* por varios investigadores para evaluar la tolerancia a la sequía en diferentes cultivos ha demostrado la variación de algunos caracteres morfológicos y bioquímicos asociados a la respuesta al stress hídrico (Kulkarni y De Shpande, 2007; Soni *et al*., 2011). De manera que el uso del PEG 6000 es uno de los agentes osmoestresantes más utilizados para simular el estrés hídrico *in vitro* (Rai *et al*., 2011).

Con el objetivo de evaluar *in vitro* indicadores morfológicos de crecimiento y desarrollo, asociados con la respuesta al estrés hídrico inducido por el polietilenglicol 6000 (PEG 6000), se realizó la presente investigación en el cultivar de boniato 'CEMSA-78-354'.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del INIVIT en el cultivar de boniato 'CEMSA-78-354', de alto potencial de rendimiento y buena adaptabilidad a diferentes ecosistemas (ACTAF, 2007). El establecimiento *in vitro* se realizó a partir de meristemos con dos primordios de hojas según el protocolo descrito por López (1997). Para ello se utilizó el medio de cultivo constituido por las sales y vitaminas de MS (Murashige y Skoog, 1962), 100 mg L^{-1} de mioinositol, 50 g L^{-1} de sacarosa, 0,03 mg L^{-1} de ANA y 0,3 mg L^{-1} de 6 BAP. Posteriormente, transcurrido 30 días del establecimiento *in vitro* se utilizó el medio de cultivo de multiplicación, compuesto por las sales y vitaminas de MS (1962), sacarosa (50 g L^{-1}), sin reguladores del crecimiento y varias concentraciones de PEG 6000 (0; 10; 15; 20; 25; y 30 g L^{-1}), solidificado con gelrite 2,5 g L^{-1}. El pH de todos los medios de cultivos utilizado fue ajustado a 5,8 con NaOH 0,1 M y HCl 0,1 M, y se dosificó a razón de 5 mL por tubos de ensayos (15x150 mm) (30 plantas por tratamiento). La esterilización de los mismos se realizó en autoclave a 121ºC y 1,2 kg cm^{-2} de presión durante 15 minutos. Las condiciones de cultivos fueron iluminación artificial mediante tubos fluorescentes, con régimen de 16 horas de luz a una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (FFF) de 62-68 µmol $m^{-2}s^{-1}$) y temperatura de 25±2°C. Transcurridos 30 días en las condiciones descritas anteriormente se evaluaron los indicadores morfológicos número de entrenudos (u), altura de la planta (cm), número de hojas (u) y número de raíces (u).

Para el análisis estadístico de los datos experimentales se empleó el programa SPSS *Statistics* ver. 25.0 para *Windows*. Para el procesamiento de los resultados se comprobó la normalidad y la homogeneidad de varianzas por las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Las medias de los tratamientos se compararon utilizando la prueba de Duncan ($p<0,05$).

Para calcular la DL_{50} se realizó un análisis de regresión lineal y se graficó las correlaciones de los diferentes descriptores morfológicos y fisiológicos utilizando Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar los caracteres morfológicos (número de entrenudos, altura de la planta, número de hojas y número de raíces) de las plantas sometidas a estrés hídrico con PEG 6000 hubo una disminución en todos los parámetros evaluados, y a su vez a medida que se incrementó la concentración de PEG en todos los casos y comparados con las plantas no sometidas a estrés fue menor su valor (Figura 1).

Tomando en cuenta el coeficiente de determinación R^2 de cada variable evaluada número de entrenudos (0,9726), altura de planta (0,7811), número de hojas (0,8256) y número de raíces (0,7053), se observó un buen ajuste con todas las variables evaluadas (Figura 1), luego al analizar los valores obtenidos en cada variable (Tabla 1) Se comprobó que la concentración de PEG de 15 g L^{-1} fue la más apropiada para la selección *in vitro* para la tolerancia a la sequía, que no solo se logró reducir el 50 % del carácter evaluado sino que desde el punto de vista biológico las plantas tuvieron una buena sobrevivencia a las condiciones *ex vitro*.

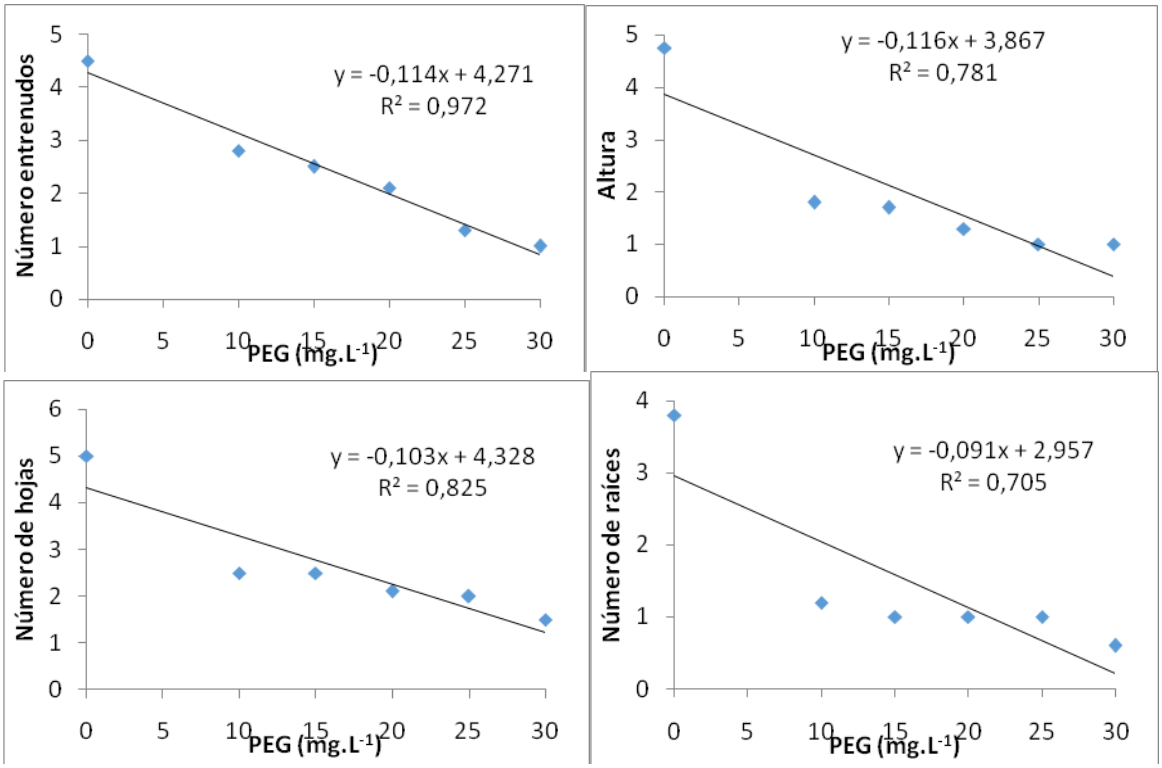


Figura 1. Respuesta al estrés hídrico inducido por el PEG 6000, en indicadores morfológicos de crecimiento y desarrollo, en el cultivar de boniato 'CEMSA-78-354'.

Tabla 1. Respuesta al estrés hídrico inducido por el PEG 6000, en indicadores morfológicos, en el cultivar de boniato 'CEMSA-78-354'.

Tratamientos	Número de entrenudos (u)	Altura (cm)	Número de hojas activas (u)	Número de raíces (u)
Sin PEG	4,50 a	4,93 a	5,02 a	3,83 a
10 g.L^{-1} PEG 6000	2,83 b	1,83 b	2,50 b	1,16 b
15 g.L^{-1} PEG 6000	2,50 b	1,66 b	2,50 b	1,00 b
20 g.L^{-1} PEG 6000	2,16 bc	1,33 bc	2,16 b	1,00 b
25 g.L^{-1} PEG 6000	1,33 d	1,00 c	2,00 b	1,00 b
30g.L^{-1} PEG 6000	1,00 d	1,00 c	1,50 b	0,66 b

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren estadísticamente para p<0,05 según la prueba de Duncan.

En el caso de la altura de la planta se observó una disminución de 3 cm con relación al control no tratado con PEG, con diferencias significativas estadísticamente. Al respecto Jaleel *et al*. (2009) concluyeron que el crecimiento de las plantas de manera general es uno de los procesos que se ven afectados por el estrés abiótico. Otros autores como Surendar *et al*. (2013) refirieron que la altura de la planta es un importante indicador morfológico relacionado con el crecimiento y desarrollo de los cultivos, procesos que envuelven a su vez el crecimiento y desarrollo celular; estos últimos consisten en la división, alargamiento y diferenciación de las células y son muy sensibles al déficit hídrico por su dependencia con el grado de turgencia de las mismas (Wareing y Phillips, 1970).

La determinación de estos indicadores morfológicos está dada fundamentalmente porque se conoce que con el estrés hídrico se reduce el crecimiento y desarrollo de las plantas (Ehsanpour y Razavizadeh, 2005), el tamaño y la expansión de las hojas (Kallarackal *et al*., 1990) y las raíces crecen más profundo como mecanismo para absorber agua a mayores profundidades en el suelo (Ravi *et al*., 2013). Al respecto, varios investigadores han utilizado *in vitro* el PEG 6000 para evaluar la tolerancia a sequía en diferentes cultivos donde demostraron la variación de algunos caracteres morfológicos asociados a la respuesta al estrés hídrico (Kulkarni y Deshpande, 2007, Álvarez *et al*. 2013).



Figura 2. Indicadores morfológicos asociados con la respuesta al estrés hídrico inducido al cv. 'CEMSA-78-354' a los 30 días de tratada con PEG 600 (de derecha a izquierda 0; 10; 15; 20 y 25 g L^{-1}).

En el caso de las raíces se observó que además de disminuir su cantidad con el incremento de PEG las mismas fueron más largas (datos no mostrados) (Figura 2).
Sunaryo *et al*., (2019) en estudios realizados en callos provenientes de pecíolos y hojas de boniato morado, lograron la supervivencia de los callos en un 54.42 % al utilizar 20% de PEG 6000 en el medio de cultivo. Cuanto mayor era la concentración de PEG en el medio, menor era la tasa de supervivencia de los callos en el medio de selección.

CONCLUSIONES

1. Los descriptores morfológicos evaluados, número de entrenudos, altura de la planta, número de hojas y número de raíces de las plantas sometidas a estrés hídrico con PEG 6000 constituyeron indicadores morfológicos asociados con la respuesta al estrés hídrico inducido.
2. Se determinó la DL_{50} de PEG 6000 a la concentración de 15 g L^{-1} como la más apropiada para la selección temprana a las condiciones de sequía.

BIBLIOGRAFÍA

EHSANPOUR, A.A. and R. RAZAVIZADEH. 2005. Effect of UV-C on drought tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*) C. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(2):107-110.

HENRY, I.M.; S.C. CARPENTIER; S. PAMPUROVA; A. VAN HOYLANDT; B. PANIS; R. SWENNEN and S. REMY. 2011. Structure and regulation of Asr gene family in banana. *Planta,* 234:785-798.

SONY, P.; M. RIZWAN; and T. BATT. 2011. In vitro response of vigna aconitifolia to drought stress induced by PEG-6000. *J. of stress Phys. And Biotech.,* (7)3: 108-121.

KULKARNI, M. and D.E. SHPANDE. 2007. In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol *Afric J. of Biotech.,* (6) 6:691-696.

THOMPSON, P.G.; D. A. SMITTLES and M.R. HALL. 1992. Relationship of sweetpotato yield and quality to amount of irrigation. *Hort Science,* 27(1): 23-26.

SIERRA, L.; G. CID and R. REY 1987: Efectos de diferentes niveles de humedad en el suelo sobre el rendimiento del boniato clon CEMSA 78-354. *Cienc. Tec. Agric. Riego y Drenaje,* 10(2): 15-23.

MARTÍNEZ, M. B. and R. ARCE 1985 Determinación del régimen de riego en el cultivo del boniato en suelos pardos con carbonatos. *Ciencias Técnicas Agrícolas, Viandas Tropicales,* 8 (2): 43-51.

CASTELLANOS, A.; R. MARTÍNEZ and R. ROQUE. 1984. Evapotranspiración real del boniato en los clones CEMSA 74-228, CEMSA 78-354 y CEMSA 78-425. *Cienc. Tec. Agric. Riego y Drenaje,* 7(1): 27-38.

INIVIT-ACTAF. 2007. Instructivo técnico del cultivo del boniato. Biblioteca ACTAF. 180p.

JALEEL, C.A.; K. RIADH; R.; GOPI; P.; I. MANIVANNAN and H.J. ALJUBURI. 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *ActaPhysiol Plant,* 31(3): 427-436.

KALLARACKAL, J.; J.A. MILBURN and D.A. BAKER. 1990. Water relations of the banana. III. Effects of controlled water stress on water potential, transpiration, photosynthesis and leaf growth. *Functional Plant Biology,* 17(1):79-90.

KROCHMAL-MARCZAK, B.; SAWICKA, B. and R. TOBIASZ-SALACH. 2018. Impact of cultivations technology on the yield of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) tubers. *Emi. J. FoodAgric.,* 30: 978-983.

KULKARNI, M. and DESHPANDE, U. 2007. *In vitro* screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. *African Journal of Biotechnology,* 6:691-696.

LÓPEZ J. 1997. Embriogénesis somática en el cultivo del boniato (*Ipomoea batatas* L). Tesis para optar por el título de Magíster in Science Biotecnología Vegetal. 100 p.

MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.

MURILLO-MARTÍNEZ, M.; A. ALVIS-BERMÚDEZ y G. ARRAZOLA-PATERNINA. 2021. Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón obtenido de dos variedades de batata (*Ipomoea batatas*). *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial,* 19(1): 117-127. https://doi.org/10.18684/bsaa(19)117-127.

RAI, M.K.; R.K. KALIA; R. SINGH; M.P. GONDOLA and A.K. DHAWAN. 2011. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection-An overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany,* 71(1): 8998; doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.021.

RAVI, I.; U. SUBBARAYA; M. MUTHU; MM. VAGANAN and M.M. MUSTAFFA. 2013. Phenotyping bananas for drought resistance. *Front Physio*, 4:1-15.

SALGADO-CHÁVEZ, J.A.; L.S. RAMÍREZ and O.M. MOSQUERA. 2023. *Ipomoea batatas* (L.) Lam. (*Convolvulaceae*) as a source of polyphenols with antitumor activity and prospects for in vitro production using chemical elicitors - A Review. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat,* 22 (2): 156-179. Disponible en: https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.2.12.

SUNARYO, W.; D. DARNANINGSIH and N. NURHASANAH. 2019. Selection and regeneration of purple sweet potato calli against drought stress simulated by polyethylene glycol. Disponible en: https://doi.org/10.12688/f1000research.16993.1.

SURENDAR, K.; D.; DURGA I. RAVI; P. JEYAKUMAR and K. VELAYUDHAM. 2013. Water Stress affects plant relative water content, soluble protein, total chlorophyll content and yield of ratoon banana. *Int J Hort.* 3(17): 12-18.

WAREING, P.F. and I.D.J. PHILLIPS. 1970. The control and development in plants. Pergamon Press. Oxford pp1-21.

ALVAREZ – GONZALEZ, A.; A. ALONSO-MARTIN; M. ÁLVAREZ -VAZQUEZ and L. SANTIAGO-HERNÁNDEZ. 2013. Metodología de radiomutagénesis y selección in vitro para la tolerancia a la sequía utilizando embriones cigóticos de aguacatero. *CitriFrut,* 30(2):22-29.