

## ACLIMATIZACIÓN Y ADAPTACIÓN A CAMPO DE VITROPLANTAS DE *Vigna luteola* SC-123

Maribel Quintana<sup>1</sup>, J. A. Nápoles<sup>1</sup>, Orquidia Álvarez<sup>1</sup>, Yamilka Ramos<sup>1</sup>, C. Bécquer<sup>1</sup>, J. Ríos<sup>2</sup>, P. Ruiz<sup>3</sup>, Lisbet Ulloa<sup>1</sup> y Yaldreisy Galdo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Estación Exp. Sancti Spíritus. Ins. Inv. de Pastos y Forrajes. MINAGRI. Cuba

<sup>2</sup> Universidad de Sancti Spíritus "José Martí"

<sup>3</sup> Facultad MFC, UCLV

Correo electrónico: [maribel@pastos.yayabo.inf.cu](mailto:maribel@pastos.yayabo.inf.cu)

### RESUMEN

La leguminosa *Vigna luteola* SC-123 ha sido recomendada por el banco de germoplasma de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Sancti Spíritus por su comportamiento promisorio, una vez definida la multiplicación por cultivo de tejidos de esta especie es objetivo del presente trabajo estudiar la aclimatización y adaptación a campo de las vitroplantas. Se probaron tres sustratos: estiércol, compost y una mezcla de suelo y humus de lombriz (7:3), así como la estimulación de una solución enraizadora de ácido naftalenacético (ANA, 0.01%) aplicada a las raíces. En campo se probaron distancias de siembra (0.60 x 0.20 m, 0.60 x 0.60 m y 0.60 x 1.00 m) para las vitroplantas y se comparó con la siembra de semillas por el método tradicional. La mezcla de suelo y humus de lombriz resultó el sustrato con mejores resultados para las variables evaluadas, así como la presencia de la solución enraizadora incidió de manera significativa en la supervivencia de las vitroplantas en fase de aclimatización. La adaptación a campo mostró índices superiores al 96 % de supervivencia para todos los tratamientos probados.

Palabras claves: aclimatización, *Vigna luteola*, adaptación a campo

### ACCLIMATIZATION AND FIELD ADAPTATION OF *IN VITRO* CULTURED *Vigna luteola* SC-123

#### ABSTRACT

The legume *Vigna luteola* SC-123 has been recommended by the genebank of Sancti Spíritus Experimental Station for Pastures and Forages considering their promissory behavior, once defined the tissue culture propagation of this specie is objective of the present work to study the plantlet acclimatization and adaptation to field conditions. Three substrates were proven: manure, compost and a mixture of soil and worm humus (7:3), as well as the stimulation by a solution of naftalenacetic acid (NAA, 0.01%) for immersion of the roots. On the field several plantlet distances were proven (0.60 x 0.20 m, 0.60 x 0.60 m and 0.60 x 1.00 m), and it was compared with the traditional method used for seed production. The mixture of soil and worm humus obtained the best results for the evaluated variables, and the application of NAA solution impacted significantly in plantlet survival during the acclimatization to *ex vitro* conditions. The field adaptation showed indexes of survival superiors to 96% for all the proven treatments.

Key words: acclimatization, *Vigna luteola*, field adaptation

## INTRODUCCIÓN

La provincia de Sancti Spíritus, eminentemente ganadera, dedica un 43 % de sus áreas a estos fines. En labores de rescate de germoplasma se han encontrado un grupo de géneros de leguminosas con un comportamiento promisorio bajo las condiciones actuales de producción; pero se cuenta con muy escasa o nula disponibilidad de semillas, tanto para su distribución a productores interesados, como para profundizar en el estudio de las mismas.

Son conocidas las bondades de las leguminosas en el aumento de la calidad nutritiva de la dieta, por la inclusión de proteínas; y también, para mejorar las condiciones físicas del suelo, aportar nitrógeno a través de la fijación simbiótica de rizobio, y favorecer así, la nutrición de la vegetación acompañante. El hábito indeterminado de floración, y la imposibilidad de obtener varias cosechas en el año en estas plantas, hace difícil por las vías tradicionales obtener suficiente semilla para permitir un impacto rápido en la recuperación ganadera.

La propagación *in vitro* de algunas de estas plantas han sido abordadas como solución a esta problemática, pues en un reducido espacio de tiempo se puede obtener suficiente material vegetal que genere altos volúmenes de semilla en fincas especializadas para esta producción.

La leguminosa *Vigna luteola* (Jacq.) Benth. ha sido recomendada por su capacidad de adaptación a suelos de mal drenaje (62.9 % de las áreas ganaderas de Sancti Spíritus), característica, por demás, poco común en esta familia. Se reporta también con tolerancia a la salinidad, resistencia a elevadas temperaturas y precipitaciones propias de la primavera y verano, nodula libremente con cepas de rizobios nativas, se asocia bien con gramíneas como *Paspalum* y puede competir con las malas hierbas en condiciones húmedas (Skerman *et al.*, 1991).

Por ello, una vez definida la multiplicación por cultivo de tejidos de esta especie (Quintana *et al.*, 2005) es objetivo del presente trabajo estudiar la aclimatización y adaptación a campo de las vitroplantas, probando diferentes marcos de plantación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Sancti Spíritus.

### Fase de aclimatización

Esta etapa se realizó en bandejas de poliespuma con 120 orificios cónicos de capacidad 22 cm<sup>3</sup> y dimensiones de 66,0 cm de longitud, 35,0 cm de ancho y 5,2 cm de altura. En los orificios se depositaron los sustratos sobre los que se desarrollaron las vitroplantas y el llenado de los mismos fue de forma manual. Se redujo la iluminación al 70 % a través una malla plástica (zarán).

Vitroplantas de 35 días, procedentes de un tercer pase de multiplicación, fueron plantadas en tres sustratos: estiércol, compost y una mezcla de suelo y humus de lombriz (7:3). Se expuso durante 15 minutos las raíces de las vitroplantas a una solución estimulante del enraizamiento (ácido naftalenacético, ANA, 0.01%) para probar su efectividad.

El diseño experimental fue bloques al azar, con tres réplicas y 40 vitroplantas en cada tratamiento. Se tomó una muestra de 15 plantas, previo a la siembra en campo, para evaluar: altura de la planta (cm), largo de la raíz principal (cm), peso de la raíz con y sin la presencia de nódulos (g), cantidad de yemas y la supervivencia (%) al total de la población.

Se transformaron las variables de conteo de dígitos pequeños utilizando  $X' = \sqrt{x}$  y por  $X' = \sqrt{0.5 + x}$  cuando aparecieron valores cero. En el caso de los valores porcentuales por  $X' = 2 \arcsen \sqrt{P}$ , donde  $P$  es la proporción (Ruesga *et al.*, 2005). Los análisis estadísticos respondieron a un ANOVA bifactorial y las diferencias entre las medias calculadas por el test de rangos múltiples de Duncan (1955).

### **Fase de adaptación a campo**

La siembra en campo se efectuó en el período comprendido de septiembre a abril, bajo condiciones de secano. Las vitroplantas empleadas provenían de la fase de aclimatización con 35 días de plantadas.

Los tratamientos estudiados fueron: la siembra de semillas a razón de 5 kg/ha (Skerman *et al.*, 1991) con un marco de siembra de 0.60 x 0.20 m por la vía convencional y se probaron tres marcos de plantación para las vitroplantas (0.60 x 0.20 m; 0.60 x 0.60 m y 0.60 x 1.00 m).

El suelo fue pardo con carbonato de drenaje deficiente utilizando parcelas de 9 m<sup>2</sup>. La preparación del área para la siembra se hizo utilizando el sistema tradicional.

El diseño experimental de campo fue un cuadrado latino 4 x 4, con cuatro tratamientos. Las variables evaluadas fueron: altura (cm), cantidad de hojas por planta y supervivencia (%). Se aplicaron transformaciones a valores con dígitos pequeños sin presencia de ceros y porcentuales, similares a las descritas anteriormente. Los análisis estadísticos respondieron a un ANOVA factorial sin interacciones y las diferencias se definieron por el test de Duncan (1955).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las vitroplantas de *V. luteola* SC-123 mostraron buena adaptación a condiciones ambientales y a campo, lo cual se describe a continuación.

### **Fase de aclimatización**

La altura de las vitroplantas no difirió significativamente para la interacción de los factores probados, y así tampoco, para la aplicación de la solución estimuladora del enraizamiento. En cambio, ante el tipo de sustrato (figura 1) demostró un comportamiento significativamente superior para la mezcla de suelo y humus de lombriz, recomendándose el uso del mismo en la proporción probada (7:3), lo cual puede vincularse al conocimiento del vermicompost como el abono orgánico más completo e integral para la nutrición de las plantas (Agramonte *et al.*, 1998).

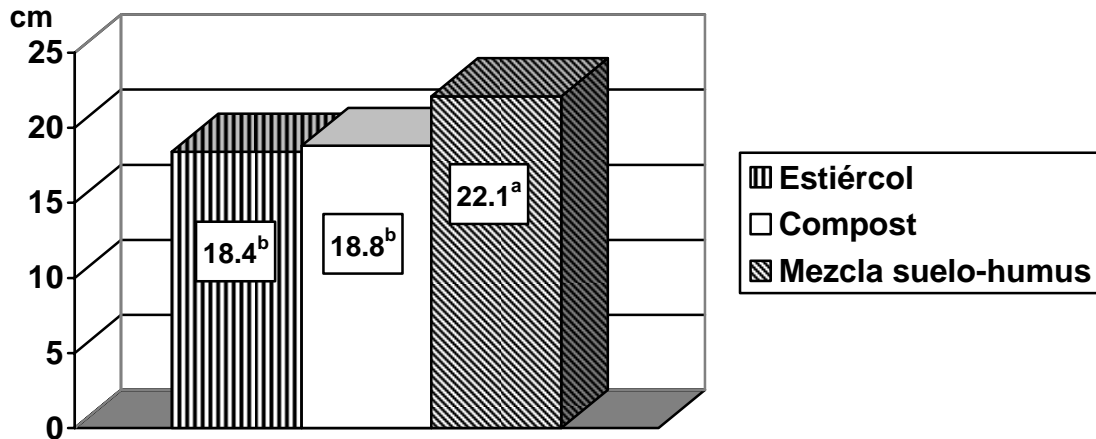


Figura 1. Altura de las vitroplantas en fase de aclimatización.

La cantidad de yemas desarrolladas durante la adaptación al ambiente presentó diferencias en la interacción entre los factores probados, como puede observarse en la tabla 1, resultando superior esta variable para la mezcla de suelo y humus con la presencia o no del ANA, y también para el estiércol cuando se aplicó la solución enraizadora.

Tabla 1. Comportamiento de la cantidad de yemas en aclimatización.

Tratamientos		No. de yemas	
Sustratos	Sol. enraizadora	Mediana	X'
Estiércol	ANA (0.01%)	6	2.5137 <sup>ab</sup>
	-	4	2.0529 <sup>c</sup>
Compost	ANA (0.01%)	5	2.3881 <sup>b</sup>
	-	5	2.3078 <sup>b</sup>
Mezcla suelo-humus	ANA (0.01%)	6	2.6377 <sup>a</sup>
	-	7	2.5045 <sup>ab</sup>
			P≤0.05
Coeficiente de variación			0.0152

\*Letras distintas difieren estadísticamente.

El largo de la raíz principal no presentó diferencias significativas en ningún tratamiento probado, siendo estable su comportamiento para todas las vitroplantas de *V. luteola*. Lo cual puede relacionarse con las condiciones de aclimatización bajo las que se desarrollaron las vitroplantas que simulaban la etapa de laboratorio, sin introducir cambios ambientales bruscos, según lo recomendado por Kozai *et al.* (2000). Del resto de las variables evaluadas en la raíz sólo tuvo significación estadística el factor sustrato (tabla 2) donde la mezcla de suelo y humus mantuvo índices superiores al estiércol y el compost de manera sostenida en todos los parámetros.

Tabla 2. Parámetros que difieren al evaluar la raíz de vitroplantas en aclimatización.

Tratamientos	Peso de la raíz (g)		No. de nódulos	
	Con nódulos	Sin nódulos	Mediana	X'
Estiércol	0.68 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	2	1.6005 <sup>a</sup>
Compost	0.79 <sup>ab</sup>	0.74 <sup>a</sup>	1	1.2287 <sup>b</sup>
Mezcla suelo-humus	0.89 <sup>a</sup>	0.80 <sup>a</sup>	2	1.5711 <sup>a</sup>
	P≤0.05	P≤0.01		P≤0.01
Coefficiente de variación	0.0396	0.0402		0.0388

\*Letras distintas difieren estadísticamente.

Es meritorio destacar que las vitroplantas nodularon espontáneamente debido a que *Vigna luteola* pertenece al grupo de las leguminosas denominadas promiscuas porque nodulan normalmente con el rizobio del "chícharo de vaca" nativo, aunque no hayan sido inoculadas según López y Sistachs (1986).

Tabla 3. Supervivencia de vitroplantas en bandejas.

Tratamientos	Supervivencia	
	%	X'
ANA, 0.01%	96.11	2.77 <sup>a</sup>
Testigo	81.66	2.26 <sup>b</sup>
		P≤0.001
Coefficiente de variación		0.0280

\*Letras distintas difieren estadísticamente.

La supervivencia de las vitroplantas (tabla 3) sólo mostró diferencias ante la presencia de la solución estimuladora del enraizamiento (ANA, 0.01%), lo cual puede estar vinculado al efecto auxínico, que ha sido reconocido como fundamental para la transferencia al suelo de vitroplantas, pues se conoce que las raíces producidas *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* Pierik (1990).



Figura 2. Vitroplantas adaptadas listas para plantarse en campo.

Las vitroplantas de *V. luteola* endurecidas se muestran en la figura 2, previo al trasplante en campo, donde no fueron observadas diferencias fenotípicas de ningún tipo.

## Fase de adaptación a campo

En el modelo cuadrado latino aplicado se demostró la homogeneidad del campo experimental al no presentar diferencias significativas, las filas ni las columnas, en el ANOVA factorial sin interacciones realizado.

Para la altura y la cantidad de hojas por planta (tabla 4) pudo verificarse una marcada diferencia significativa entre los tratamientos de vitroplantas y semilla, manifestándose el efecto de rejuvenecimiento en las plantas sometidas al estrés del cultivo *in vitro* donde se incrementan los resultados productivos (Pierik, 1990). Los diferentes marcos de plantación probados para las vitroplantas de la leguminosa no mostraron diferencia alguna.

Tabla 4. Comportamiento de las variables medidas en campo.

Tratamientos	Altura (cm)	No. hojas por planta		Supervivencia	
		Mediana	X'	%	X'
Semilla (0.60 x 0.20 m)	9.65 <sup>b</sup>	2	1.3901 <sup>b</sup>	99.68	3.0259
Vitroplanta (0.60 x 0.20 m)	24.07 <sup>a</sup>	11	3.4926 <sup>a</sup>	99.00	3.0017
Vitroplanta (0.60 x 0.60 m)	24.17 <sup>a</sup>	9	2.9957 <sup>a</sup>	96.00	2.8640
Vitroplanta (0.60 x 1.00 m)	26.00 <sup>a</sup>	14	3.6803 <sup>a</sup>	98.33	3.0110
	P≤0.001		P≤0.001		NS
Coefficiente de variación	0.0957		0.0905		

\*Letras distintas difieren estadísticamente.

La supervivencia en campo (tabla 4), bajo condiciones de drenaje deficiente, fue satisfactoria sin diferencias significativas entre las semillas y las vitroplantas, independientemente del marco de plantación empleado. No fueron observadas diferencias fenotípicas de ningún tipo entre las plantas de semillas y las vitroplantas. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Gulati y Jaiwal (1992), donde sólo lograron un 60 % de supervivencia de las plantas en campo trabajando con *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Otros autores reportan alrededor de 70-90 % de supervivencia de leguminosas transferidas a suelo como Eapen *et al.*, (1986).



Figura 3. Secuencia de vitroplantas en fase de campo al momento del trasplante y a los 60 días posteriores.

Las vitroplantas plantadas en campo pueden observarse en la figura 3, donde se pone de manifiesto la elevada capacidad de respuesta de la especie evaluada a un suelo de difícil drenaje, con índices de adaptación en campo superiores al 96 % en todos los tratamientos evaluados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agramonte, D.; Jiménez, F. y Rodríguez, D. (1998): Aclimatización. En: Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. J.N. Pérez (ed.). Santa Clara, Cuba. 202 pag.
- Duncan, D.B. (1955): Multiple ranges and multiple F. Test. *Biometric*. 11: 1.
- Eapen, Susan; Grill, R. and Rao, P. S. (1986): Tissue culture studies in moth bean. 55(15): 707-709.
- Gulati, A. and Jaiwal, P.K. (1992): *In vitro* induction of multiple shoots and plan regeneration from shoot tips of mung bean (*Vigna radiate* (L) *Wilezek*). *Plant cell tissue organ culture* 29(3): 195-205.
- Kozai, T.; Saved, M. y Zobayed, A. (2000): Acclimatization. En: Spier, R.E., ed. *Encyclopedia of Cell Technology*. John Wiley & Sons, Inc., Vol. 1: 1-12.
- López, Mirtha y Sistachs, E. (1986): Bacteriología de las leguminosas tropicales. En: *Los pastos en Cuba. Producción*. EDICA. La Habana, Cuba. pp. 229-268.
- Pierik, R. L. M. (1990): *Cultivo in vitro* de las plantas superiores. Edición, Madrid, España, 91-96.
- Quintana, Maribel; Nápoles, J.A.; Salas, Beatriz; Ulloa, Lisbet; Galdo, Yaldreisy y Carbonell, A. (2005): Introducción de mejoras en la producción de vitroplantas en leguminosas forrajeras. *Rev. Electrónica INFOCIENCIA*. Vol.9. No.2, Junio 2005.
- Ruesga, Idania; Peña, E.; Expósito, Irene; Gardon, D. (2005): Libro de experimentación agrícola. Editorial Universitaria, Ciudad Habana, Cuba, 4-5.
- Skerman, P.; Cameron, D. y Riveros, F. (1991): Leguminosas forrajeras tropicales. Colección FAO. Producción y Protección Vegetal. FAO. Roma, Italia. No.2, 498-503.