

# ESTADO NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR EN RESPUESTA A REGULADORES DE CRECIMIENTO

## Nutritional Status and Growth of Sugarcane Vitroplants in Response to Growth Regulators

Odón Castañeda-Castro<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez-Merino<sup>2†</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>2</sup>, Miriam C. Pastelín-Solano<sup>1</sup>, Yolanda Martínez-Ocampo<sup>1</sup>, Ma. Teresa González-Arnau<sup>1</sup> y Marina Guevara-Valencia<sup>1</sup>

### RESUMEN

En este estudio se analizó la influencia de auxinas y citocininas en el contenido de nutrimentos y crecimiento vegetal de vitroplantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) de la variedad ITV 92-1424. Se evaluaron dos factores: ácido indol-3-acético (AIA), como fuente de auxina, y N6-furfuriladenina (kinetina o KIN), como fuente de citocinina, con cinco niveles cada uno (0, 0.5, 1, 1.5 y 2 mg L<sup>-1</sup>) en el medio Murashige y Skoog, en un experimento con distribución completamente al azar y arreglo factorial 5<sup>2</sup>. El número y tamaño de brotes y la concentración de macro y micronutrimentos se determinaron cuatro semanas después de aplicados los tratamientos. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). La concentración de AIA de 0.5 mg L<sup>-1</sup> produjo las concentraciones más altas de P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn y Mn. La KIN incrementó significativamente la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Na y B, y los valores más altos se obtuvieron con las concentraciones de 1 y 1.5 mg L<sup>-1</sup>. La interacción de las concentraciones 0.0 y 0.5 mg L<sup>-1</sup> de AIA con 0.5 y 1.5 mg L<sup>-1</sup> de KIN afectó significativamente la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y Na. El AIA tuvo mayor efecto en la emisión de brotes cuando se adicionó en dosis bajas (0.5 mg L<sup>-1</sup>). La KIN no tuvo influencia sobre el número y tamaño de brotes. La interacción de ambos reguladores aumentó el número de brotes cuando no se suministró AIA o cuando se adicionó en dosis bajas, en combinación con dosis bajas y altas de KIN. Se concluye que el estado nutricional

y la emisión de brotes en caña de azúcar son afectados significativamente por la adición de AIA y KIN al medio de cultivo y por los niveles de estos reguladores en el medio.

**Palabras clave:** nutrición vegetal in vitro, *Saccharum*, auxinas, citocininas.

### SUMMARY

We analyzed the influence of auxins and cytokinins on the nutrient content and plant growth in sugarcane (*Saccharum* spp.) vitroplants, variety ITV 92-1424. Two factors (auxin, as indolacetic acid or AIA, and cytokinin, as kinetin or KIN) at five levels each (0, 0.5, 1, 1.5, and 2 mg L<sup>-1</sup>) in Murashige and Skoog medium were tested in a completely randomized experiment with factorial arrangement 5<sup>2</sup>. The number and size of shoots and the concentration of macro and micronutrients were determined four weeks after the applications of treatments. Data were analyzed using SAS statistical software and means were compared by Tukey test ( $P \leq 0.05$ ). For the AIA factor, 0.5 mg L<sup>-1</sup> caused the highest concentrations of P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, and Mn. KIN significantly increased P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Na, and B concentration, and the highest values were observed with 1 and 1.5 mg L<sup>-1</sup> concentrations. The interaction of 0.0 and 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA with 0.5 and 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN significantly affected P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, and Na concentration. AIA showed the strongest effect on adventitious shoot formation when added at low levels (0.5 mg L<sup>-1</sup>). KIN did not affect number and size of shoots. Interaction of both factors increased the number of adventitious shoots when AIA was not added or added at low levels in combination with low and high levels of KIN. We conclude that both nutritional status and shoot formation in sugarcane are significantly affected by the addition of AIA and KIN to the culture medium and the concentrations of these regulators in the medium.

<sup>1</sup> Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas. 94340 Orizaba, Veracruz, México.

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Estado de México.

† Autor responsable (fernandg@colpos.mx)

**Index words:** *in vitro plant nutrition*, Saccharum, auxins, cytokinins.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los retos que enfrenta la agroindustria de la caña de azúcar (*Saccharum spp.*) para ser más competitiva es aumentar su productividad y disminuir costos de producción, por lo cual es necesario introducir los adelantos científicos y técnicos en esta cadena productiva. La biotecnología, a través del cultivo *in vitro*, ha mostrado sus beneficios al posibilitar la producción de plantas con pureza genética y calidad fitosanitaria que aseguran un mayor amacollamiento, una vez que se han establecido en campo (Tiel *et al.*, 2006). En la actualidad, existen numerosos medios de cultivo utilizados para la propagación *in vitro* de caña de azúcar, los cuales se basan, principalmente, en las sales de Murashigue y Skoog (MS) (Murashigue y Skoog, 1962), y varían las concentraciones de nutrimentos, elementos orgánicos y reguladores de crecimiento (Lakshmanan *et al.*, 2005).

Los reguladores de crecimiento, en particular las auxinas y las citocininas, tienen funciones determinantes en el éxito de la micropropagación. Por lo general, la auxina ácido indol-3-acético (AIA) produce elongación celular, expansión de los tejidos, división celular (forma callo), formación de raíces adventicias, inhibición de brotes axilares y adventicios y, con frecuencia, embriogénesis en los cultivos en suspensión. La citocinina kinetina (KIN) se utiliza para estimular la división celular, el crecimiento y el desarrollo. La KIN, en concentraciones elevadas (1.0 a 10 mg L<sup>-1</sup>), induce la formación de brotes adventicios, inhibe la formación de raíces y retarda el envejecimiento, por lo que es necesario encontrar un balance entre estos reguladores del crecimiento en el medio de cultivo (Pierik, 1990).

Algunos estudios indican que existe una relación entre reguladores de crecimiento, nutrición y crecimiento vegetal. Por ejemplo, Jiang *et al.* (2001) estudiaron el efecto de la remoción del meristemo apical y la aplicación de ácido naftalenacético (ANA) en la partición y el flujo de potasio en tabaco (*Nicotiana tabacum*) y encontraron que la aplicación del regulador de crecimiento incrementó la asimilación del K, principalmente en tallos (64.5% del K abastecido) y hojas (27% del K abastecido).

En plantas de papa (*Solanum tuberosum*) crecidas en suelos deficientes de Zn y B, Puzina (2004) estudió el efecto de tratamientos con 3 mM Zn (como sulfato de zinc) y 8 mM B (como ácido bórico) en el contenido y la relación de reguladores de crecimiento en hojas y tubérculos maduros. El tratamiento con Zn incrementó sustancialmente el contenido de citocininas y la relación citocininas/ácido abscísico, pero disminuyó la relación AIA/citocininas. El tratamiento con B provocó un incremento en el contenido de AIA y la relación AIA/citocinina. El tratamiento con Zn evitó la dominancia apical e incrementó el peso de tubérculos.

López-Bucio *et al.* (2005) realizaron análisis genéticos y moleculares con diversos mutantes *lpr* (low phosphate-resistant root) de *Arabidopsis thaliana* que exhiben formación reducida de raíces laterales en condiciones de deficiencia de P; estos mutantes son alelos del gen *BIG*, cuya proteína se requiere para el transporte normal de auxinas. La aplicación exógena de auxinas recuperó la formación normal de raíces laterales en los mutantes *lpr* cuando el medio contenía 1 mM ó 1 µM de P. Cuando los mutantes se trataron con brefeldina A, un metabolito de origen fúngico que bloquea el transporte de auxinas, las alteraciones en el desarrollo de raíces fueron semejantes a las observadas en los mutantes crecidos tanto en 1 mM como en 1 µM de P, lo que sugiere que la proteína *BIG* participa en la activación de transportadores de auxinas en los tejidos vasculares. En conclusión, el transporte de auxinas y la función de *BIG* afectan significativamente la elongación de los pelos radicales.

Sakakibara *et al.* (2006) reportan que el N inorgánico funciona como una señal que regula la expresión de genes relacionados con la modulación del metabolismo y con el desarrollo. Para integrar las señales de N, las plantas utilizan múltiples rutas de señalización. Una de esas rutas depende del nitrato, mientras que otra usa citocininas como mensajero. Las señales específicas del nitrato pueden regular el metabolismo del N y el C, y la biosíntesis de citocininas. Las señales mediadas por las citocininas están relacionadas con el control del desarrollo, síntesis de proteínas y absorción de macronutrimentos.

Todos estos estudios evidencian la estrecha relación que existe entre la nutrición de la planta y los reguladores de crecimiento. Sin embargo, ninguno de ellos ha incluido un análisis completo del estado nutrimental relacionado con el efecto de reguladores de crecimiento, por lo que

en esta investigación se analizó la influencia de diferentes concentraciones de auxinas y citocininas en el contenido de macronutrientes y micronutrientes, y el crecimiento de vitroplantas de caña de azúcar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba (km 348 carretera federal Córdoba-Veracruz, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Ver.), localizado a 646 m de altitud, 18° 51' N y 96° 51' O.

Se utilizó el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS) (Murashige y Skoog, 1962) con los nutrientes y compuestos orgánicos a 100%, incluyendo 2% de sacarosa (p/v) y 2.15 g L<sup>-1</sup> de Phytigel (Sigma-Aldrich) como agente gelificante. El pH del medio se ajustó a 5.7 ± 0.1 y se esterilizó en autoclave vertical a 1.05 kg cm<sup>-2</sup> y 120 °C durante 15 min.

El material biológico utilizado consistió en vitroplantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) de seis semanas de la variedad ITV 92-1424. Se disectaron los ápices de 3 mm de longitud de estas plántulas y se depositaron en frascos de vidrio con capacidad de 45 mL, con 10 mL de medio MS, el cual contenía diferentes concentraciones de AIA y KIN (Cuadro 1). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones y cada una de éstas consistió de un frasco con un explante. Los cultivos establecidos en el medio de cultivo *in vitro* se mantuvieron en un cuarto de incubación de ambiente controlado, con luz blanca fluorescente, cuya radiación fotosintética activa fue de 50 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, con un fotoperíodo de 16 h y temperatura promedio de 24 °C ± 2. El material se mantuvo en estas condiciones por cuatro semanas.

Para el análisis nutrimental, las vitroplantas se lavaron perfectamente con la finalidad de remover por completo residuos de medio de cultivo que pudieran existir. Después, se secaron en estufa de aire forzado a una temperatura de 70 °C durante 72 h. Una vez concluido este tiempo, se evaluó la materia seca y las plantas se molieron en morteros de porcelana con pistilo y luego se determinó la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B y Na, por espectrofotometría de gases de absorción atómica de plasma acoplado (ICP-AES Liberty II).

**Cuadro 1. Concentraciones de ácido indol-3-acético (AIA) y kinetina (KIN) adicionados al medio Murashige y Skoog para el cultivo *in vitro* de caña de azúcar.**

Tratamiento	Concentración de AIA	Concentración de KIN
	----- mg L <sup>-1</sup> -----	
T1	0.0	0.0
T2	0.0	0.5
T3	0.0	1.0
T4	0.0	1.5
T5	0.0	2.0
T6	0.5	0.0
T7	0.5	0.5
T8	0.5	1.0
T9	0.5	1.5
T10	0.5	2.0
T11	1.0	0.0
T12	1.0	0.5
T13	1.0	1.0
T14	1.0	1.5
T15	1.0	2.0
T16	1.5	0.0
T17	1.5	0.5
T18	1.5	1.0
T19	1.5	1.5
T20	1.5	2.0
T21	2.0	0.0
T22	2.0	0.5
T23	2.0	1.0
T24	2.0	1.5
T25	2.0	2.0

Para analizar el crecimiento de las plantas, en cada repetición, se evaluaron el número (NB) y el tamaño de brotes (TB), cuatro semanas después del establecimiento de los tratamientos.

Los datos de las variables nutrimentales y las variables de crecimiento se analizaron con el programa estadístico SAS (SAS Institute, 2000), para un experimento factorial 5<sup>2</sup>, utilizando un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico de las medias de los datos relacionados con la nutrición de las vitroplantas muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). El factor AIA afectó significativamente la concentración de macro y micronutrientes en el tejido

**Cuadro 2. Concentraciones nutrimentales en tejido vegetal de plantas de caña de azúcar variedad ITV 92-1424 propagadas en medios de cultivo con diferentes concentraciones de ácido indol-3-acético (AIA).**

AIA mg L <sup>-1</sup>	Nutrimentos en tejido vegetal									
	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	g kg <sup>-1</sup>				mg kg <sup>-1</sup>					
0	3.0b	3.4b	3.1b	2.1b	1592.4b	172.1b	4.5b	117.2b	120.6b	164.1e
0.5	3.9a	3.9a	4.9a	3.2a	2156.9a	295.4a	5.0a	181.9a	202.9a	238.8c
1.0	2.3e	2.2e	2.2c	1.6c	1424.5c	139.6e	1.3c	99.0c	90.1c	214.6d
1.5	2.5d	2.5d	2.0d	1.5d	1259.9d	144.8d	0.5d	89.4e	69.3d	258.1b
2.0	2.8c	2.8c	1.8e	1.5d	1070.3e	170.1c	0.5d	92.4d	69.3d	266.8a

Letras distintas en una misma columna (para un mismo nutriente) indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos.

vegetal (Cuadro 2). Para el P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, y Na, los valores más altos se obtuvieron con 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA. Para estos mismos elementos, la ausencia de este regulador del crecimiento (0 mg L<sup>-1</sup> AIA) ocasionó concentraciones que se ubicaron enseguida de las más altas observadas con 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA en el medio de cultivo. Los valores más bajos, por lo general, se obtuvieron en plantas crecidas en medios de cultivo con 1.0, 1.5 y 2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA. A este respecto, se sabe que para caña de azúcar una concentración de 0.1 mg L<sup>-1</sup> de ácido naftalenacético (ANA, otra auxina) en el medio de cultivo es suficiente para promover un sano crecimiento *in vitro* de esta especie (Franklin *et al.*, 2006). Por su parte, Gill *et al.* (2005) sostiene que 5 mg L<sup>-1</sup> de ANA mejoran la regeneración de vástagos en las variedades CoJ64, CoJ83 y CoJ86 de caña de azúcar y que en ausencia de auxinas no hay regeneración de tejidos en estas variedades. Sin embargo, ningún autor discute aspectos que relacionen las concentraciones de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo con la nutrición de la planta.

En el caso del B se excluye la tendencia general observada en la mayoría de los nutrientes analizados en este estudio, pues, los valores más altos de este elemento se encontraron en plantas crecidas en medios con 2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA.

Diversos estudios han demostrado la esencialidad del B en el metabolismo de las auxinas; ejemplo de estos hallazgos es el incremento de la tasa de oxidación del AIA en soya (*Glycine max*) deficiente en B (Blevins y Lukaszewski, 1998), lo que se atribuye a las interacciones de este elemento con el cofactor AIA oxidasa, magnesio y ácido p-cumérico. La fertilización foliar con B ocasiona menor concentración de Mn en hoja, tanto en menta (*Mentha piperita*) como en soya y se ha observado la inhibición de la enzima alantoato amidohidrolasa, la cual es dependiente del Mn. El ácido

bórico, aplicado al follaje en soya, incrementa hasta 10 veces la concentración de alantoato en hojas tratadas. La acumulación de alantoato, en respuesta a B, es significativamente menor en plantas asperjadas con Mn. En ensayos *in vitro*, la actividad de la enzima alantoato amidohidrolasa está determinada por la relación B/Mn en la reacción (Blevins y Lukaszewski, 1998).

El B es requerido para la elongación celular y la morfogénesis normal de embriones. La deficiencia de B en presencia de ácido indolacético exógeno ocasiona ausencia de elongación celular. En presencia de ácido giberélico, la deficiencia de B provoca ausencia completa del desarrollo celular. Cuando se adicionan tanto ácido indol-3-acético como ácido giberélico, la ausencia de B tiene menores efectos detrimentales en el desarrollo vegetativo. En efecto, se ha demostrado que el B está asociado a la regulación enzimática, la división celular, el metabolismo de la célula y la elongación de raíces (Martínez-Pastur *et al.*, 2000).

Puzina (2004) demostró que la aplicación de B incrementa el contenido de ácido indol-3-acético en plantas de papa y postula que resultados similares se podrían esperar cuando los explantes *in vitro* reciben concentraciones crecientes de B, lo cual se observa en este estudio, pues la concentración más alta de AIA (2 mg L<sup>-1</sup>) produjo la mayor concentración de este elemento en tejido vegetal. Como lo establecieron Blevins y Lukaszewski (1998), el B interacciona con la AIA oxidasa, el Mn y el ácido cumérico, y permite un equilibrio dinámico para mantener el crecimiento homeostático de la planta.

La kinetina (KIN) afectó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de todos los elementos analizados (Cuadro 3).

En general, los valores más altos de concentración nutrimental se obtuvieron con la adición de 1 a 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN, excepto en el caso del Cu, pues el valor

**Cuadro 3. Concentración nutrimental en tejido vegetal de plantas de caña de azúcar variedad ITV 92-1424 propagadas en medios de cultivo con diferentes concentraciones de kinetina (KIN).**

KIN	Nutrimentos en tejido vegetal									
	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg L <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>				mg kg <sup>-1</sup>					
0	2.0e	2.0e	2.0e	1.4e	1101.4e	148.8e	1.1e	85.5e	81.0e	161.6c
0.5	2.4d	2.4d	2.8c	2.0c	1475.9d	197.2b	3.6a	96.7d	118.8b	153.8c
1.0	3.9a	3.9a	3.0b	2.2b	1731.5a	217.7a	2.9b	145.4a	115.0c	326.6a
1.5	3.1b	3.1c	3.6a	2.5a	1706.9b	184.7c	2.8c	133.6b	137.7a	250.2b
2.0	3.0c	3.4b	2.6d	1.9d	1488.1c	173.5d	1.7d	119.2c	99.7d	250.2b

Letras distintas en una misma columna (para un mismo nutrimento) indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos.

más alto se observó con una concentración de 0.5 mg L<sup>-1</sup> KIN. El Cu desempeña funciones catalíticas y es parte de enzimas como la polifenol oxidasa (POO) y la ácido ascórbico oxidasa (AOO); la primera guarda una relación positiva con la resistencia a patógenos y el ataque de herbívoros (Mayer, 2006), mientras que la actividad de AOO está relacionada con el desarrollo, en la degradación del ácido ascórbico y el control de la homeostasis de oxígeno en plantas (De Tullio *et al.*, 2007). Además, el Cu está presente en la plastocianina de los cloroplastos (componente importante del sistema transportador de electrones de la fotosíntesis) y puede estar involucrado en la reducción de nitritos (Bidwell, 1993).

Los tratamientos generados por la combinación de los factores AIA y KIN mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) tanto en la concentración de macronutrimentos (Cuadro 4) como en la de micronutrimentos (Cuadro 5).

Tanto para la concentración de P como para la de K (Cuadro 4), de manera coincidente, los valores más altos se obtienen en los tratamientos T3 y T10. Éstos incluyen la combinación nula y baja de AIA (0 y 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA, respectivamente) con concentraciones medias y altas de KIN (1.5 y 2.0 mg L<sup>-1</sup> KIN, respectivamente). Por otra parte, para el caso de Ca y Mg, los mayores valores se observaron de manera consistente en los tratamientos T4 (0.0 mg L<sup>-1</sup> AIA + 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN), T7 (0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> KIN) y T9 (0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA + 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN), lo cual indica que la ausencia y las concentraciones bajas de AIA, combinadas con concentraciones bajas y medias de KIN, incrementan la concentración de estos dos macronutrimentos. Resulta aún más interesante el hecho de que en los cuatro macronutrimentos analizados en este experimento, las concentraciones más bajas

de los mismos se observaron en los tratamientos T12 y T21, los cuales incluyen la combinación de concentraciones medias y altas de AIA (1.0 y 2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA, respectivamente) con concentraciones bajas y nulas de KIN (0.5 y 0.0 mg L<sup>-1</sup> KIN, respectivamente).

De manera reiterada se observó que para Fe, Cu, Mn y Na, las concentraciones más altas se obtienen con el tratamiento T7 (0.5 mg L<sup>-1</sup> de ambos reguladores de crecimiento) (Cuadro 5).

Un comportamiento diferente se presentó con los elementos Zn y B. Para Zn, el tratamiento T9 (0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA + 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN) es el que ocasionó mayor concentración de este elemento en tejido vegetal, mientras que la de B se incrementó con el tratamiento T24 (2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA + 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN). Por su parte, los tratamientos T12 (1.0 mg L<sup>-1</sup> AIA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> KIN), T21 (2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA + 0.0 mg L<sup>-1</sup> KIN) y T22 (2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA + 0.5 mg L<sup>-1</sup> KIN) provocaron las concentraciones más bajas de Fe, Zn, B y Na. Para Cu y Mn, las concentraciones más bajas se observaron en los tratamientos T18 y T24, los cuales incluyen de 1.5 a 2.0 mg L<sup>-1</sup> AIA 1.0 mg L<sup>-1</sup> KIN, respectivamente.

El efecto de las concentraciones de AIA en el número de brotes (NB) y tamaño de brotes (TB) se muestra en la Figura 1. El mayor número de brotes ( $P \leq 0.05$ ) se observó en los tratamientos que incluyeron 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA, el cual fue de 48.12. En seguida se ubicaron las medias de los tratamientos que no incluyeron el regulador del crecimiento AIA en el medio de cultivo. Al aumentar la concentración de AIA por arriba de 0.5 mg L<sup>-1</sup>, el número de brotes disminuyó. A pesar de que este regulador no afectó en forma significativa ( $P > 0.05$ ) el tamaño de brotes, la tendencia observada indica que a mayor nivel de este regulador del crecimiento en el medio de cultivo, el tamaño de brote tendió a ser mayor.

**Cuadro 4. Interacción de ácido indol-3-acético (AIA) y kinetina (KIN) sobre la concentración de macronutrientes en tejido vegetal de vitroplantas de caña de azúcar variedad ITV 92-1424.**

T	P	T	K	T	Ca	T	Mg
	g kg <sup>-1</sup>						
T3	4.95a	T3	4.95a	T7	7.64a	T7	4.56a
T10	4.92a	T10	4.92a	T4	6.34b	T9	3.90b
T23	4.43b	T23	4.42ab	T9	5.68c	T4	3.47c
T4	4.30c	T7	4.23ab	T10	4.73d	T10	3.15d
T7	4.25d	T8	4.08abc	T8	3.92e	T3	2.70e
T8	4.08e	T4	4.08abc	T13	3.56f	T8	2.56f
T9	3.91f	T5	4.07abc	T3	3.36g	T13	2.18g
T18	3.69g	T9	3.90abcd	T23	2.77h	T24	2.15gh
T24	3.28h	T18	3.69abcde	T11	2.62i	T23	2.12h
T25	3.18i	T24	3.28abcde	T6	2.55ij	T6	1.95i
T11	2.87j	T25	3.18bcdefg	T20	2.45jk	T18	1.78j
T15	2.66k	T11	2.86cdefgh	T5	2.35kl	T20	1.73jk
T19	2.51l	T15	2.65defgh	T19	2.32l	T11	1.69k
T13	2.43m	T19	2.51efgh	T17	2.10m	T15	1.68kl
T2	2.35n	T13	2.43efgh	T24	1.99mn	T2	1.68kl
T20	2.34n	T2	2.35efgh	T15	1.98mn	T19	1.63lm
T6	2.34n	T20	2.34fgh	T1	1.97n	T5	1.61m
T17	2.25o	T6	2.33fgh	T2	1.94n	T25	1.48n
T5	2.02p	T17	2.25fgh	T14	1.79o	T17	1.43n
T16	1.98q	T16	1.97fgh	T16	1.71pq	T14	1.36o
T14	1.93r	T14	1.92gh	T18	1.64pq	T1	1.24p
T22	1.88s	T22	1.88gh	T21	1.62pq	T22	1.22pq
T1	1.69t	T1	1.69h	T25	1.58q	T16	1.17q
T12	1.61u	T12	1.60h	T22	1.46r	T12	1.11r
T21	1.58u	T21	1.57h	T12	1.34r	T21	0.99s

Letras distintas en una misma columna (para un mismo nutriente) indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos. T = tratamiento. Tratamientos de acuerdo con el Cuadro 1.

Las auxinas promueven el crecimiento en tallos y coleóptilos; este crecimiento se produce por un aumento en la extensibilidad de la pared celular, debido a que estos reguladores inducen el transporte de protones hacia la pared celular, tanto por estimulación de H<sup>+</sup>-ATPasas existentes como por el incremento en la síntesis de estas proteínas (Zandonadi *et al.*, 2006). La capacidad de los protones para provocar la pérdida de pared celular está mediada por expansinas, proteínas que rompen los puentes de hidrógeno entre polisacáridos de la pared. La elongación celular, en forma adicional, está regulada por la captación de solutos, la síntesis y el depósito de polisacáridos y proteínas necesarios para mantener la capacidad de desgaste de la pared inducida por ácidos (Zhao, 2008).

Las auxinas también promueven la formación de raíces adventicias en hojas y tallos y la dominancia apical, y favorecen la floración e inducen la diferenciación

vascular (Perrot-Rechenmann y Napier, 2005). La proteína ABA I es el receptor de auxinas, pues se une y fija estos reguladores del crecimiento vegetal en primer lugar en la cadena de transducción de señales celulares. Su sistema de transducción involucra AMPc y la cascada de MAP cinasa. La activación transcripcional de genes involucra la ubiquitinación de proteínas reguladoras de ADN (Zhao, 2008). En este estudio se demostró que hubo una influencia significativa de la concentración de 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA en el número de brotes emitidos, aunque no afectó el tamaño de éstos.

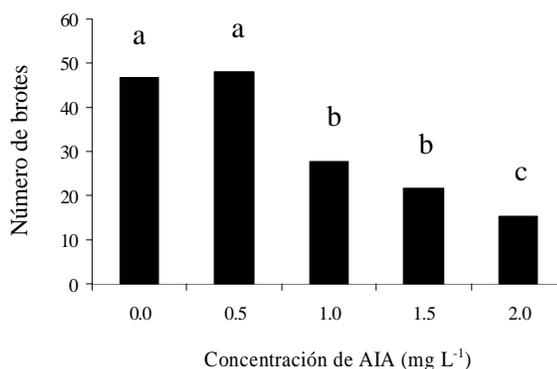
El factor KIN no tuvo efectos significativos sobre las variables de crecimiento evaluadas ( $P > 0.05$ ; datos no mostrados).

Al analizar la interacción entre los factores evaluados se observa que la combinación que incrementó significativamente la variable NB (Figura 2) fue 0.0 mg L<sup>-1</sup> AIA y 1.5 mg L<sup>-1</sup> KIN (57.2 brotes), seguida

**Cuadro 5. Efecto de las interacciones de ácido indol-3-acético (AIA) y kinetina (KIN) en la concentración de micronutrientos en tejido vegetal de vitroplantas de caña de azúcar variedad ITV 92-1424.**

T	Fe	T	Cu	T	Zn	T	Mn	T	B	T	Na
----- mg kg <sup>-1</sup> -----											
T7	505a	T7	9.3a	T9	241a	T7	336a	T24	463a	T7	3191a
T9	298b	T3	7.1b	T10	216b	T4	240b	T18	438a	T4	2661b
T3	266c	T4	6.8c	T7	179c	T9	223c	T23	368b	T13	2287c
T10	265c	T2	4.8d	T8	178c	T10	194d	T20	311c	T10	2272c
T8	260c	T10	4.7d	T3	169d	T8	155e	T15	301cd	T9	2091d
T23	245d	T9	4.7d	T4	164e	T13	148f	T8	294cde	T8	1930e
T11	223e	T8	4.7d	T23	154f	T23	114g	T13	269def	T3	1634f
T18	207f	T23	3.0e	T11	122g	T3	111g	T19	265def	T15	1613fg
T25	202f	T14	2.8e	T15	121g	T6	107h	T3	264ef	T23	1603fg
T4	193g	T5	2.1f	T18	113h	T5	103h	T7	260ef	T19	1583g
T24	177h	T12	2.0f	T13	111h	T11	98i	T11	253f	T2	1344h
T15	161i	T1	2.0f	T25	102i	T19	89j	T10	248f	T6	1299i
T2	153ij	T17	1.8g	T6	95j	T1	79k	T9	244f	T5	1297i
T19	151j	T6	1.7g	T24	94jk	T17	77k	T25	240f	T20	1252j
T6	147jk	T11	1.1h	T19	91jk	T15	76kl	T2	155g	T18	1203k
T1	142k	T15	0.9hi	T17	91jk	T14	73lm	T14	155g	T16	1186k
T20	133l	T20	0.7i	T2	90k	T20	70m	T5	150g	T14	1144l
T17	123m	T21	0.4j	T5	83l	T2	70m	T6	148g	T11	1122l
T21	122m	T16	0.3jk	T1	78m	T16	64n	T16	142g	T17	1074m
T13	108n	T25	0.1kl	T14	77m	T24	64n	T21	139g	T24	1054mn
T16	107n	T19	0.0l	T16	77m	T21	57o	T17	135g	T1	1025no
T5	104n	T13	0.0l	T20	73n	T22	56o	T1	126gh	T25	1007o
T14	103n	T22	0.0l	T12	62o	T25	56o	T4	125gh	T12	956p
T22	102n	T18	0.0l	T22	60o	T12	55o	T22	125gh	T21	874q
T12	101n	T24	0.0l	T21	52p	T18	47p	T12	94h	T22	814r

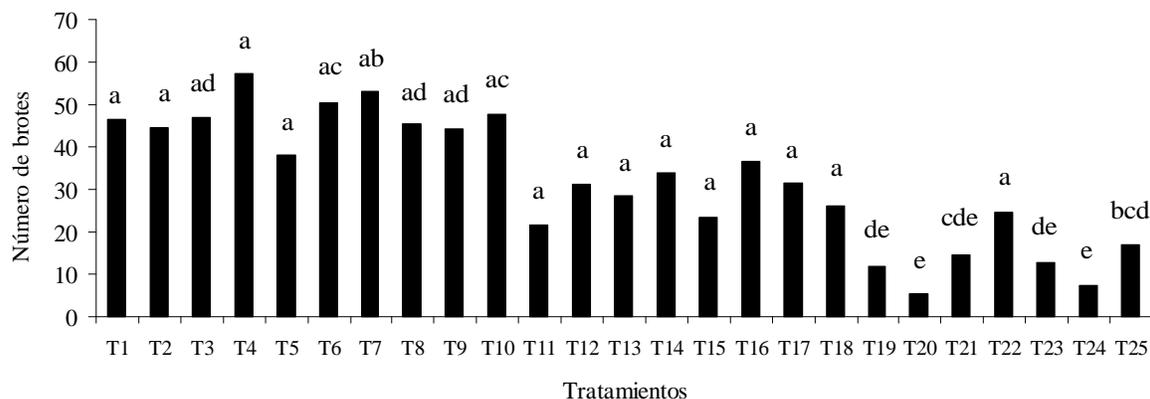
Letras distintas en una misma columna (para un mismo nutriente) indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos. T = tratamiento. Tratamientos de acuerdo con el Cuadro 1.



**Figura 1. Efecto de la concentración de ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de brotes de vitroplantas de caña de azúcar variedad ITV 92-1424.** Las columnas representan medias de 5 mediciones. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

de la combinación 0.5 mg L<sup>-1</sup> AIA con 0.5 mg L<sup>-1</sup> KIN (53.2 brotes). Esto significa que tanto con la ausencia como con bajas concentraciones de AIA, en combinación con concentraciones altas y bajas de KIN, se obtuvo un mayor número de brotes por unidad experimental. Para el caso de la variable TB, el análisis estadístico indicó que no existe diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), aunque sí se observa que al aumentar la concentración de los reguladores en el medio de cultivo también aumenta el valor de esta variable.

Este comportamiento puede explicarse a la luz de que en cada especie existe un balance entre auxinas y citocininas para mantener el crecimiento y desarrollo de órganos; mientras las auxinas (como AIA) aumentan el tamaño de la célula, las citocininas (como la kinetina) incrementan el número de éstas. En este estudio, la variable TB (crecimiento celular) estuvo estimulada por concentraciones altas de ambos reguladores



**Figura 2. Efecto de la interacción del ácido indol-3-acético y la N6-furfuriladenina (kinetina) en el número de brotes de vitroplantas de caña de azúcar de la variedad ITV 92-1424. Letras iguales sobre las columnas indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Tratamientos de acuerdo con el Cuadro 1.**

de crecimiento, lo que también afectó la concentración de nutrimentos en el tejido vegetal analizado, y se observó un mejor estado nutricional en plantas sometidas a las concentraciones más altas de los reguladores de crecimiento evaluados.

## CONCLUSIONES

- La concentración de ácido indol-3-acético (AIA) tuvo influencia sobre la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y Na; los valores más altos se obtuvieron con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  AIA. La kinetina (KIN) también afectó significativamente la concentración de todos los elementos analizados; en general, los valores más altos se obtuvieron con concentraciones de 1 a  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  KIN. La interacción de AIA y KIN mostró efectos sobre la concentración, tanto de macro como de microelementos.

- El mayor número de brotes se observó en los tratamientos que incluyeron  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  AIA. Al aumentar la concentración de AIA, por arriba de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ , el número de brotes (NB) emitidos disminuyó, mientras que el tamaño de brote (TB) tendió a ser mayor. KIN no tuvo efectos significativos sobre ninguna de las variables de crecimiento evaluadas. La interacción AIA x KIN mostró que la combinación que incrementa significativamente la variable NB es  $0.0 \text{ mg L}^{-1}$  AIA, con  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  KIN (57.2 brotes), seguida de la combinación  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  AIA, con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  KIN (53.2 brotes). Para el caso del tamaño de brotes se observó una respuesta opuesta a la mostrada en el número de brotes, pues a concentraciones bajas de ambos reguladores de crecimiento o en ausencia de AIA

se obtuvo un mayor número de brotes, pero su tamaño fue pequeño y, por el contrario, con las concentraciones más elevadas de estos mismos reguladores del crecimiento, el tamaño de los brotes aumentó, pero se obtuvo un menor número de ellos. La interacción no fue significativa para TB.

## LITERATURA CITADA

- Bidwell, R. G. S. 1993. Fisiología vegetal. AGT Editor. México, D. F.
- Blevins, D. G. and K. M. Lukaszewski. 1998. Boron in plant structure and function. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 481-500.
- De Tullio, M. C., S. Ciraci, R. Liso, and O. Arrigoni. 2007. Ascorbic acid oxidase is dynamically regulated by light and oxygen. A tool for oxygen management in plants? *J. Plant Physiol.* 164: 39-46.
- Franklin, G., S. Arvinth, C. J. Sheeba, M. Kanchana, and N. Subramonian. 2006. Auxin pretreatment promotes regeneration of sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) midrib segment explants. *J. Plant Growth Regul.* 50: 111-119.
- Gill, R., P. K. Malhotra, and S. S. Gosal. 2005. Direct plant regeneration from cultured young leaf segments of sugarcane. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 84: 100205-100209.
- Jiang, F., C. Li, W. D. Jeschke, and F. Zhang. 2001. Effect of top excision and replacement by 1-naphthylacetic acid on partition and flow of potassium in tobacco plants. *J. Exp. Bot.* 52: 2143-2150.
- Lakshmanan, P., R. J. Geijskes, K. S. Aitken, C. L. P. Grof, G. D. Bonnett, and G. R. Smith. 2005. Sugarcane biotechnology: the challenges and opportunities. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 41: 345-363.
- López-Bucio, J., E. Hernández-Abreu, L. Sánchez-Calderón, A. Pérez-Torres, R. A. Rampey, B. Bartel, and L. Herrera-Estrella. 2005. An auxin transport independent pathway is involved in phosphate stress-induced root architectural alterations in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 137: 681-691.

- Martínez-Pastur, G. M., M. Arena, and N. Curvetto. 2000. Calcium and boron for *in vitro* rooting of *Nothofagus nervosa*. *Biocell* 24: 65-71.
- Mayer, A. M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry* 67: 2318-2331.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Perrot-Rechenmann, C. and R. M. Napier. 2005. Auxins. *Vitam. Horm.* 72: 203-233.
- Pierik, L. M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Puzina, T. I. 2004. Effect of zinc sulphate and boric acid on the hormonal status of potato plants in relation to tuberization. *Rus. J. Plant Physiol.* 51: 209-215.
- Sakakibara, H., K. Takei, and N. Hirose. 2006. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trend Plant Sci.* 11: 440-448.
- SAS Institute. 2000. SAS's users guide. Statistics. Version 8.1. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- Tiel, K., G. A. Enríquez, Y. Ceballo, N. Soto, A. D. Fuentes, A. Ferreira, Y. Coll, and M. Pujol. 2006. Development of a system for rapid plant regeneration from *in vitro* sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) meristematic tissue. *Biotechnología Aplicada* 23: 22-24.
- Zandonadi, D. B., L. P. Canellas, and A. R. Façanha. 2006. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. *Planta* 225: 1583-1595.
- Zhao, Y. 2008. The role of local biosynthesis of auxin and cytokinin in plant development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 16-22.