

Ra Ximhai

Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo
Sustentable

Ra Ximhai
Universidad Autónoma Indígena de México
ISSN: 1665-0441
México

2006

CARACTERES MORFOLÓGICOS DE PLANTAS DE *Morus alba* L. DERIVADAS DEL CULTIVO *in vitro* EN CONDICIONES DE CAMPO

José Enrique Salas Barboza, Daniel Agramonte Peñalver, Jiménez, T.F., Collado, L.R. y
Pérez, P.M.

Ra Ximhai, mayo-agosto, año/Vol.2, Número 2
Universidad Autónoma Indígena de México
Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 469-479



Caracteres morfológicos de plantas de *Morus alba* L. derivadas del cultivo *in vitro* en condiciones de campo

Morphologic characters of plants of “*Morus Alba L*”. derived from the culture *in vitro* in field conditions

José Enrique Salas-Barboza¹; Daniel Agramonte-Peñalver²; Jiménez, T.F.²; Collado, L.R.²; Pérez, P.M.²

¹Colegio de Postgraduados. Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco. México. Tel: 937 372 40 99. Fax: 937 372 22 97. salasj@colpos.mx; salas2001mx@yahoo.com.mx. ²Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. Tel: 42 281257 y 42 281268. Fax: 42 28 13 29.

RESUMEN

Se evaluaron en condiciones de campo plantas de morera provenientes del cultivo *in vitro* desarrolladas en medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y plantas, control en dos localidades con diferencias en tipo de suelo y método de riego. Se utilizó un arreglo factorial 2x3 con 4 repeticiones por tratamiento. Se determinó el porcentaje de supervivencia, altura de la planta, número de hojas y tallos, acumulación de materia seca y tasa de crecimiento. Se observó un mejor comportamiento de las plantas en la localidad 1 con valores de 97.51%, 106.79 cm, 230.05 hojas, 7.97 tallos, 1256.4 kg ha⁻¹ y 9.62 kg MS ha⁻¹ día⁻¹, respectivamente para las variables evaluadas, respecto a la localidad 2; asimismo, las plantas *in vitro* fueron superiores a las plantas control y entre estas, las plantas procedentes de inmersión temporal superaron a las de medio de cultivo semisólido.

Palabras clave: medio del cultivo, inmersión temporal, evaluación en campo.

SUMMARY

Mulberry plants from *in vitro* culture and developed in semisolid media culture, temporary immersion and control under field conditions in two sites with differences in soil type and watering method were evaluated. A factorial arrangement 2x3 was used with 4 repetitions for treatment. It was determined the survival (%), height of plant, leaves number and shafts, accumulation of dry matter and growth rate. A better behavior of the plants was observed in the site 1 with 97.51%, 106.79 cm, 230.05 leaves, 7.97 shafts, 1256.4 kg ha.⁻¹ and 9.62 kg MS ha.⁻¹ day⁻¹, respectively for the evaluated variables, respect to the site 2; also, the *in vitro* plants were best to the control plants and among these, the plants from temporary immersion were best to semisolid plants developed.

Key words: culture medium, temporary immersion, field evaluation.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales consideradas como forrajes son la principal fuente de alimentación del ganado en el trópico, pero su bajo contenido de nutrientes es sin duda la mayor limitante para cubrir los requerimientos de los animales y hacer más rentable la ganadería regional; por lo que es importante buscar alternativas que permitan mejorar su calidad, dando por hecho que al incrementarse dicha calidad los costos por suplementación en la alimentación animal serán menores y consecuentemente aumentará la productividad animal (Mesa *et al.*, 1994).

Una de estas alternativas es la utilización de los árboles y arbustos forrajeros los cuales han alcanzado un notable desarrollo en los últimos diez años debido a los beneficios productivos, económicos, sociales y ambientales que brindan a la sociedad. Dentro de estas especies se encuentra la morera (*Morus alba* L.), la cual es un arbusto forrajero que despierta cada vez más interés en los propósitos de especialistas y productores encargados de promover vías de producción y explotación sostenibles, lo más independiente posible de insumos externos y con las respuestas productivas que necesita la creciente demanda de los productos básicos de la canasta familiar; además, constituye la especie arbórea con mayores perspectivas de expansión por sus elevados rendimientos en biomasa comestible, digestibilidad, palatabilidad, altos valores nutricionales y perennidad frente al corte y; por su uso como forraje verde o conservada en forma de ensilaje o deshidratada (González *et al.*, 2000; Sánchez, 2002).

Los trabajos realizados en la propagación de morera utilizando el cultivo de tejidos han sido principalmente con el objetivo de producir material vegetal en el menor tiempo posible para su uso en la alimentación del gusano de seda; ello debido a las limitantes que tiene el cultivo en su propagación por los métodos convencionales la cual se considera lenta, no viable económicamente por el exceso de mano de obra y pobre desarrollo radicular (Bhau y Wakhlu, 2001; Lu, 2002). Por otro lado, mediante el tejido de cultivos se han logrado algunos resultados en el establecimiento y multiplicación de varias especies de *Morus* (Lu, 2002; Chitra y Padmaja, 2002; Habib, *et al.*, 2003; Hassanein *et al.*, 2003); sin embargo, no se han evaluado las plantas *in vitro* en condiciones de campo.

De lo anterior se deriva el objetivo del presente trabajo que fue determinar algunos caracteres morfológicos de las plantas de morera obtenidas a través del cultivo de tejidos en condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas derivadas del cultivo de tejidos (plantas *in vitro*) procedentes de medio de cultivo semisólido e inmersión temporal, obtenidas según la metodología empleada para la micropropagación de especies vegetales (Orellana, 1998) y plantas control originadas del establecimiento de estacas de morera, las cuales permanecieron 45 días en casa de cultivo para su aclimatización.

Después de permanecer en la fase de aclimatización, las plantas con una altura promedio de 28 cm y 10 hojas como mínimo, se llevaron a condiciones de campo y fueron sembradas 600 plantas por procedencia en dos localidades: a). localidad 1 Finca particular “La Yolanda” referencia provincial con suelo pardo sialítico mullido y riego por gravedad municipio de Santa Clara y b) Localidad 2, Estación Experimental “Pedro Lantigua” con suelo rojo ferralítico compactado y riego por aspersion municipio de Remedios, provincia de Villa Clara, Cuba (Hernández *et al.*, 1999).

Se realizaron 12 evaluaciones cada 30 días y se tuvieron en cuenta las siguientes variables: a) Supervivencia: se realizó una sola evaluación a los 15 días de sembradas las plantas en campo, para ello se tomó en cuenta el número de plantas al momento de la siembra y el número de plantas vivas al realizar la evaluación, b) altura de la planta: Se determinó la altura de 10 plantas por repetición utilizando una regla graduada en cm de tal manera que resultaron 40 observaciones por tratamiento; c) Número de hojas y ramas: para estas variables se utilizaron las mismas plantas que para la variable altura de la planta, a las cuales se les determinó la cantidad de hojas y ramas; d) Acumulación de materia seca: para cada evaluación se seleccionaron al azar 10 plantas por repetición a las cuales se les cosechó el follaje para eliminar la cantidad de agua en una estufa de aire forzado a 60°C durante 72 horas y obtener la masa seca, posteriormente estimar la acumulación de materia

seca en kg ha^{-1} , considerando 20 000 plantas por hectárea (distancia entre surcos de 1,0 m y 0,5 m entre plantas) y e) tasa de crecimiento (TC): para su cálculo se utilizaron los datos de peso seco por hectárea e intervalo en días entre muestreos obtenidos de la producción de biomasa foliar y utilizando la ecuación propuesta por Hunt *et al.*, (2002).

$$\text{TC} = \frac{\text{PS}_2 - \text{PS}_1}{T_2 - T_1}$$

Donde:

PS₁ y PS₂: Peso seco del muestreo 1 y 2, respectivamente;

T: Intervalo de tiempo entre PS₁ y PS₂.

Los datos fueron analizados mediante un diseño factorial 2x3 para determinar el efecto de las dos localidades de siembra y tres procedencias de las plantas con 4 repeticiones, 10 plantas por evaluación mensual y 12 meses de evaluación. Los datos de las variables número de hojas y número de ramas fueron transformados previos a su análisis mediante \sqrt{x} . Se utilizó la comparación múltiple de medias de Tukey y el paquete estadístico SPSS versión 8.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La procedencia de las plantas micropropagadas influyó significativamente ($p < 0,05$) sobre la variable porcentaje de supervivencia. En este caso se observó mayor porcentaje de supervivencia en la localidad 1 con un valor promedio de 97.51% en relación a la localidad 2 (Cuadro 1).

Para la localidad 1 no hubo diferencias significativas entre las plantas procedentes de medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y estacas; caso contrario ocurrió en la localidad 2 donde las plantas *in vitro* fueron superiores significativamente ($p < 0.05$) respecto a las plantas procedentes de estacas. El comportamiento de las plantas procedentes de medio de cultivo semisólido fue similar a las de inmersión temporal en las dos localidades evaluadas,

lo que indica que el estado físico del medio de cultivo (semisólido y líquido) donde se desarrollaron las plantas *in vitro* no afecta la supervivencia de las mismas en la fase de campo ya sea en la localidad 1 como en la 2.

Al respecto algunos autores como Chitra y Padmaja (1999), Lu (2002), Chitra y Padmaja (2002) y Hassanein *et al.*, (2003) quienes llevaron plantas micropropagadas de morera a campo, solo reportan valores de supervivencia, los cuales varían de 80 a 95%, estos son similares a los resultados observados en este trabajo en la localidad 2 pero inferiores a los de la localidad 1, ello indica que el tipo de suelo y método de riego empleados en la evaluación de campo de las plantas de morera obtenidas en cultivo *in vitro* en este estudio influyeron en la supervivencia de las mismas.

Cuadro 1. Características morfológicas de las plantas de morera procedentes de medio de cultivo semisólido (SS), inmersión temporal (SIT) y estacas (E) en dos localidades de siembra.

		Supervivencia (%)	Altura de la planta (cm)	Número de hojas
Localidad 1	SS	97.43a	115.53b	16.43b (264.99)
	SIT	98.10a	121.53a	17.14a (293.76)
	E	97.00a	83.08c	11.46c (131.41)
	MG±EE	97.51A±0.71	106.71A±3.16	15.01A±0.22
Localidad 2	SS	90.61a	106.97b	8.67b (75.10)
	SIT	91.44a	117.18a	10.61a (112.61)
	E	82.30b	69.96c	4.93c (24.28)
	MG±EE	88.12B±0.6	98.04B±2.94	8.07B±0.38

a, b. Medias con letras desiguales difieren para $p < 0.05$ de acuerdo a Tukey

Letras mayúsculas en la misma columna indican diferencia entre localidades.

Letras minúsculas en la misma columna para cada localidad indican diferencia entre procedencias

() Valores reales. EE: Error experimental

En la altura de las plantas no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre localidades para esta variable; sin embargo, si hubo diferencias dentro de localidades, observando un mejor ($p < 0.05$) comportamiento de las plantas micropropagadas respecto a

las estacas en las dos localidades evaluadas, siendo mejor aún ($p < 0.05$) las plantas procedentes de inmersión temporal en relación con las procedentes de medio de cultivo semisólido. De acuerdo con esto, las plantas *in vitro* superan en altura a las plantas obtenidas de estacas y, aún mejor en la localidad 1, esto se puede asociar con una mayor acumulación de materia seca, a la mayor cantidad de hojas presentes y al mayor crecimiento de la planta (Cuadro 1 y 2).

Los valores promedio en altura para las localidades evaluadas fueron estadísticamente iguales; sin embargo las plantas micropropagadas procedentes de inmersión temporal mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a las provenientes de medio de cultivo semisólido y estacas en las dos localidades evaluadas. En plantas de morera procedentes de estacas, Martin *et al.*, (2000) indican un valor en altura de 318 cm en la variedad criolla a los doce meses de sembradas; y Martin *et al.*, (2000) observaron una altura de 375 cm en plantas de la variedad tigreada a los doce meses de sembradas en campo, los cuales son superiores a los resultados obtenidos en este experimento a los doce meses de evaluación.

Tanto para número de hojas como de ramas se observó un aumento considerable en la localidad 1 ($p < 0.05$) respecto a la localidad 2, lo cual significa que la morera mostró mayor adaptabilidad a las condiciones de tipo de suelo y riego proporcionadas en la localidad 1 y manifestadas no solo en el número de hojas y tallos sino también en mayor producción de biomasa foliar, altura de la planta y tasa de crecimiento en las plantas procedentes de medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y estacas.

En la variable número de hojas, las plantas micropropagadas mostraron mayor cantidad de estas respecto a las procedentes de estacas con diferencias significativas ($p < 0.05$), y las plantas procedentes de inmersión temporal fueron mejor que las de medio de cultivo semisólido. El valor más alto en el número de hojas se observó en las plantas procedentes de inmersión temporal en la última evaluación con valores de 496 y 164 para la localidad 1 y 2 respectivamente. Al respecto Almeida y Canto (2002) observaron un promedio de 26.3 hojas en 30 variedades de morera cuando las plantas originadas de estacas tenían un metro

de altura, estos resultados son inferiores a los obtenidos en este estudio en la localidad 1 ya que a un metro de altura en las plantas derivadas de estacas se observaron 173 hojas; sin embargo, son similares a los registrados en la localidad 2 con un valor de 32.1 hojas, aunque esta altura no se alcanzó a la misma edad en las plantas *in vitro* evaluadas.

En la variable número de ramas se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las plantas procedentes de medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y estacas en las dos localidades evaluadas, resultando mejor las plantas obtenidas del cultivo *in vitro* respecto a las de estacas y dentro de estas las plantas provenientes de inmersión temporal. Se observaron los valores más altos en el número de ramas en la localidad 1 en relación a la localidad 2 (Cuadro 2).

Para la variable acumulación de materia seca se detectaron diferencias significativas entre localidades ($p < 0.05$) resultando mejor la localidad 1. En las dos localidades evaluadas se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre plantas procedentes de medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y estacas con valores superiores para las de inmersión temporal.

Los máximos valores obtenidos en la acumulación de materia seca en el tiempo evaluado fueron de 3042.0, 3526.4 y 2183.0 y 806.0, 1019.0 y 652.0 kg ha⁻¹ observados en la última evaluación para plantas procedentes de medio de cultivo semisólido, inmersión temporal y estacas, para la localidad 1 y 2, respectivamente. Estos valores son inferiores a los indicados por Martin *et al.*, (1999) quienes mencionan una producción de biomasa de 8200 kg ha⁻¹ en plantas de morera variedad criolla originadas de estacas a los doce meses de establecida en campo. Sin embargo, Benavides (2002), Sánchez (2002b) y Ye (2002) mencionan que la producción de biomasa de hojas en morera depende de la variedad, localidad, método de cosecha, aplicación de fertilizantes y densidad de siembra.

Cuadro 2. Características morfológicas de las plantas de morera procedentes de medio de cultivo semisólido (SS), inmersión temporal (SIT) y estacas (E) en dos localidades de siembra.

		Acumulación de		
			materia seca	Tasa de crecimiento
		Número de ramas	(kg ha ⁻¹)	(kg MS ha ⁻¹ día ⁻¹)
Localidad 1	SS	3.17b (10.07)	1378.1b	10.02b
	SIT	3.33a (11.07)	1537.6a	11.58a
	E	1.67c (2.78)	853.5c	7.25c
	MG±EE	2.72±0.046	1256.4±51.59	9.62±0.9
Localidad 2	SS	2.01b (4.03)	513.8b	2.60b
	SIT	2.10a (4.42)	662.8a	3.01a
	E	1.37c (1.89)	319.8c	2.17c
	MG±EE	1.83±0.028	498.8±22.19	2.59±0.07

a, b. Medias con letras desiguales difieren para $p < 0.05$ de acuerdo a Tukey
 Letras mayúsculas en la misma columna indican diferencia entre localidades.
 Letras minúsculas en la misma columna para cada localidad indican diferencia entre procedencias
 () Valores reales. EE: Error experimental.

Por otro lado, se observó un crecimiento irregular del cultivo durante el tiempo de evaluación para las dos localidades. En el caso de la localidad 1 y 2 se observa una tasa de crecimiento de 11.58 y 3.01 kg MS ha⁻¹ día⁻¹ en las plantas micropropagadas procedentes de inmersión temporal siendo diferentes estadísticamente ($p < 0.05$) en relación con las plantas procedentes de medio de cultivo semisólido y estacas. Por otro lado, se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la localidad 1 respecto a la localidad 2. Estos resultados indican que la producción de biomasa de la morera ya sea en plantas propagadas *in vitro* o a través de estacas tiene un comportamiento irregular y dependerá en gran medida del tipo de suelo y método de riego que se utilice en su cultivo. Al respecto Salas (1998) observó que la luz, temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes y concentración de CO₂ atmosférico son los principales factores que pueden limitar el crecimiento de las

especies vegetales, lo cual puede ser la respuesta al comportamiento en el crecimiento de la morera observado en este trabajo para las dos localidades evaluadas.

CONCLUSIONES

De acuerdo al objetivo planteado y los resultados obtenidos se puede concluir que, las plantas *in vitro* mostraron mejor comportamiento respecto a las plantas procedentes de estacas en las variables evaluadas y, dentro de estas, las plantas procedentes de inmersión temporal superaron a las provenientes de medio de cultivo semisólido. Las condiciones de crecimiento en campo tales como tipo de suelo y método de riego tuvieron gran importancia debido a que fueron factores que afectaron el establecimiento y desarrollo de las plantas de *Morus alba* L.

LITERATURA CITADA

- Almeida, J.E. y Canto, T. 2002. **Mulberry germoplasm and cultivation in Brazil**. In: Mulberry for Animal Production. Sánchez, M.D. (ed.). FAO Animal Production and Health. Paper 147. pp. 72-100.
- Benavides, J.E. 2002. **Utilization of mulberry in animal production systems**. In: Sánchez, M.D. (ed.). Mulberry for Animal Production. FAO Animal Production and Health. Paper 147. pp. 301-340.
- Bhau, B.S. y Wakhlu, A.K. 2001. **Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba* L.** Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 66: 25-29.
- Chitra, V.D.S. y Padmaja, G. 1999. **Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. Cultivar M-5) through in vitro culture of nodal explants**. Scientia Horticulturae. 80: 289-298.
- Chitra, V.D.S. y Padmaja, G. 2002. **Seasonal influence on axillary bud sprouting and micropropagation of elite cultivars of mulberry**. Scientia Horticulturae. 92: 55-68.
- González, E.; Ortega, M.; Cáceres, O. y Arece, J. 2000. **Efecto de diferentes niveles de morera en el consumo y crecimiento de carbitas destetadas en confinamiento total**. In: I Taller Internacional de morera. Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”. Matanzas. Cuba. (En Línea) Disponible en www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/aga/agap/frg/afris/espanol/document/morera/indice.htm

- Habib, A.; Ali, M.R.; Amin, M.N. y Arman, M.M. 2003. **Clonal propagation of white mulberry (*Morus alba* L.) using in vitro technique**". Journal of Biotechnological Sciences. 3(12): 1181-1187.
- Hassanein, A.M.; Galal, A.A. y Azooz, M.M. 2003. **Interaction between time of nodal explant collection and growth regulators determines the efficiency of *Morus alba* micropropagation**. Journal of Plant Biotechnology. 5(4): 225-231.
- Hernández, J.A.; Pérez, J.J.M.; Bosch, I.D.; Rivero, R.L.; Camacho, D.E. 1999. **Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba**". Instituto de Suelos. Ministerio de Agricultura. Ciudad La Habana. Cuba. 64 p.
- Hunt, R.; D.R. Causton; B. Shipley y A.P. Askew. 2002 **"A modern tool for classical growth analysis"**. Annals of Botany. 90: 485-488.
- Lu, M.Ch. 2002. **Micropropagation of *Morus latifolia* Poilet using axillary buds from mature trees**. Scientia Horticulturae. 96: 329-341.
- Martin, G.; Yepes, I; Hernández, I. y Benavides, J.E. 2000. **Evaluación del comportamiento de cuatro variedades de morera (*Morus alba* L.) durante la fase de establecimiento**". In: III Taller Internacional Silvopastoril: Los Arboles y Arbustos en la Ganadería. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". FAO. Matanzas. Cuba. pp. 92-96.
- Martin, G.; Reyes, F.; Hernández, I. y Milera, M. 2000. **Estudios agronómicos realizados en *Morus alba* L.** In: III Taller Internacional Silvopastoril "Los Arboles y Arbustos en la Ganadería". Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". FAO. Matanzas. Cuba. pp. 200-204.
- Mesa, A.R.; Lajonchere, G. y Toral, O. 1994. **El cultivo *in vitro* en el mejoramiento de pastos y forrajes**". I. Variación somaclonal. Pastos y Forrajes. 17:1.
- Orellana P. P. 1998. **Propagación vía organogénesis**. In: Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología. Pérez, P. J. (Ed.). Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara. 390 p.
- Quintero, R.R. 1996. **Biotecnología y desarrollo sustentable. Biotecnología Aplicada**. Revista de la Sociedad Iberoamericana de Biotecnología Aplicada a la Salud. Elfos Scientiae. Vol. 13. La Habana, Cuba.
- Salas, B.J.E. 1998. **Estado fisiológico óptimo de corte en alfalfa durante el verano y otoño**. Tesis presentada como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. 88 p.

Sánchez, M.D. 2002. **Mulberry: an exceptional forage available almost worldwide.** *In:* Mulberry for Animal Production. Sánchez M.D. (ed.). FAO Animal Production and Health Paper 147. pp 301-313.

Ye, Z. 2002. **Factors influencing mulberry leaf yield.** *In:* Mulberry for Animal Production. Sánchez M.D. (ed.). FAO Animal Production and Health Paper 147. Rome, p. 107-108.

José Enrique Salas Barboza. Doctorado en la Universidad Central Marta Abreu de las Villas, Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, Cuba. Maestro en Ciencias en Ganadería por Colegio de Postgraduados. Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia por la Universidad Autónoma Chapingo. Investigador del Colegio de Postgraduados desde 1999.

Daniel Agramonte Peñalver

Doctor en Ciencias en Universidad Central Marta Abreu de las Villas, Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, Cuba. Maestro en Ciencias en Biotecnología Vegetal, Instituto de Biotecnología Vegetal. Santa Clara, Cuba. Licenciatura en la Universidad Central Marta Abreu de las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Santa Clara Cuba. Profesor Investigador del Instituto de Biotecnología de las Plantas desde 1994. Director del Instituto de Biotecnología de las Plantas desde 2002.