

**Evaluación de microinjerto de *Ipomoea batatas* (L.) Lam e *Ipomoea setosa* Ker Gawl**

**José Hermes Mero Barros**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**

**Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONOMICA

# **Evaluación de microinjerto de *Ipomoea batatas* (L.) Lam e *Ipomoea setosa* Ker Gawl**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**José Hermes Mero Barros**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2017

## Evaluación de microinjerto de *Ipomoea batatas* (L.) Lam e *Ipomoea setosa* Ker Gawl

José Hermes Mero Barros

**Resumen.** El microinjerto es una técnica de injerto *in vitro* que implica la colocación de un meristemo, brotes o segmentos nodales sobre un portainjerto que ha sido cultivado *in vitro* a partir de semillas o partes vegetativas. El objetivo de este estudio fue adaptar el protocolo de microinjerto de Navarro (1979) de *Ipomoea batatas* (camote) e *Ipomoea setosa*. El estudio se realizó en dos etapas, una para adaptar el protocolo de Navarro 1979 y la otra para evaluar el protocolo adaptado usando *I. setosa*. Se usaron plántulas reproducidas *in vitro* en etapa de multiplicación subcultivo uno, con 21 días de desarrollo. La variedad de camote usada fue la Bush Bock. Para el microinjerto se usó el método de hendidura. Se midió el porcentaje de pegue entre la púa y el portainjerto al día siete y la formación de tejido calloso alrededor del tejido de unión diariamente hasta observar su formación. La incubación se realizó a 16 horas luz, 2 klx, 24 °C, 70% humedad relativa. En el microinjerto usando el camote como púa y portainjerto se obtuvo un 96% de pegue y presentó formación de callo alrededor del tejido de unión de un 100% en el día 13. En el microinjerto usando a *I. setosa* como púa y camote como portainjerto se obtuvo un 90% de pegue y una formación de callo alrededor del tejido de unión de un 91% al día 10. Se logró adaptar el protocolo de Navarro (1979) para microinjerto usando *Ipomoea setosa* e *Ipomoea batatas*.

**Palabras clave:** Batata, bioindicador, campanilla, injerto *in vitro*.

**Abstract.** The micrograft is an *in vitro* technique that involves the placement of a meristem, sprouts or nodal segments on a rootstock that has been cultivated *in vitro* from seeds or vegetative parts. The objective of this study was to adapt the protocol of micrografting of Navarro (1979) *Ipomoea batatas* (sweet potato) and *Ipomoea setosa*. The study was conducted in two stages, one to adapt the protocol of Navarro (1979) and the other to evaluate the protocol adapted using *I. setosa*. *In vitro* reproduced seedlings were used in subculture stage one with 21 days of development. The variety of sweet potato used was Bush Bock and the slit method for the micrograft. The percentage of join between the scion and the rootstock was measured on day seven and the formation of calli tissue around the union daily until it was observed. Incubation was performed at 16 hours light, 2 klx, 24 °C, 70% relative humidity. In the micrograft between sweet potato as a scion and rootstock 96% of joining was obtained and presented callus formation around the union tissue of 100% of micrografts on day 13. In the micrograft using *I.setosa* like scion and sweet potato as rootstock 90% of joinings and 91% of formation of callus around the tissue of union at day 10 were obtained. We managed to adapt the protocol of Navarro (1979) for micrograft using *Ipomoea setosa* and *Ipomoea batatas*.

**Key words:** Bioindicator, *in vitro* grafting, morning glory grafting, sweet potato.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. METODOLOGÍA.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>4. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>5. RECOMENDACIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>12</b>
<b>7. ANEXO.....</b>	<b>14</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado para la multiplicación <i>in vitro</i> de camote. ....	3

Figuras	Página
1. Preparación y desinfección de tubos catéter para fijar portainjerto y púa. ....	4
2. Proceso microinjerto en la preparación de púa y portainjerto. ....	5
3. Proceso de microinjerto en la unión de tejidos. ....	5
4. Proceso de eliminación de brotes del portainjerto. ....	6
5. Microinjertos camote (púa y portainjerto) con pegue. ....	7
6. Microinjertos sin pegue. ....	8
7. Desarrollo del microinjerto <i>I. setosa</i> (púa) – camote (portainjerto). ....	9

Anexos	Página
1. Protocolo de microinjerto de <i>Ipomoea batatas</i> e <i>Ipomoea setosa</i> . ....	14

## 1. INTRODUCCIÓN

El injerto es una técnica que nos permite unir el tejido de dos o más plantas para que crezcan como una sola planta. En un injerto se identifican dos partes el portainjerto que esta brinda el sistema radicular, esta comprende la parte inferior y la púa que comprende la parte superior. Obteniendo de esta forma el beneficio de resistencia a patógenos del portainjerto y de productividad por parte de la púa (Bilderback et al. 2014). Según el material vegetal usado hay tres tipos de injerto, el injerto autoplástico el portainjerto y púa provienen de la misma planta, el injerto homoplástico donde se hace injerto entre plantas de una misma especie y el injerto heteroplástico donde se hace injerto entre planta de diferentes especies (Castaño et al. 2005)

El microinjerto es una técnica de injerto *in vitro* que implica la colocación de un meristemo, brotes o segmentos nodales sobre un portainjerto que ha sido cultivado *in vitro* a partir de semillas o partes vegetativas. Estudios de microinjerto se han realizado para producir plantas libres de virus y sin características juveniles, haciendo uso de ápices caulinares con resultados de pegues de tejidos del 30 - 50%, tomando en cuenta las edades del portainjerto y el ápice a injertar (Navarro 1979). Estudios del uso de plántulas bioindicadoras en microinjerto se han llevado acabo también en la identificación de virus de material vegetal en el cultivo de uva haciendo uso de plántulas de *Vitis riparia* como bioindicadora de virus como closterovirus (Pathirana y Mckenzie 2007).

Los indicadores biológicos son especies o comunidades de organismos, que mediante su presencia, comportamiento o estado fisiológico nos permiten saber de cambios en el ambiente. Esto se debe a que presentan una estrecha correlación con determinadas circunstancias del entorno. Una planta es considerada como bioindicador cuando esta presenta reacciones identificables con los distintos grados de concentración de contaminantes en la atmosfera o con otro tipo de alteraciones ambientales (Ederra 1997).

El camote es una planta perenne, pero es cultivada como anual, esta se propaga mediante el uso de esquejes que provienen de campos de producción. Este material puede acumular patógenos, especialmente virus, por esta razón se han tenido grandes disminuciones en rendimiento y calidad. Esto se debe principalmente a no detectar oportunamente la presencia de virus en el material fuente de propagación (Clark et al. 2012).

En Honduras los rendimientos en producción de camote presentaron una disminución del 9% entre los años 1993 y 1994. A partir del año de 1994 hasta el año 2000 se presentó un incremento del 30%, pero a partir del año 2001 se generó otra disminución en el rendimiento de un 26% Después del año 2002 sea mantenido un nivel casi constante en rendimientos hasta el año 2014 (FAOSTAT 2014).

La razón de infección por virus en el cultivo de camote se debe a vectores como *Bemisia tabaci* y *Myzus persicae* que son considerados entre los principales transmisores de virus. Sin embargo, la principal causa de pérdidas en la producción en los sistemas donde los agricultores al establecer el cultivo hacen uso de partes vegetativas contaminadas ya sean estas provenientes de cultivos anteriores u obtenidos por empresas productoras. Esto es debido a que el camote es un fácil hospedero de una gran variedad de virus (Cusumano y Zamudio 2013).

Para disminuir el riesgo de contaminación por virus se usan prácticas culturales para evitar la propagación o aparición de vectores, y el uso de propágulos libres de virus o enfermedades. Uno de los métodos a utilizar para conseguir propágulos sanos ha sido la reproducción *in vitro*, pero este método posee la limitante de la selección del material genético base del cual se van a producir los explantes. Esto se debe a que en el camote se vuelve muy difícil la identificación de los virus debido a que se pueden llegar a confundir fácilmente los síntomas de deficiencias de nutrientes (Del Valle Di Feo 2015).

Uno de los métodos para diagnosticar virus que afectan al camote, implican el injerto de plantas indicadoras como *Ipomea setosa* Ker Gawl. Una vez realizado el injerto el virus presente en el camote infecta rápidamente a *I. setosa* lo que nos permite una detección más precisa del virus mediante la observación de síntomas, que solo la observación de plantas de camote (Meira et al. 2012). El no lograr identificar la presencia del virus en la selección de tejido vegetal para una reproducción *in vitro* puede llevar al fracaso y posteriormente a pérdidas financieras al productor de explantes debido al alto costo que conlleva reproducirlas (Del Valle Di Feo 2015).

Los virus a menudo están presentes en plantas de camote en niveles bajos, mientras que la severidad y expresión de síntomas pueden variar considerablemente dentro de cultivares, dependiendo de los virus implicados. El uso de *I. setosa* permite una mejor observación de síntomas de virus en camote (Meira et al. 2012). El uso de *I. setosa* no solo es reducido a la detección de virus, sino que también puede ser usada para probar la resistencia en plantas transgénicas debido a su alto grado de susceptibilidad a los virus (Okada et al. 2001).

Se han hecho estudios injertando *Ipomoea setosa* en camote proveniente de Copán, Honduras para determinar la presencia de virus. Entre estos virus podemos encontrar el virus del moteado plumoso del camote cepa RC, virus del camote C, virus del enanismo clorótico cepa WA, virus del enrollamiento de la hoja cepa Georgia, pakakuy virus cepa B. Obteniendo como resultado que el 83% de las plantas seleccionadas presentaron síntomas de virulencia (Kashif et al. 2012).

El objetivo del estudio fue:

- Adaptar el protocolo de microinjerto de Navarro (1979) *Ipomoea batatas* e *Ipomoea setosa*.

## 2. METODOLOGÍA

### Localización del estudio.

El proyecto de investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

### Fuente del material vegetal.

Se utilizó como fuente de material vegetal plántulas de camote variedad Bush Bock establecidas *in vitro* a partir de meristemos y plántulas de *Ipomoea setosa* establecidas *in vitro* a partir de semillas.

### Medio de cultivo.

El medio que se usó es el de multiplicación de camote que es el medio de Murashige y Skoog (MS) modificado por Jarret (1991) (Cuadro 1). Se ajustó el pH a 5.8, los medios fueron solidificados con Phytigel<sup>®</sup>, y se los esterilizó en autoclave a 150 °C, 15 PSI por 20 minutos.

Cuadro 1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado para la multiplicación *in vitro* de camote.

Componentes	Fórmula	mg/L
Macroelementos	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,650.000
	KNO <sub>3</sub>	1,900.000
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370.000
	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440.000
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170.000
Microelementos	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.200
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025
	KI	0.830
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22.300
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.250
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.600
	FeNa EDTA	50.000
Inositol		100.000
Tiamina		0.400
Sacarosa		70,000.000

Fuente: (Jarret 1991)

### **Preparación y desinfección de tubos catéter.**

Como medio para fijar los tejidos se utilizó un tubo de catéter de poliuretano el cual se cortó en secciones no mayores a 0.5 cm de longitud y al que se le hizo un corte longitudinal, con la finalidad de facilitar la remoción una vez que se haya confirmado el pegue de los tejidos. Los catéteres se desinfectaron con una solución de cloro al 30%  $\text{v/v}$  ( $\text{NaClO}$  4.72% ingrediente activo) con dos gotas de Tween<sup>®</sup> 80, durante 10 minutos, posteriormente se hizo triple lavado a los catéteres con agua destilada estéril dentro de la cámara de flujo laminar (Figura 1).

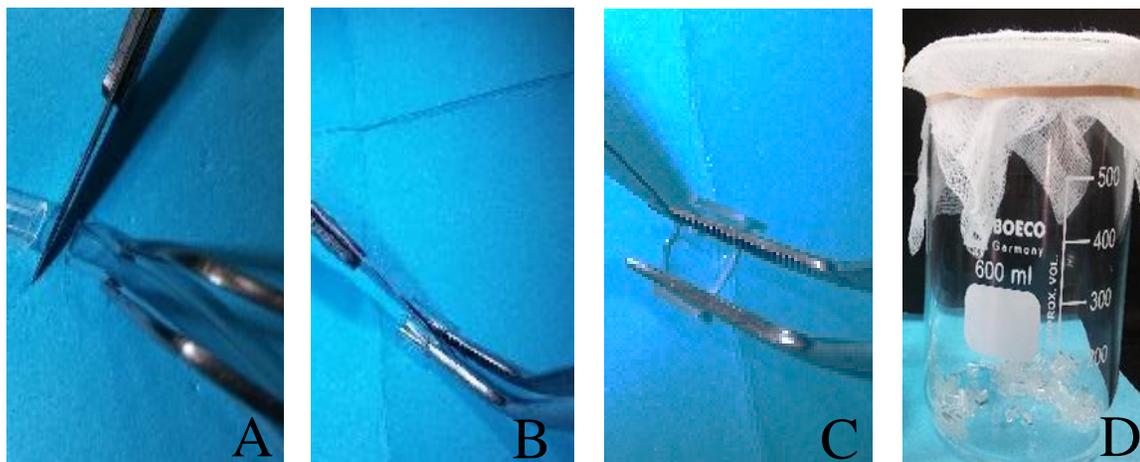


Figura 1. Preparación y desinfección de tubos catéter para fijar portainjerto y púa.

A. Corte del catéter en secciones no mayores a 0.5 cm; B. Corte longitudinal del catéter; C. Tubo catéter abierto; D. Limpieza con solución de cloro al 30 %  $\text{v/v}$  + Tween<sup>®</sup> 80 y tapado con gaza y una liga para el triple lavado.

### **Selección y preparación de plántula para portainjerto.**

Se utilizó plántulas en su primera etapa de multiplicación con 21 días de desarrollo, tratando de seleccionar plántulas con un diámetro de tallo similar. Con una pinza se extrajo la plántula de camote y se colocó en papel estéril, a la plántula usada como portainjerto se le podaron las raíces, se eliminó sus hojas, yemas y ápice dejando un tallo de 1 – 1.5 cm de longitud. Al portainjerto se les hizo un corte longitudinal no mayor a 3 mm en el centro de su parte distal (Figura 2).

### **Selección y preparación de plántula para púa.**

La púa se selecciona de la parte meristemal desarrollada con un segmento nodal que tenga de una a tres yemas y se eliminan las hojas. A la púa se le hizo un corte biselado por ambos lados en su parte proximal formando una punta en forma de “V” con la misma medida en longitud que el corte que se hizo en el portainjerto (Figura 2).

### **Establecimiento del microinjerto.**

La púa se insertó en el corte longitudinal del portainjerto para permitir el contacto entre los tejidos del cambium, posteriormente se colocó el tubo de catéter para mantener fijado los tejidos dejando la apertura del corte del tubo en dirección opuesta al corte longitudinal, con

una pinza se tomó a la plántula microinjertada y se colocó en un nuevo medio de cultivo, se tapó el frasco con papel aluminio, se selló con cinta plástica y se rotuló con un marcador la fecha (Figura 3).

Para el microinjerto de *Ipomoea setosa* se llevó el mismo procedimiento, con la única diferencia de que solo se usó como púa segmentos nodales, esto se hizo debido a que el diámetro del tallo del meristemo fue menor diámetro al del portainjerto y en un microinjerto es necesario que la púa y el portainjerto tengan un diámetro similar para que haya un mejor contacto entre tejidos. Se realizó 100 microinjertos, 50 homoplásticos (camote – camote) y 50 heteroplástico (*Ipomea setosa* (púa) – camote (portainjerto)).

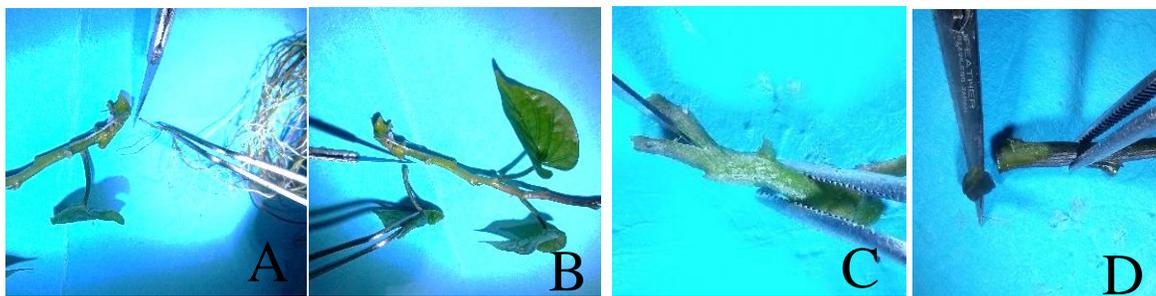


Figura 2. Proceso microinjerto en la preparación de púa y portainjerto. A. Corte de raíz del portainjerto; B. Corte de hojas del portainjerto; C. Corte longitudinal del portainjerto; D. Corte de bisel de la púa.

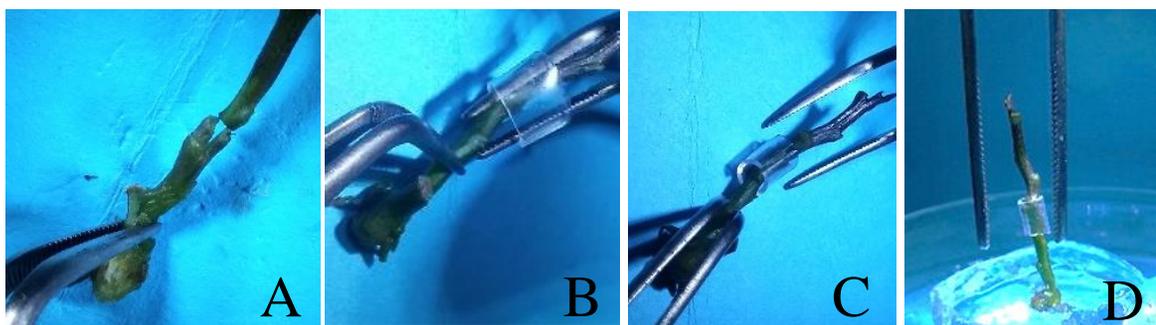


Figura 3. Proceso de microinjerto en la unión de tejidos. A. Unión de portainjerto y púa; B. Colocación del catéter; C. Ajuste del catéter; D. Colocación del microinjerto en frasco.

### **Incubación.**

Los microinjertos se colocaron en el cuarto de crecimiento a 16 horas luz, 2 klx, 24 °C, 70% humedad relativa.

### **Eliminación de brotes en el portainjerto del microinjertos homoplásticos (camote (púa) – camote (portainjerto)).**

Luego de un período de 15 días, 90% plántulas microinjertadas presentaron formación de brotes en su portainjerto por lo que se procedió a eliminar brotes para evitar la muerte de la púa injertada. Para esto se extrajo la plántula microinjertada, se colocó en papel estéril, se removieron los brotes y podaron las raíces (Figura 4). La plántula se volvió a colocar en un medio de cultivo fresco y se rotuló con la fecha en que se removieron los brotes y la fecha en la que fue microinjertada.

### **Eliminación de brotes en el portainjerto del microinjerto heteroplástico (*I. setosa* (púa) y camote (portainjerto)).**

Luego de un periodo de 10 días, 28% de las plántulas microinjertadas presentaron formación de brotes en el portainjerto, por lo que se procedió a realizar la remoción de los brotes siguiendo el mismo procedimiento de eliminación de brotes usado con el microinjerto de camote.

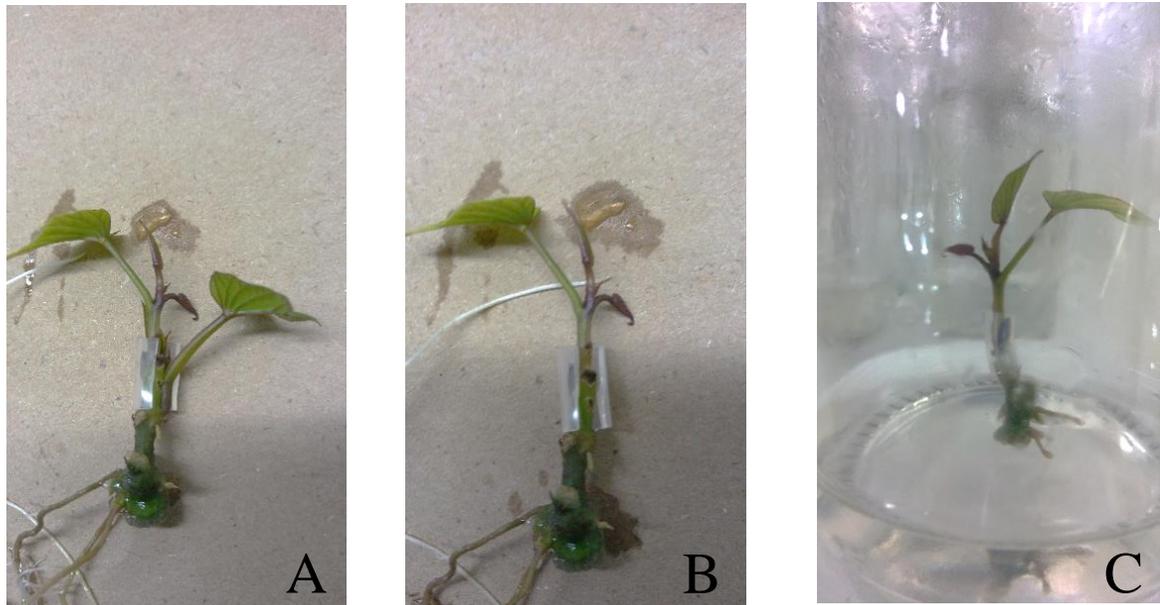


Figura 4. Proceso de eliminación de brotes del portainjerto.

A. Extracción del microinjerto del medio; B. Remoción de brotes y poda de raíz; C. Transferencia a medio de cultivo fresco.

### **Variables evaluadas.**

Se evaluó:

- a) Porcentaje de pegue entre el injerto y el portainjerto: a los siete días se observó si pegaron o no los microinjertos. Para verificar el pegue se tomó en cuenta la condición de la púa, esta debe presentar una apariencia vigorosa y debe presentar la formación de hojas en las yemas.
- b) Formación del callo alrededor del tejido de unión: se observó presencia o ausencia del callo diariamente hasta que se vió la formación.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **Microinjertos homoplásticos (camote (púa) – camote (portainjerto)).**

Se logró un 96% de pegue de tejidos a los 7 días de ser microinjertado (Figura 5). La falla en el pegue pudo darse por falta de precisión en el corte o porque el tubo catéter no dio la suficiente presión para mantener unidos los tejidos (Figura 6). A los 13 días el 100% de las plántulas microinjertadas mostraron formación de tejido calloso en su punto de unión.

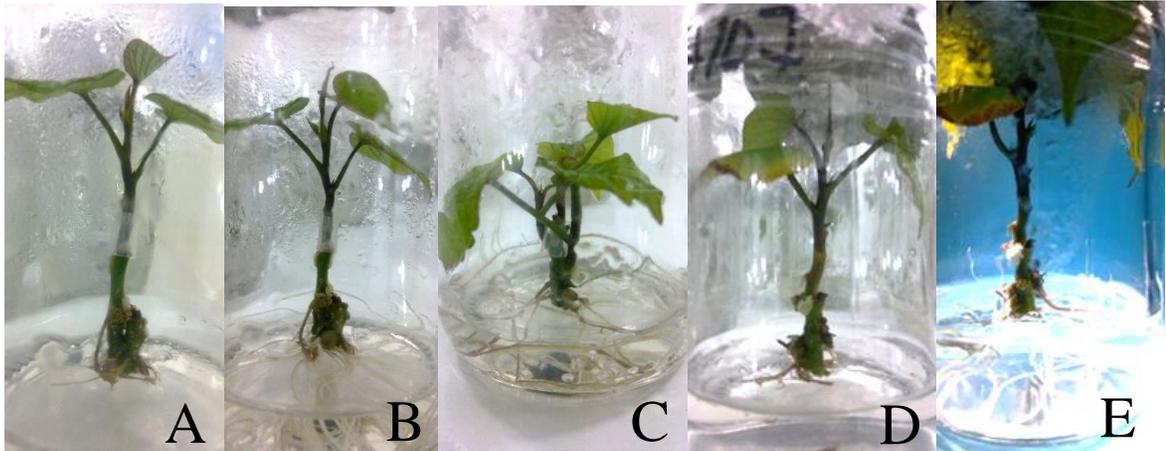


Figura 5. Microinjertos camote (púa y portainjerto) con pegue.

A. Microinjerto pegado a los 7 días; B. Microinjerto 13 días inicio de formación de callo entre tejidos; C. Microinjerto a los 15 días con brotes en el portainjerto; D. Microinjerto de 27 días después de la remoción de brotes; E. Microinjerto a los 37 días.

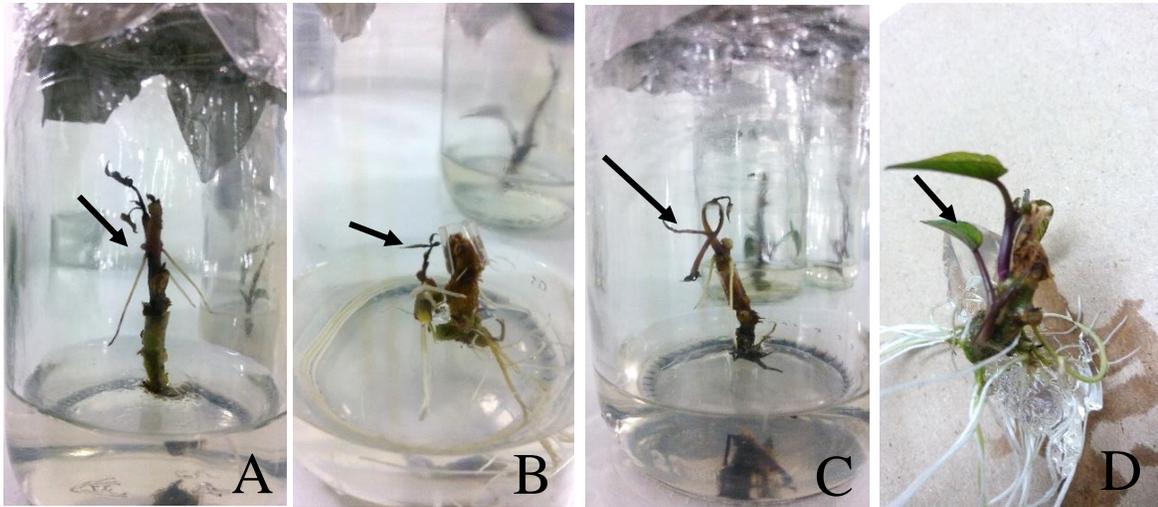


Figura 6. Microinjertos sin pegue.

A. Formación de raíces en las yemas de la púa; B. Despegue de la púa del portainjerto por no haber presión entre los tejidos; C. Marchitamiento de la púa; D. Muerte del tejido de unión y presencia de brotes en el portainjerto. Las  $\rightarrow$  señalan la púa.

#### **Microinjertos heteroplásticos (*I. setosa* (púa) – camote (portainjerto)).**

Se logró un 90% de pegue de los tejidos a los 7 días de ser microinjertada. Esto pudo haberse dado por una falta de precisión en el corte o el tubo catéter no dio la suficiente presión para mantener unidos los tejidos o el medio no pudo suplir con los nutrientes necesarios para su desarrollo. A los 10 días observó la formación del tejido calloso alrededor del tejido de unión en un 91% de las plántulas (Figura 8).

Se obtuvo un alto porcentaje de pegue de tejidos debido al que el medio de cultivo posee una concentración de 7% de sacarosa, estudios realizado por Navarro en 1979 explican que concentraciones de un 7.5% de sacarosa en el medio de cultivo promueve un mayor pegue de los tejidos.

Estudios en microinjertos de almendra obtuvieron resultados del 83 - 100% debido a la concentración de vitaminas en el medio de cultivo entre las cuales estaban ácido nicotínico, tiamina, piridoxina, myo-inositol con una concentración de sacarosa del 3% (Yildirim et al. 2013). Estudio en microinjertos de pistacho obtuvieron resultados del 79% debido a la presencia de ácido pantoténico y una concentración de sacarosa del 3% (Onay et al. 2007).

Los porcentajes obtenidos en el pegue de los tejidos y formación de tejido calloso nos aseguran que hay una compatibilidad entre los tejidos de las plántulas, lo cual en estudios microinjerto usando cultivares de durazno comprobaron su compatibilidad con otras variedades, explicando que al haber compatibilidad nos indica que hay conexión entre los tejidos vasculares de la púa y el portainjerto lo cual promueve el adecuado desarrollo del microinjerto (Piagnani et al. 2006).

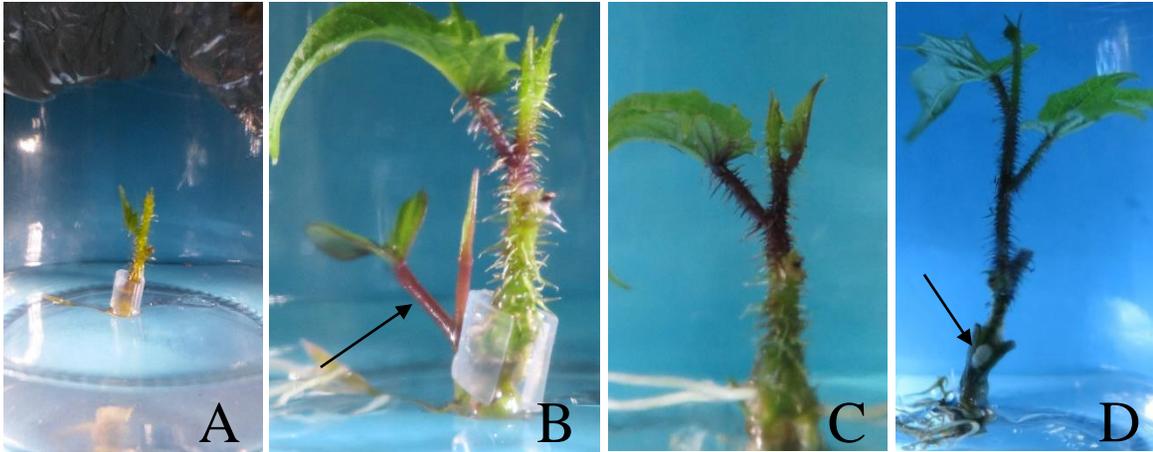


Figura 7. Desarrollo del microinjerto *I. setosa* (púa) – camote (portainjerto).  
A. Microinjerto; B. Microinjerto a los 10 días con brotes en el portainjerto (→); C. Microinjerto a los 18 días sin brotes. D. La → indica formación de tejido calloso.

#### **4. CONCLUSIÓN**

Se logró adaptar el protocolo de Navarro (1979) para microinjerto usando *Ipomoea setosa* e *Ipomoea batatas*.

## **5. RECOMENDACIÓN**

Probar el microinjerto heteroplástico (camote (púa) – *Ipomoea setosa* (portainjerto)) dejando hojas en el portainjerto para ver la expresión de síntomas de virus.

## 6. LITERATURA CITADA

- Bilderback T, Bir RE, Ranney TG. 2014. Grafting and Budding Nursery Crop Plants. North Carolina: NC State Extension; [consultado 2017 Feb. 20]. <http://content.ces.ncsu.edu/grafting-and-budding-nursery-crop-plants/>.
- Castaño J, Estirado M, Abellanas B, Butler I, Cosano I, Luengo J, García J, Antonio J. 2005. Puesta en valor de los recursos forestales mediterráneos: El injerto de pino piñonero (*pinus pinea* L.). 9a ed. Sevilla (España). Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. 239 p.
- Clark C, Jeffrey D, Abad J, Cuellar W, Fuentes S, Kreuze J, Gibson R, Mukasa S, Tugume A, Tairo F, Valkonen J. 2012. Sweetpotato Viruses: 15 Years of progress on Understanding and Managing Complex Diseases. *Plant Dis.* 96(2):168–185.
- Cusumano C, Zamudio N. 2013. Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) en la provincia de Tucumán. 1era ed. Tucumán (Argentina): Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; [consultado 2016 dic 10]. <http://docplayer.es/23688036-Ediciones-manual-tecnico-para-el-cultivo-de-batata-camote-o-boniato-en-la-provincia-de-tucuman-argentina-cosme-cusumano-nestor-zamudio.html>
- Del Valle Di Feo L. 2015. Producción, multiplicación y manejo de propágulos de batata de sanidad controlada. 1era ed. Córdoba (Argentina): Ministerio de Industria, Comercio y Trabajo de la Provincia de Córdoba; [consultado 2017 feb 25]. [https://www.researchgate.net/publication/288503472\\_Produccion\\_multiplicacion\\_y\\_manejo\\_de\\_propagulos\\_de\\_batata\\_de\\_sanidad\\_controlada\\_Liliana\\_del\\_Valle\\_Di\\_Feo](https://www.researchgate.net/publication/288503472_Produccion_multiplicacion_y_manejo_de_propagulos_de_batata_de_sanidad_controlada_Liliana_del_Valle_Di_Feo)
- Ederra A. 1997. Botánica Ambiental Aplicada. Las plantas y el equilibrio ecológico de nuestra tierra. 2da ed. Pamplona (España): Universidad de Navarra S.A. 212 p.
- FAOSTATS: (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statics Division. Yield of commodity in sweet potato from Honduras). FAOSTATS. Roma. (Italia) FAO. 1993–2014.
- Jarret J, 1991. Cultivo de Tejidos de Camote. In: Roca WM, Mroginski LA, editores. Cultivo de tejidos en la Agricultura Fundamentos y aplicaciones. Cali (Colombia): CIAT (Centro Internacional de la Agricultura Tropical). 422–446 p.
- Kashif M, Artola K, Jones R, Mäkinen V, Pietilä S, Tugume A, Valkonen J. 2012. Detection of Viruses in Sweetpotato from Honduras and Guatemala Augmented by Deep-Sequencing of Small-RNAs. *Plant Dis.* 96(10):1430–1437.

- Meira M, David J, Da Silva E, David J. 2012. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacong* 22(3):682–713.
- Mero J. 2017. Evaluación de microinjerto de *Ipomoea batatas* L. Lam e *Ipomoea Setosa* Ker Gawl. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 16 p.
- Navarro L. 1979. Micro injerto de ápices caulinares *in vitro* para la obtención de plantas de agrios libres de virus. *Bol. Serv. Plagas*. 5:147–148.
- Okada Y, Saito A, Nishiguchi M, Kimura T, Mori M, Hanada K, Sakai J, Miyazaki C, Matsuda Y, Murata T. 2001. Virus resistance in transgenic sweetpotato [*Ipomoea batatas* L. (Lam)] expressing the coat protein gene of sweet potato feathery mottle virus. *Theor Appl Genet*. 103(5):743–751.
- Onay A, Pirinc V, Yildirim H, Basaran D. 2007. *In vitro* micrografting of mature pistachio (*Pistacia vera* L. CV. SIIRT). In: Jain S.M. and Häggman H. editors. *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. Palmerston North (New Zealand): Springer Science & Business Media. 77(2):289–298.
- Pathirana R, Mckenzie M. 2007. Micrografting grapevine for virus indexing. In: S.M. Jain and H. Häggman ed. *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. Palmerston North (New Zealand): Springer Science & Business Media. 77(2):259–266.
- Piagnani M, Prinsi B, Bassi D. 2006. Experimental approaches to *in vitro* grafting in *Prunus armeniaca* and *P. spinose*. *Adv. Hort. Sci*. 20(3):224-230
- Yildirim H, Akdemir H, Süzerer V, Ozden Y, Onay A. 2013. *In vitro* micrografting of the almond cultivars “texas”, “ferrastar” and “nonpareil”. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 27(1): 3493–350.

## 7. ANEXOS

**Anexo 1.** Protocolo de microinjerto de *Ipomoea batatas* e *Ipomoea setosa*.

### **Protocolo de microinjerto de *Ipomoea batatas* e *Ipomoea setosa***

**José Hermes Mero Barros**

#### **Materiales**

- 1) Vitroplántulas de camote (*Ipomoea batatas*) e *Ipomoea setosa* con una edad de 21 días.
- 2) Cloro líquido comercial (4.72% de NaClO), Tween<sup>®</sup> 80, agua destilada y agua destilada estéril.
- 3) Medio de cultivo de Murashige y Skoog modificado para micropropagación de camote (Jarret 1991).
- 4) Bisturí, pinzas de acero, tubo de catéter de poliuretano, liga de caucho, gaza estéril, papel aluminio, cinta de plástico, marcador permanente, probeta, vasos de precipitación (beaker)

#### **Procedimiento de microinjerto**

##### **Preparación y desinfección de tubos catéter (Figura 1).**

- 1) Cortar el tubo catéter en secciones de 0.5 cm de longitud.
- 2) Hacer un corte longitudinal con la finalidad de facilitar la remoción una vez que se haya confirmado el pegue de los tejidos.
- 3) Colocar los tubos catéter cortados en una solución de cloro al 30%  $\frac{v}{v}$  con dos gotas de Tween<sup>®</sup> 80 y dejarlos reposar por 10 minutos.
- 4) Tapar el vaso de precipitación con la gaza estéril fijándola con la liga de caucho.
- 5) Realizar triple lavado a los catéteres con agua destilada estéril dentro de la cámara de flujo laminar.

##### **Selección y preparación de vitroplántula para portainjerto (Figura 2).**

- 1) Seleccionar vitroplántula con un diámetro de tallo similar.
- 2) Extraer la plántula de camote y colocarla en papel estéril.
- 3) Podar las raíces, eliminar hojas, yemas y ápice dejando el tallo de 1 – 1.5 cm de longitud.
- 4) Hacer un corte longitudinal no mayor a 3 mm en el centro de su parte distal.

### Selección y preparación de vitroplántula para púa (Figura 2).

- 1) Seleccionar una púa con su parte apical desarrollada con un segmento nodal que contenga entre una a tres yemas.
- 2) Eliminar las hojas.
- 3) Hacer un corte biselado por ambos lados en su parte proximal formando una punta en forma de "V" con la misma medida que el corte que se hizo en el portainjerto.

### Establecimiento del microinjerto (Figura 3).

- 1) Insertar la púa en el corte longitudinal del portainjerto para permitir el contacto entre los tejidos del cambium.
- 2) Colocar el tubo de catéter para mantener unidos los tejidos dejando la apertura del corte del tubo en dirección opuesta al corte longitudinal del portainjerto.
- 3) Tomar la plántula microinjertada y colocarla en el medio de cultivo
- 4) Tapar el frasco con papel aluminio, sellar con cinta plástica y rotular con un marcador la fecha.
- 5) Incubar los microinjertos a 16 horas luz, 2 klx, 24 °C, 70% humedad relativa.

Para el microinjerto de *Ipomoea setosa* se realiza el mismo procedimiento, sino se tiene suficiente material vegetal se puede usar segmentos nodales como púa.

### Eliminación de brotes del portainjerto (Figura 3)

- 1) Extraer la plántula microinjertada.
- 2) Colocar en papel estéril.
- 3) Remover los brotes que salen del portainjerto y podar las raíces.
- 4) Colocar el microinjerto en un medio de cultivo fresco.
- 5) Rotular con la fecha del día en que se microinjerto y la fecha en la que se eliminaron los brotes.

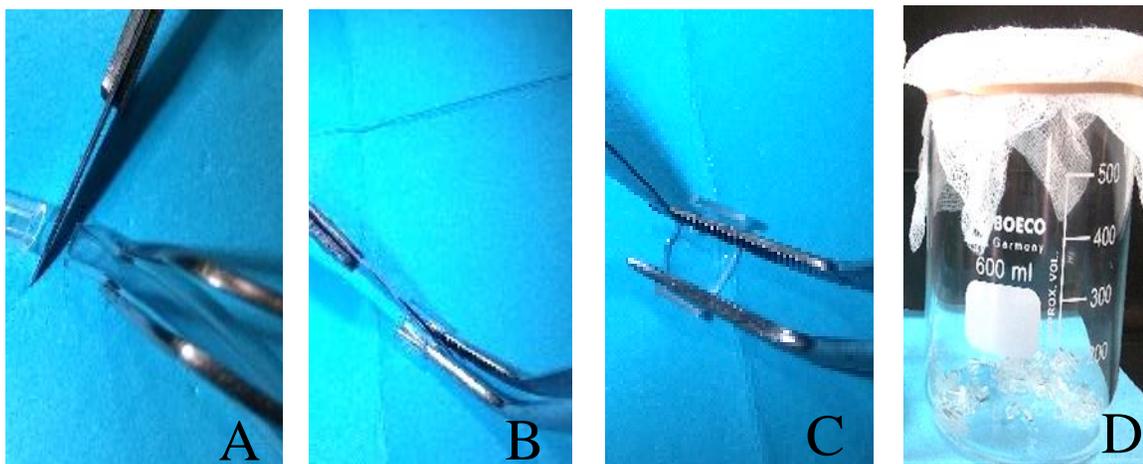


Figura 1. Preparación y desinfección de tubos catéter para fijar portainjerto y púa. A. Corte del catéter en secciones no mayores a 0.5 cm; B. Corte longitudinal del catéter; C. Tubo catéter abierto; D. Limpieza con solución de cloro al 30 %  $v/v$  + Tween<sup>®</sup> 80 y tapado con gaza y una liga para el triple lavado.

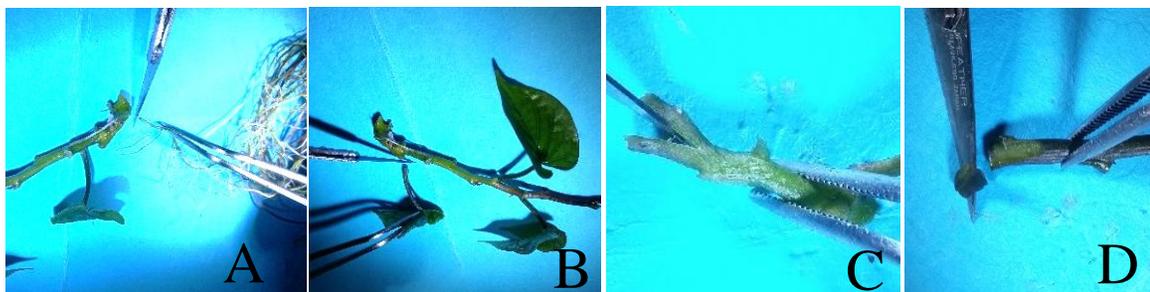


Figura 2. Proceso microinjerto en la preparación de púa y portainjerto.

A. Corte de raíz del portainjerto; B. Corte de hojas del portainjerto; C. Corte longitudinal del portainjerto; D. Corte de bisel de la púa.

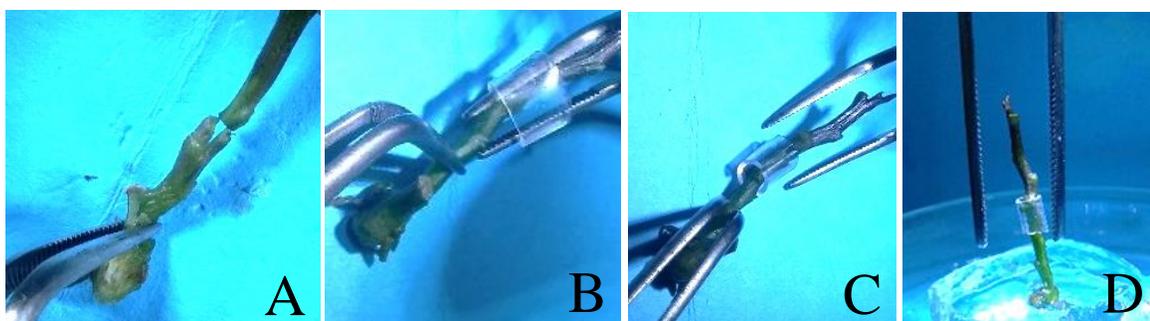


Figura 3. Proceso de microinjerto en la unión de tejidos.

A. Unión de portainjerto y púa; B. Colocación del catéter; C. Ajuste del catéter; D. Colocación del microinjerto en frasco.

## Bibliografía

Jarret J, 1991. Cultivo de Tejidos de Camote. In:William M. Roca,Luis A.Mroginski editores, Cultivo de tejidos en la Agricultura Fundamentos y aplicaciones. Cali (Colombia). CIAT (Centro Internacional de la Agricultura Tropical). p.422-446.

Mero J. 2017. Evaluación de microinjerto de *Ipomoea batatas* L. Lam e *Ipomoea Setosa* Ker Gawl. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 16 p.