



Propagación *in vitro* de *Gossypium barbadense* L. "algodón nativo" de fibra marrón

In vitro propagation of *Gossypium barbadense* L. "native cotton" of brown fiber

Segundo Eloy López-Medina¹; *José Mostacero-León¹; Angélica López-Zavaleta¹; Armando Efraín Gil-Rivero¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

RESUMEN

Gossypium barbadense L. "algodón nativo", especie originaria del Perú, de gran valor etnobotánico y de alto potencial industrial en el sector textil por presentar diferentes colores y tonalidades, y por ende no requerir de tintes; viene desapareciendo al igual que muchas de sus variedades, poseedoras de genes candidatos, que permitirían el mejoramiento de muchas variedades comerciales. La investigación se centró en determinar la propagación *in vitro* de *G. barbadense* "algodón nativo" de fibra marrón. Las semillas procedieron del distrito de San Benito, Contumazá, Cajamarca-Perú. La fase experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos. Se empleó un diseño en bloques completamente al azar. Para el establecimiento *in vitro* se sembró nudos en medio MS (1962), suplementado con diferentes concentraciones de ácido naftalenacético (ANA) y 6 bencilaminopurina (BAP), los cuales constituyeron los tratamientos (T). Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con la prueba ANOVA y TUKEY, encontrándose diferencias estadísticamente significativas. Se concluye que para la propagación *in vitro* de *G. barbadense* "algodón nativo" de fibra marrón, las concentraciones 0,5 mg.L⁻¹ de ANA y 2 mg.L⁻¹ de BAP, son las más adecuadas.

Palabras clave: Establecimiento *in vitro*; *Gossypium barbadense*; algodón nativo.

ABSTRACT

Gossypium barbadense L. "native cotton", a species native to Peru, of great ethnobotanical value and high industrial potential in the textile sector by presenting different colors and shades, and therefore do not require dyes; has been disappearing like many of its varieties, possessing candidate genes that would allow the improvement of many commercial varieties. The research focused on determining the *in vitro* propagation of *G. barbadense* "native cotton" of brown fiber. The seeds came from the San Benito district, Contumazá, Cajamarca-Peru. The experimental phase was developed in the Biotechnology Laboratory of the Institute of Potato and Andean Crops. A completely randomized block design was used. For *in vitro* establishment, knots were seeded in MS medium (1962), supplemented with different concentrations of naphthalenacetic acid (ANA) and 6 benzylaminopurine (BAP), which constituted the treatments (T). The results obtained were statistically analyzed with the ANOVA and TUKEY test, finding statistically significant differences. It is concluded that for the *in vitro* propagation of *G. barbadense* "native cotton" of brown fiber, the concentrations 0.5 mg.L⁻¹ of ANA and 2 mg.L⁻¹ of BAP are the most adequate.

Keywords: Establishment *in vitro*; *Gossypium barbadense*; native cotton.

1. Introducción

El algodón es el cultivo no alimentario más importante en el mundo, siendo estratégico en las economías de muchos países en vías de desarrollo (Gutiérrez *et al.*, 2009; SAGARPA y FAO, 2014; Behnam *et al.*, 2015; Toro y Becerra, 2017). Morfológicamente es una planta perenne, erecta o

postrada y de porte arbóreo o arbustivo. El fruto es una cápsula cuya forma es ovoide o esférica, las semillas son ovoides y ligeramente angulares, las fibras se forman de elongaciones de las células epidérmicas que se van alargando y engrosando con los continuos depósitos de celulosa. En la sierra es posible encontrar relictos de especies

nativas y silvestres en terrenos rocosos y arenopedregoso, a una altitud entre los 100 a 1600 m.s.n.m (Fernández et al., 2003; Gil y Lopéz, 2015; Gil y Lopéz, 2017; López y Gil, 2017; López et al., 2018; López et al., 2020).

El algodón nativo de color, fue cultivado por los antiguos peruanos, siendo su centro de origen la zona norte del Perú, donde se encuentran recintos arqueológicos, depositarios de restos de algodón, que son evidencia del proceso de selección que realizó el antiguo peruano, con la finalidad de obtener mayores rendimientos en este cultivo (Fernández et al., 2003).

Por otro lado, el riesgo de contaminación con las variedades híbridas de fibra blanca, contribuyó con la pérdida del valioso germoplasma, muy poco difundida en el mercado nacional e internacional, llevándola al borde de la extinción. Siendo una de las principales bondades de sus fibras el no necesitar ningún tipo de teñido, por lo que actualmente se busca revalorar estas variedades ante una moderna industria textil que evita la contaminación del ambiente y el empleo de colorantes carcinogénicos; hecho que constituyó al algodón nativo, como patrimonio del Perú por su herencia genética, étnica y cultural (Cortijo y Cancio 2012; Ministerio del Ambiente del Perú, 2013; Pisani et al., 2015; Ramawat y Ahuja, 2016; Fang, 2018).

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es una vía en la multiplicación, rescate y conservación de especies de interés. Esta técnica consiste en preparar un medio de cultivo, bajo condiciones asépticas provistas de macronutrientes, micronutrientes y hormonas; para luego proceder a la siembra de explantes, de tal manera que se pueda ejercer control relativo de los procesos morfogénicos, fisiológicos y bioquímicos. Estos explantes bajo condiciones adecuadas producirán plántulas idénticas a su progenitor, libres de virus y de otros patógenos (Sharry et al., 2015; Alcántara et al., 2017; Hernández et al., 2019).

Cabe destacar que las hormonas tienen función específica en el crecimiento y desarrollo de las plántulas. De ellas, las auxinas, son las encargadas de promover el crecimiento y alargamiento celular; siendo las más empleadas el ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA), ácido indolbutírico (AIB) y 2,4-D. Por otro lado, las citoquininas promueven la división celular, siendo la zeatina, kinetina y bencilaminopurina, las más conocidas. Aunado a lo mencionado, las giberelinas promueven el alargamiento de segmentos nodales, siendo el ácido giberélico (AG3) la más empleada en biotecnología. Finalmente, el ácido

abscísico, inhibe el crecimiento, además de inducir la senescencia vegetal y floral (Rojas et al., 2004; Alcántara et al., 2019; Porta y Jiménez, 2019)

Investigaciones en esta especie realizadas por Rojas et al. (2014), quien experimentó con ápices caulinares y nudos de *G. barbadense*, obteniendo una mejor tasa de brotamiento empleando la concentración de 0,1 mg/L de ANA y 1,0 y 2,0 mg/L de BAP. Shazia y Aneela (2018), trabajando con *G. arboreum*, obtuvieron múltiples brotes utilizando MS suplementado con 1,0 mgL⁻¹ Bencilaminopurina (BAP) y 0,5 mgL⁻¹ Kinetina (KIN).

De igual manera, Teruya (2016), afirma que, para una óptima producción, maduración de embriones somáticos y posterior organogénesis, es necesario emplear MS suplementado con 0,05 mg/L de Kinetina y 0.3 mg/L de IBA. Por lo expuesto y ante la necesidad de mayor conocimiento en esta área, se hace imprescindible establecer su protocolo de establecimiento *in vitro*. Siendo el objetivo de investigación determinar la propagación *in vitro* de *G. barbadense* "algodón nativo" de fibra marrón.

2. Material y métodos

Material Biológico

El material vegetal (frutos) procedió de San Benito, Contumazá, Cajamarca, Perú. Mientras que la fase experimental se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos de la Universidad Nacional de Trujillo. El material botánico fue registrado en el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo (HUT), con código 58865 para *Gossypium barbadense* L.

Colecta de semillas

Para tal fin, se seleccionaron cápsulas maduras (bellotas) libres de afecciones y abolladuras, las cuales se colectaron en bolsas de papel, se rotularon y transportaron al Laboratorio.

Selección y siembra de semillas en almácigo

Se seleccionaron las mejores semillas las cuales fueron sembradas en bolsas de almácigo. El sustrato estuvo constituido por una mezcla de humus y arena en proporción 1:1, previamente desinfectado. Se sembraron 2 semillas por bolsa, previo tratamiento con fungicida Benomil a la dosis de 1% de ingrediente activo.

Colecta de explantes

Se colectaron nudos de plantas de *G. barbadense* de 3 meses de edad. Los cuáles fueron lavados en abundante agua y transportados al laboratorio.

Preparación de medio de cultivo suplementado con reguladores de crecimiento

Para la preparación del medio de cultivo se empleó azúcar, agar y MS (1962); suplementado con las hormonas: ANA y BAP a diferentes concentraciones (Tabla 1). Una vez preparado los medios de cultivo, se esterilizados en autoclave de la marca ALL AMERICAN modelo 25x (25gt/24 L), a 1 atm por 30 minutos.

Tabla 1

Diferentes concentraciones de ANA y BAP, durante la preparación del medio de cultivo para la propagación *in vitro* de *G. barbadense*

BAP/ANA	0 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
0 mg/L	0 / 0	0,1 / 0	0,5 / 0
1 mg/L	0 / 1	0,1 / 1	0,5 / 1
2 mg/L	0 / 2	0,1 / 2	0,5 / 2

Siembra *in vitro* de explantes

La siembra se realizó en cámara de flujo laminar. Los explantes fueron desinfectados con alcohol de 70° durante 15 segundos, seguido de 3 enjuagues con agua estéril. Finalmente se desinfectó con lejía al 2% durante 3 minutos, seguido de 3 enjuagues con agua destilada estéril. Después con la ayuda del instrumental fueron tomados uno a uno y sembrados en sus respectivos frascos, se rotularon con plumón indeleble y transportaron al cuarto de incubación, con un fotoperiodo de 13 horas luz y 11 horas oscuridad, Humedad relativa del 85% y entre 20-22 °C de temperatura.

Evaluación de las plántulas y análisis estadístico

Se evaluó a los 40 días después de realizada la siembra. Se tomó datos de altura de plántula, número de hojas y entrenudos con yema axilar. El diseño fue en bloques completamente al azar. Con 3 bloques y 9 tratamientos, conformando un total de 216 explantes. Los resultados obtenidos fueron analizados a fin de determinar la existencia de diferencias significativas mediante ANOVA y TUKEY, empleando el software R.

3. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en la Tabla 2, en lo referente a altura, número de hojas y número de entrenudos promedio de plántulas de *G. barbadense* a los 40 días de evaluación, muestran, que tanto el T8 como T9 presentaron los valores más altos, manifestando a su vez un desarrollo óptimo comparado con el resto de tratamientos; reflejado en el hecho de que los explantes presentaron mayor altura, número de hojas y entrenudos con yemas axilares (Tabla 2 y

Figura 1). Datos que concuerdan con lo establecido por Rojas et al. (2014), quienes afirman que la combinación de MS+ ANA (0,1 mg.L⁻¹) y BAP (1 o 2 mg.L⁻¹), son óptimas en el establecimiento *in vitro* de *Gossypium barbadense* "algodón nativo"; esto en suma a que el correcto balance hormonal citoquininas / auxina ejerce un efecto positivo en la desdiferenciación y división celular; rompiendo de esta forma la latencia de yemas axilares y estimulando la formación del brote, como lo observado en el tratamiento T9 (Martínez y Moysset, 2006).

Tabla 2

Resultados de la propagación *in vitro* de *G. barbadense*, para la altura, número de hojas y número de entrenudos promedio de plántulas

T	Concentración (mg.L ⁻¹)	Altura (mm)	N° HP	N° EP
T1	0 BAP / 0 ANA	3,9	0,35	0
T2	0 BAP / 0,1 ANA	4,4	0,83	0
T3	0 BAP / 0,5 ANA	5,6	1	0,13
T4	1 BAP / 0 ANA	4,3	1,96	0,17
T5	1 BAP / 0,1 ANA	4,7	2,09	0,26
T6	1 BAP / 0,5 ANA	5,1	2,43	0,35
T7	2 BAP / 0 ANA	4,4	1,78	0,29
T8	2BAP / 0,1 ANA	6,1	3,17	0,61
T9	2 BAP / 0,5 ANA	7,3	3,35	0,69

Leyenda: T = Tratamiento, N°HP = Número de hojas promedio y N° EP = Número de entrenudos con yema axilar promedio.

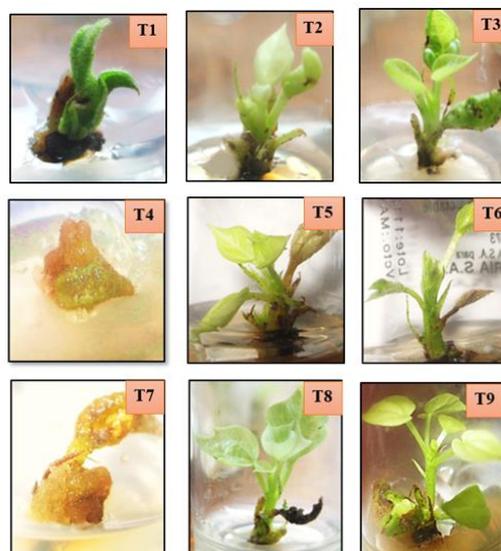


Figura 1. Plántulas de *G. barbadense* a los 40 días de siembra en medio de cultivo MS (1962) suplementado con diferentes concentraciones de fitohormonas (mg.L⁻¹), según el tratamiento.

Lo descrito en el párrafo anterior, se ratifica en el hecho de que los resultados del Análisis de varianza muestran un valor-P de la prueba-F menor a 0,05, que revela la existencia de diferencias significativas entre las variables: altura, número de hojas y entrenudos con yema axilar, y por ende

entre los tratamientos, con un nivel del 95,0% de confianza, donde el tratamiento T9 fue el mejor, según la prueba de Tukey (Tabla 3, 4 y 5); lo que corrobora la existencia de diferentes respuestas de los explantes de *G. barbadense*. Por otro lado en los tratamientos T8 y T9, se observó un mayor crecimiento de los explantes. Esto se debe a que el balance hormonal afecta en crecimiento, obteniéndose una diferente respuesta del explante. Investigadores como Rojas et al. (2004), afirman que las hormonas tienen diferentes acciones que pueden ser desde estimulantes, retardatoria o hasta inhibitorias del crecimiento y desarrollo de los meristemas. Efectos que pueden ser aumentados (sinergismo) o disminuidos (antagonismo) por las hormonas de otro grupo al mezclarse en un mismo medio de cultivo, surgiendo variantes al mezclar mayor o menores concentraciones.

Tabla 3

Tukey para la altura (cm) de las plántulas de *G. barbadense* L. "algodón nativo", de fibra marrón

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1	23	0,392609	X
T7	23	0,435652	X
T4	23	0,435652	X
T2	23	0,44	XX
T5	23	0,465652	XX
T6	23	0,511739	XXX
T3	23	0,56	XX
T8	23	0,605217	X
T9	23	0,731739	X

Tabla 4

Tukey para el número de hojas de las plántulas de *G. barbadense* "algodón nativo", de fibra marrón

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1	23	0,347826	X
T2	23	0,826087	XX
T3	23	1,0	X
T7	23	1,78261	X
T4	23	1,95652	XX
T5	23	2,08696	XX
T6	23	2,43478	X
T8	23	3,17391	X
T9	23	3,34783	X

Tabla 5

Tukey para el número de entrenudos con yema axilar de las plántulas de *G. barbadense* "algodón nativo", de fibra marrón

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1	23	0,0	X
T2	23	0,0	X
T3	23	0,130435	XX
T4	23	0,173913	XX
T5	23	0,26087	XX
T7	23	0,294348	XX
T6	23	0,347826	XX
T8	23	0,608696	X
T9	23	0,695652	X

En suma, los tratamientos (T2, T3, T5, T6, T8 Y T9) donde al medio de cultivo se añadió Acido Naftalenacético (ANA) a diferentes concentraciones, comparado con el tratamiento testigo (Figura 1), desarrollaron una mayor altura; toda vez que investigaciones afirman que las auxinas como el ANA reprime el desarrollo de brotes laterales y mantienen la dominancia apical, contribuyendo con el alargamiento de las células (Garay-Arroyo et al., 2014). Por otro lado, el BAP estimula la división de tejidos no meristemáticos (Rojas et al., 2004). De allí que, en los tratamientos 4 y 7 (Figura 5 y 6), donde hubo solo la presencia de BAP se evidenció la formación de callos celulares. Resultados que concuerdan con los investigadores Gómez y García (2006); quienes afirmaron que las citoquininas tienen la habilidad de inducir la división celular los tejidos cultivados *in vitro*, dando lugar a la formación de callos celulares; de gran importancia farmacéutica en la producción de metabolitos secundarios (Calva y Pérez, 2005; Pérez y Cornejo, 2014).

4. Conclusiones

Se concluye que para la propagación *in vitro* de *G. barbadense* "algodón nativo" de fibra marrón, las concentraciones 0,5 mg.L⁻¹ de ANA y 2 mg.L⁻¹ de BAP, son las más adecuadas.

Se recomienda continuar con investigaciones que permitan comparar a partir de otras fitohormonas y/o fitorreguladores su accionar en la propagación *in vitro* de *G. barbadense* "algodón nativo"; a fin de generar protocolos que permitan reproducir masivamente este recurso promisorio, fomentando de esa manera su uso sustentable y a partir de allí generar desarrollo y progreso para la población local, regional y nacional.

Referencias bibliográficas

- Alcántara, J.; Castilla, M.; Sánchez, R. 2017. Importancia de los cultivos vegetales *in vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias* 1(1):71-83.
- Alcántara, J.; Acero, J.; Cortés, A.; Sánchez, R. 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA* 17(32): 109-129.
- Behnam, M.; Javad, S.; Karimian, R. 2015. Cotton Ovule Culture: A Tool for Biological and Biotechnological Studies of Cotton. *Journal of Applied Biotechnology Reports* 2(4): 311-314.
- Calva, G.; Pérez, J. 2005. Cultivo de células y Tejidos vegetales: Fuente de alimentos para el futuro. *Revista Digital Universitaria* 6(11): 1-16.
- Cortijo, A.; Cancio, I. 2012. Innovación tecnológica para recuperar el algodón nativo de color. *Rev Ingeniería Industrial* 30: 225-245.
- Fang, D. 2018. Cotton Fiber: Physics, Chemistry and Biology. Editorial Springer. Switzerland. 222 pp.
- Fernández, A.; Rodríguez, E.; Westengen, O. 2003. *Biología y Etnobotánica del algodón Nativo Peruano (Gossypium barbadense L., Malvaceae)*. *Arnaldia* 10(2): 92-10.
- Garay-Arroyo, A.; de la Paz-Sánchez, M.; García-Ponce, B.; Álvarez-Buylla, E.; Gutiérrez, C. 2014. La Homeostasis de las Auxinas y

- su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis Thaliana*. REB 33(1): 13-22.
- Gil, A.; López, S. 2015. Características germinativas de semillas del algodón nativo, *Gossypium* sp., de fibra verde, lila y marrón. Rebiol 2(35): 39-46.
- Gil, A.; López, S. 2017. Principales plagas y controladores biológicos de *Gossypium hirsutum* L. "algodón nativo" de fibra verde en relación a su ciclo fenológico. Araldoa 24(1): 359-368.
- Gómez, A.; García, P. 2006. Fitohormonas: metabolismo y modo de acción. Editorial Publicaciones de la Universidad Jaume. España. 335 pp.
- Gutiérrez, M.; Trujillo, B.; Pérez, D.; Márquez, A.; Pacheco, W. 2009. Colecta y rescate del conocimiento local de algodones nativos en las costas de los estados Falcón y Aragua, Venezuela. Rev Agronomía Tropical 59(1): 59-71.
- Hemández, A.; Wegier, A.; Benítez, M.; Lira, R.; Sosa, L.; Escalante, A. 2019. In vitro performance in cotton plants with different genetic backgrounds: the case of *Gossypium hirsutum* in Mexico, and its implications for germplasm conservation. Peer J. 7(1): 1-18.
- López, S.; Gil, A. 2017. Fenología de *Gossypium raimondii* Ulbrich "algodón nativo" de fibra de color verde. Scientia Agropecuaria 8(3): 267-271.
- López, A.; López, S.; Gil, A.; Caicedo, E.; Mendoza, E. 2018. Caracterización de frutos, semillas y fibras de *Gossypium barbadense* "algodón Pardo". Sciendo 21(3): 301-304.
- López, S.; Mostacero, L.; Quijano, C.; Gil, A.; Rabanal, F. 2020. Caracterización del fruto, semilla y fibra de *Gossypium raimondii* Ulbrich, ecotipo algodón silvestre. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 21(1): 1-8.
- Martínez, E.; Moysset, L. 2006. Prácticas de crecimiento y desarrollo de los vegetales. Editorial Universidad de Barcelona. Barcelona, España. 96 pp.
- Ministerio del Ambiente del Perú. 2013. Consultoría: Distribución y Concentración de las razas locales de algodón nativo en la costa norte del Perú. 2013. Disponible en: http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wpcontent/uploads/sites/21/2014/02/informe_final_lva.pdf
- Pérez, J.; Comejo, M. 2014. Cómo y por qué trabajamos con células vegetales: How and Why We Work with Plant Cells. Editorial Universitat de València. València, España. 131 pp.
- Pisani, E.; Masiero, M.; Scrocco, S. 2015. Reintroduction of native cotton (*Gossypium Barbadian*) on the North coast of Peru: Analysis of economic feasibility for small producers. Rev. FCAUNCUYO 47(1): 209-232.
- Porta, H.; Jiménez, G. 2019. Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 22: 1-11.
- Ramawat, K.; Ahuja, M. 2016. Fiber Plants: Biology, Biotechnology and Applications. Editorial Springer. Switzerland. 258 pp.
- Rojas, I.; Cuzquen, C.; Delgado, G. 2014. Propagación clonal in vitro enraizamiento de estacas de algodón nativo (*Gossypium barbadense*). Rev Acta agronómica 62 (4): 312-320.
- Rojas, S.; García, J.; Alarcón, M. 2004. Propagación asexual de plantas. Editorial Corpoica. Colombia. 55 pp.
- SAGARPA; FAO. 2014. Análisis de la cadena de valor en la producción de algodón. México. Editorial Danda Impresores.
- Sharry, S.; Adema, M.; Abedini, W. 2015. Plantas de Probeta, Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro. Editorial de la Universidad de La Plata. Argentina. 241 pp.
- Shazia, Y.; Aneela, Y. 2018. Optimisation of in vitro propagation of *Gossypium arboreum* L. Pure and Applied Biology 7(2): 419-426.
- Teruya, M. 2016. Evaluación de fitoreguladores del crecimiento en la inducción de callo embriogénico en *Gossypium barbadense* L. 1753 "algodón nativo" color pardo. Tesis de pregrado. Universidad Ricardo Palma.
- Toro, R.; Becerra, M. 2017. Análisis logístico agrocadena de algodón Colombia empleando dinámica de sistemas. Revista Ingeniería Industria 3(16): 289-30.