

Evaluación del efecto de reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* L.)

Tatiana Beatriz Tobar Hernández

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

Evaluación del efecto de reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* L.)

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

Presentado por

Tatiana Beatriz Tobar Hernández

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2016

Evaluación del efecto de reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes en la producción *in vitro* de plántulas de camote (*Ipomoea batatas* L.)

Tatiana Beatriz Tobar Hernández

Resumen. El cultivo de camote se propaga convencionalmente por esquejes, pero de esta manera se diseminan patógenos, razón por la cual el cultivo de tejidos es importante en esta especie, pero tiene la desventaja de que esta tecnología es costosa. Como una alternativa de bajo costo tenemos el uso de fertilizantes en los medios de cultivo, ya que estos aportan los mismos elementos nutricionales que los reactivos químicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de reemplazar tres reactivos por fertilizantes en la micropropagación de camote en las fases de enraizamiento y aclimatación. Se evaluaron cinco tratamientos, en el primer tratamiento se sustituyó el reactivo químico nitrato de amonio por el fertilizante nitrato de amonio (34.5-0-0), en el segundo tratamiento se sustituyó el reactivo químico nitrato de potasio por el fertilizante nitrato de potasio (13-0-46), en el tercer tratamiento se sustituyó el reactivo químico sulfato de magnesio heptahidratado por el fertilizante sulfato de magnesio (0-0-0-16-13) en el cuarto tratamiento se sustituyeron los tres reactivos químicos antes mencionados por fertilizantes y en el quinto tratamiento (testigo) se usó únicamente reactivos químicos. Las variables evaluadas fueron número de nudos a los 7, 14 y 21 días después de siembra y sobrevivencia en medio de enraizamiento, peso fresco en gramos antes de aclimatación (día 21), sobrevivencia durante la fase de aclimatación. Se observó que al reemplazar individualmente tres reactivos químicos por fertilizantes no afecta la producción *in vitro* de camote en las etapas de enraizamiento ni aclimatación.

Palabras clave: Abonos comerciales, medios de cultivo, micropropagación.

Abstract. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) is usually propagated conventionally by cuttings. However, this method allows for pathogens spread, tissue culture is an alternative for sweetpotato propagation, but the disadvantage of this technology is the high cost of the materials. An alternative to chemical reagents is the use of fertilizers in. The tissue culture media, as these provide the same nutritional required by the crop. The objective of this study was to evaluate the effect of replacing three chemicals reagents for fertilizers sources in sweetpotato micropropagation media used in the rooting and acclimatization stages. Three reagents were replaced with commercial fertilizers ammonium nitrate (34.5-0-0), potassium nitrate (13-0-46) and magnesium sulfate. A control treatment was established without fertilizers replacement. The evaluated variables were: number of nodes at 7, 14 and 21 days after planting and plant survival in rooting medium, fresh weight before acclimatization (day 21) and survival during the acclimatization. We observed that replacing three chemical reagents individually in fertilizer does not affect the *in vitro* production of sweet potato in rooting and acclimatization.

Keywords: Commercial fertilizers, tissue culture, micropropagation.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros y figuras.....	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4 CONCLUSIONES.....	10
5 RECOMENDACIONES.....	11
6 LITERATURA CITADA.....	12

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog (1962) modificado para el enraizamiento <i>in vitro</i> de camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.).	4
2. Diferencias de nutrientes aplicados en el medio de enraizamiento <i>in vitro</i> de camote al reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes.	5
3. Número de nudos por <i>vitro</i> -esquejes de camote a los 7, 14 y 21 días después de establecido en el medio de enraizamiento en respuesta al reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.	8
4. Promedio de peso fresco en gramos por plántula antes de aclimatación en respuesta al reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.	9

Figuras	Página
1. Establecimiento de camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.) para enraizamiento <i>in vitro</i>	3
2. Plántulas de camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.) a los 30 días de establecido en los tratamientos.....	6
3. Plántulas de camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.), aclimatadas en el invernadero extraídas del tratamiento con fertilizante nitrato de amonio.	6
4. Enraizamiento <i>in vitro</i> de camote en medio reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.	7

1. INTRODUCCIÓN

El camote (*Ipomoea batatas* L), fue domesticado en América del Sur alrededor de los años 8,000-6,000 a.c. Colombia, Ecuador, Guatemala y el norte de Perú tienen la mayor diversidad en germoplasma de camote. Este cultivo puede reproducirse asexualmente por raíces que subsecuentemente brotan para dar plantas nuevas y esquejes que forman raíces en los nudos, produciendo plantas hijas (FAO 2013).

Por su bajo costo de producción el camote es económicamente rentable en comparación con otros cultivos (Peñarrieta 2001). Debido al cambio climático se pronostica que el camote presentará una reducción en el rendimiento entre 1% y 30%, lo cual afectará empleos, seguridad alimentaria y aumento de precios (Samariego 2015).

En Honduras el camote representa uno de los cultivos que más se exporta, siendo fuente de ingresos para los grandes y pequeños productores ayudando al crecimiento local. Las plagas más importantes son: gusano alambre, gallina ciega, gusanos del follaje (lepidópteros), salta hojas, roedores y babosa. Las enfermedades que afectan este cultivo: mildiu blanco (*Albugo ipomoeae-panduratae*), pudrición de la raíz (*Fusarium solani*), pudrición bacteriana (*Erwinia chrysanthemi*) y complejos virales (León et al. 2013).

Los objetivos de cultivar plantas *in vitro* son propagar masivamente plantas en vías de extinción, plantas difíciles de propagar por otros métodos, clonar individuos que tienen características agronómicas deseables, obtener plantas libres de virus, conservar la diversidad genética de una población, entre otras aplicaciones (Frid 2009).

La propagación convencional de camote es mediante esquejes, la tasa reproductiva estimada usando esquejes es de 15-20 plántulas por esqueje en condiciones óptimas. En los últimos años la micropropagación ha sido importante en la producción de plántulas un meristemo establecido *in vitro* puede producir 4,000 esquejes en seis meses (FAO 2013).

El propósito de la micropropagación de camote es la obtención de material libre de patógenos (García 2010). Pero esta técnica tiene desventajas como altos costos en parte por los insumos utilizados y la mano de obra (Morales 2015). En países en desarrollo los costos de transporte e importación específicamente de los reactivos inorgánicos y orgánicos, reguladores de crecimiento y gelificantes son bastante altos y conllevan trámites complicados (Sahu y Sahu 2013).

Los ingredientes primordiales en el medio de cultivo son: agua, sustancias orgánicas y sustancias inorgánicas ya que son esenciales para el desarrollo de la planta, al hacer modificaciones a la formulación de Murashige y Skoog, es importante suministrar nutrientes según las necesidades del cultivo, los fertilizantes pueden ser fuente de estos nutrientes y resultan a menor costo en relación a los reactivos químicos usados en el laboratorio (Sharry et al. 2015).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes en la producción de plántulas de camote *in vitro* en las fases de enraizamiento y aclimatación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio. El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Material vegetal. Para el establecimiento del cultivo se usó como explantes meristemos axilares de camote de la variedad Beauregard, estos fueron multiplicados o subcultivados cuatro veces al finalizar la etapa de multiplicación pasaron al medio de enraizamiento. Los *in vitro*-esquejes resultantes de la etapa de multiplicación se separaron en segmentos nodales y estos se colocaron en los medios de enraizamiento con los tratamientos a evaluar.

Se trabajó en condiciones de asepsia dentro de la cámara de flujo laminar horizontal, desinfectada con alcohol al 70%, se esterilizó con calor seco pinzas y bisturíes a 250 °C por 15 segundos, en el esterilizador de calor seco Z3378550-Steri 250™, AC input 120 V (Figura 1).



Figura 1. Establecimiento de camote (*Ipomoea batatas* L.) para enraizamiento *in vitro*.

Medio de cultivo. Se usó la formulación de Jarret (1991) basada en la de Murashige y Skoog (Cuadro 1) el medio de cultivo se ajustó a un pH de 5.8, se añadió 2 g/L de Phytigel® (agente gelatinizante), y se esterilizó a 121 °C, 15 PSI por 20 minutos.

Cuadro 1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog (1962) modificado para el enraizamiento *in vitro* de camote (*Ipomoea batatas* L.).

Componentes	Fórmula	mg/L
Macroelementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	440.000
	KH ₂ PO ₄	170.000
	KNO ₃	1900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370.000
	NH ₄ NO ₃	1650.000
Microelementos	H ₃ BO ₃	6.200
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	KI	0.830
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600
Hierro	FeNa EDTA	50.000
Vitaminas		100.000
		0.400
Carbohidrato		70000.000

Fuente: (Jarret 1991)

Tratamientos. En este estudio se reemplazó tres reactivos químicos de la formulación de macroelementos de Murashige y Skoog por fertilizantes de alta solubilidad. No se realizó equiparación molar, solamente se hizo el reemplazo manteniendo las cantidades de fertilizantes igual a la cantidad de reactivos químicos. En el Cuadro 2 se explica detalladamente las diferencias de nutrientes aplicados en el medio de cultivo cuando se hizo los reemplazos. A continuación, se detallan los cinco tratamientos evaluados.

- Tratamiento 1. Se reemplazó el reactivo químico nitrato de amonio por el fertilizante comercial de fórmula (34.5-0-0).
- Tratamiento 2. Se reemplazó el reactivo químico sulfato de magnesio heptahidratado por el fertilizante comercial de fórmula 0-0-0-16-13.
- Tratamiento 3. Se reemplazó el reactivo químico nitrato de potasio por el fertilizante comercial de fórmula 13-0-46.
- Tratamiento 4. Se reemplazaron tres reactivos químicos nitrato de amonio, sulfato de magnesio heptahidratado y nitrato de potasio por los fertilizantes.
- Tratamiento Testigo. Se usó reactivos químicos.

Cuadro 2. Diferencias de nutrientes aplicados en el medio de enraizamiento *in vitro* de camote al reemplazar tres reactivos químicos por fertilizantes.

Insumo	Reactivo		Fertilizante		Diferencias [¥]	Diferencia
		%		%	mg	%
NH ₄ NO ₃	N	35.0	N	34.5	8.3	1.4
MgSO ₄ .7H ₂ O	Mg	9.8	Mg	9.6	0.6	1.6
	S	13.0	S	13.0	0.0	0.1
					0.6	1.7
KNO ₃	N	13.9	S	13.5	6.9	2.6
	K	38.6	K	36.0	49.7	6.8
				56.6	9.4	
+ 3 Fertilizantes	N	35.0	N	34.5	15.1	1.8
	Mg	9.8	Mg	9.6	0.6	1.6
	S	13.0	S	13.0	0.0	0.1
	K	38.6	K	36.0	49.7	6.8
				65.0	10.0	

[¥] = Valores negativos

Incubación. Las condiciones de incubación en el cuarto de crecimiento fueron de 24°C, con una humedad relativa 70%, con intensidad lumínica de 2000 lux y un fotoperiodo de 16 horas luz por lámparas fluorescentes.

Aclimatación. Al terminar la fase de enraizamiento las plántulas se extrajeron de los contenedores se lavaron las raíces para eliminar residuos de medio y se pesó cada plántula por tratamiento. En la figura 2 se observa las plántulas de los cinco tratamientos: A. nitrato de amonio, B. nitrato de potasio, C. sulfato de magnesio, D. fertilizantes, y E. reactivos químicos, se procedió a su respectiva aclimatación en el invernadero.

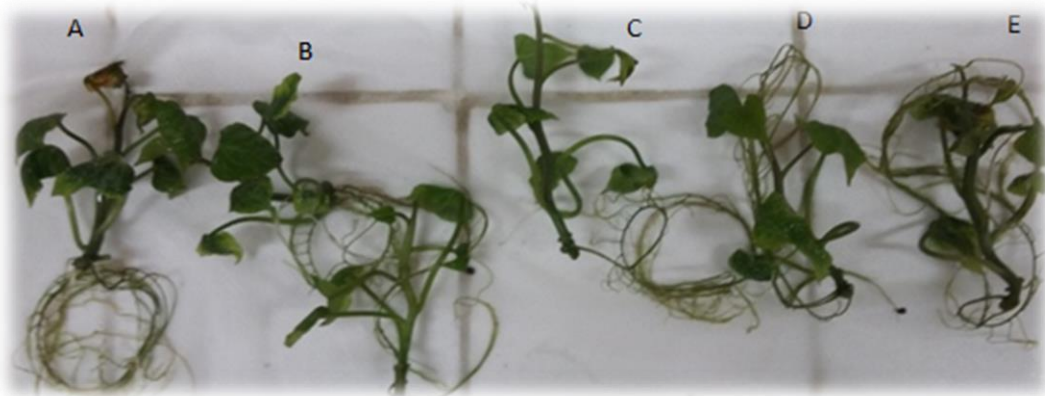


Figura 2. Plántulas de camote (*Ipomoea batatas* L.) a los 30 días de establecido en los tratamientos.

Se procedió a sembrar la plántula en bandejas múltiples de 45 hoyos en el sustrato Promix HP[®], se agregó 8 gramos de Osmocote por 200 gramos de PromixHP[®]. La bandeja se cubrió con malla contra insectos simulando un microtúnel como en la figura 3 se observa: A. vista interior de microtúnel, B. vista exterior de microtúnel y se colocaron en el invernadero, nebulizando dos veces al día.



Figura 3. Plántulas de camote (*Ipomoea batatas* L.), aclimatadas en el invernadero extraídas del tratamiento con fertilizante nitrato de amonio.

Variables a evaluar. En la fase de enraizamiento se registró porcentaje de sobrevivencia, número de nudos formados a los 7,14 y 21 días y peso fresco en gramos al día 21. En la fase de aclimatación se midió porcentaje de sobrevivencia a los 21 días.

Diseño Experimental. Se utilizó un diseño completo al azar con cinco tratamientos y 50 repeticiones siendo cada unidad observacional una repetición.

Análisis estadístico. Se realizó el análisis de varianza y una separación de medias con el método de Duncan con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4[®]).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó diferencia significativa en la sobrevivencia de los *in vitro*-esquejes en los tratamientos establecidos en medios de enraizamiento. La presencia de raíces se observó en el 100% de los esquejes al día 21 en todos los tratamientos (Figura 4).

Azofeifa et al. (2008) no observaron diferencias significativas en cuanto a enraizamiento en microestacas de papas en sus experimentos probando 1,2015 mg/L de Nitrato de Amonio y 1,9429 mg/L de Nitrato de Potasio y otros fertilizantes en menor cantidad en los medios de cultivo.



Figura 4. Enraizamiento *in vitro* de camote en medio reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.

A los días 21 días de establecidos los esquejes en los medios de enraizamiento se observó que los que estaban en el medio donde se sustituyeron los tres reactivos químicos por fertilizantes tenían el menor promedio de número de nudos por esqueje (Cuadro 3). Montenegro et al. (2014) utilizaron fertilizantes en el cultivo *in vitro* de banano, al realizar equiparación molar, no obtuvieron diferencias significativas en cuanto a número de brotes.

Cuadro 3. Número de nudos por *vitro*-esquejes de camote a los 7, 14 y 21 días después de establecido en el medio de enraizamiento en respuesta al reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.

Tratamiento reemplazo de reactivo químico por fertilizantes	Nudos por esqueje/días		
	7	14	21
NH ₄ NO ₃	1.38 ab [§]	1.92 ab [§]	6.50 a [§]
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.79 a	3.07 a	5.61 ab
KNO ₃	1.36 ab	1.68 c	5.14 b
NH ₄ NO ₃ + MgSO ₄ .7H ₂ O + KNO ₃	1.00 c	2.32 ab	4.36 c
Testigo ^é	1.28 b	1.86 ab	5.79 ab
CV=25			

^é = Testigo: medio preparado con reactivos químicos

[§] = Promedios seguidos con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes (P≥0.05)

La variable de peso fresco el promedio por plántula fue de 1.77 gramos en el medio con nitrato de amonio y 0.97 gramos en el medio reemplazando los tres fertilizantes. Estos resultados concuerdan con la cantidad de número de nudo por esquejes. Estos resultados se pueden deber a que no se hizo equiparación molar, solamente se reemplazó reactivos químicos por los fertilizantes y por ello las concentraciones de los elementos fue menor respecto a los reactivos químicos, y al proporcionar menor cantidad de potasio podría influir en la asimilación de los otros elementos disponibles en el medio.

Azofeifa et al. (2008) presentaron los mejores resultados en cuanto a peso fresco en cultivo de papa en los medios Murashige y Skoog en la cual equipararon molarmente macro y microelementos del MS con los productos comerciales. La diferencia en cantidades de nutrientes proporcionada a los cultivos en el medio donde se reemplazó los tres reactivos químicos afectó a la sobrevivencia en aclimatación (Cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio de peso fresco en gramos por plántula antes de aclimatación en respuesta al reemplazo de tres reactivos químicos por fertilizantes.

Reactivo químico reemplazado por fertilizantes	N	Peso fresco (g/plántula)	Sobrevivencia en Invernadero %
NH ₄ NO ₃	26	1.77 a [§]	93 ab [§]
MgSO ₄ .7H ₂ O	28	1.60 ab	93 ab
KNO ₃	28	1.27 b	100 a
NH ₄ NO ₃ + MgSO ₄ .7H ₂ O + KNO ₃	22	0.97 c	86 c
Testigo ^é	28	1.26 b	93 ab
CV=35			

^é=Testigo: medio preparado con reactivos químicos

[§]= Promedios seguidos con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes (P≥0.05)

4. CONCLUSIÓN

- Reemplazar individualmente tres reactivos químicos por los fertilizantes no afecta la producción *in vitro* de camote en las etapas de enraizamiento ni aclimatación.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar la equiparación molar para determinar así las cantidades a usar de los fertilizantes en los medios de cultivo a partir del establecimiento *in vitro* del cultivo de camote.
- Realizar estudio de costos de producción *in vitro* de camote en medio con fertilizantes y reactivos químicos.
- Reemplazar el reactivo químico nitrato de amonio por el fertilizante, sin modificar dosis.

6. LITERATURA CITADA

- Azofeifa A, Guevara E, Jiménez VM. 2008. Redalyc. Uso de abonos foliares comerciales en la elaboración de medios de cultivo in vitro. *Agronomía Costarricense*. Redalyc.
- FAO. 2013. Material de propagación de calidad declarada: Protocolos y normas para cultivos propagados vegetativamente. *Estudio FAO Producción y Protección Vegetal*. (195):91–92.
- Frid D. 2009. Reproducción in vitro de Plantas y sus beneficios para la agricultura. <http://tecnocienciaysalud.com/plantas-in-vitro>.
- García MD. 2010. El camote *Ipomoea batata*, raíz tuberosa su micropropagación y algunos aspectos de su biotecnología. 65. <http://tecnoagro.com.mx/revista/2010/no-65/el-camote-ipomoea-batata-raiz-tuberosa-su-micro-propagacion-y-algunos-aspectos-de-su-biotecnologia/>.
- Jarret, J, L. 1991. Cultivo de Tejidos de Camote. Homestead, Florida, E.U: Tropical Research and Education Center, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 17 p.
- León B, Martínez M, López M, Rodríguez L, Ardón C, Rodríguez I. 2013. Manual de manejo del cultivo de camote. 11–15.
- Montenegro JFE, Rojas IC, Quevedo C D, Delgado PGE. 2014. Efecto del SULPOMAG y compuestos orgánicos como sustitutos parciales del medio de cultivo de micropropagación de *Musa sp.* CV. Cavendish; [accessed 2016 Oct 6]. 147–159.
- Morales JI. 2015. Micropropagación de plantas. Puerto Rico: Universidad de Puerto Rico en Utuado Departamento de Tecnología Agrícola. <http://es.slideshare.net/Prof.JIrizarry/modulo-22-micropropagacion-de-plantas-pdf-45167545>.
- Peñarrieta VCR. 2001. Evaluación de dos sistemas de producción de camote bajo condiciones de EL ZAMORANO, Honduras. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 36 p.

- Sahu J, Sahu R. 2013. A Review on Low Cost Methods for *in vitro* Micropropagation of Plant Through Tissue Culture Technique. UK Journal of Pharmaceutical Biosciences. 1(1):38. doi:10.20510/ukjpb/1/i1/91115.
- Samariego J. 2015. La economía del cambio climático en América Latina y el Caribe: Paradojas y desafíos del desarrollo sostenible. Naciones Unidas, Santiago de Chile: CEPAL. 98 p.
- Sharry S, Adema M, Abedini W. 2015. Plantas de probeta: Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. [place unknown]: Universidad Nacional de la plata. 241 p.