

Artículo científico**COMPORTAMIENTO *IN VITRO* DE CULTIVARES DE AJO (*ALLIUM SATIVUM* L.) ANTE CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO.**

Alberto Tarraza Rodríguez, Lianne Fernández Granda y Victoria Moreno Formental.

RESUMEN

En Cuba se cuenta con cultivares de *Allium sativum* L. (ajo) obtenidos por el mejoramiento genético. No obstante, no existe la evidencia de que estos materiales sean capaces de tolerar los efectos de la salinización de los suelos. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la salinidad en los cultivares cubanos, en condiciones *in vitro*, para poder determinar los materiales promisorios, tanto para su utilización, como para ser incluidos en futuros programas de mejora. Se analizó el comportamiento de cuatro cultivares de ajo ante seis tratamientos con diferentes concentraciones de NaCl. El experimento se mantuvo por 21 días, en condiciones de fotoperiodo y temperatura estables. Se calculó la inhibición del crecimiento y se empleó el índice de estrés para un nivel de conductividad eléctrica de 9,03 dSm. Se determinó el nivel letal medio al estrés salino mediante características morfológicas y el desarrollo de la biomasa de las hojas y del sistema radicular. Todos los cultivares se encuentran en un rango de tolerancia para suelos modernamente salinos, por debajo de los 7,5 dSm.

Palabras clave: Índice de estrés, NaCl, salinidad

***In vitro* behavior of cultivars of garlic (*Allium sativum* L.) under saline stress conditions.**

ABSTRACT

In Cuba it has been developed *Allium sativum* L. (garlic) cultivars, obtained from genetic improvement. The proof that these materials be able to tolerate the effects of the salinization of soils does not exist. The objective of this study is to evaluate the effect of salinity in Cuban cultivars, under *in vitro* conditions to be able to determine the garlic promissory materials, so much for his utilization, as for insertion in future genetic improving programs. We used four garlic crops in six treatments with different concentrations of NaCl. The experiment was maintained 21 days, under photoperiod's conditions and temperature stable. We calculated the inhibition of the growth and the index of stress for a level of electric conductivity of 9.03 dSm. Was determined the lethal half level to the saline stress, by means of morphologic characteristics and the development of the biomass of leaves and of the system radicular. All cultivars find themselves in a range of they tolerate for recently Saline grounds, underneath the 7.5 dSm.

Key words: Stress indices, NaCl, salinity

Lic. Alberto Tarraza Rodríguez, reserva científica del Departamento de Recursos Fitogenéticos y Semillas del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). Calle 188 #38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas, La Habana, Cuba. E-mail: genetica10@inifat.co.cu

INTRODUCCIÓN

En Cuba se cuentan con cultivares de ajo (*Allium sativum* L.), que a pesar de ser de origen asiático, presentan características específicas que le permiten su desarrollo y propagación en las condiciones edafoclimáticas del país (Muñoz, 2010). No obstante, no existe la evidencia de que estos materiales sean capaces de tolerar los efectos del cambio climático, en especial a la salinización de los suelos, uno de los más impactantes en la región (Durán y Acosta, 2018).

Estos autores advierten que la salinización de los suelos cubanos es un proceso que lleva tiempo transcurriendo y este se agravará con las penetraciones de las cuñas marinas subterráneas en le manto freático. Además estos autores declaran las principales áreas de producción de ajo en el occidente cubano entre las más afectadas. Tratamientos con el empleo de calcio (Mariani y Ferrante, 2017) y de selenio (Khademi *et al.*, 2018) atenúan el daño que provoca la salinidad en las plantas, pero aún así es necesario identificar cultivares que posean tolerancia (Torres, 2018).

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la salinidad en los cultivares cubanos en condiciones *in vitro*, para poder determinar los materiales promisorios, tanto para su utilización, como para ser incluidos en futuros programas de mejora genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon cuatro cultivares de ajo (*Allium sativum* L.), 'Trocha 1' y 'Vencedor 3', los cuales están incluidos en la Listada de variedades comerciales de Cuba y obtenidos por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical

"Alejandro de Humboldt" (INIFAT, 2014), el 'Clon 6' perteneciente a la colección del Banco de Germoplasma del INIFAT y el 'Criollo' que fue colectado en la provincia de Artemisa.

A partir de una concentración de 3 M de NaCl se realizaron diluciones en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) que corresponden a diferentes valores de Conductividad Eléctrica (C.E.) (Tabla 1). Se realizaron dos réplicas de 12 muestras para cada tratamiento.

Tabla 1. Relación de las diluciones de NaCl (3 M) en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) y su valor correspondiente de Conductividad Eléctrica (C.E.).

Tratamiento	C.E (dSm)
MS (control)	4,31
5 mL.L ⁻¹	5,30
15 mL.L ⁻¹	6,61
25 mL.L ⁻¹	7,52
35 mL.L ⁻¹	9,03
45 mL.L ⁻¹	10,96
55 mL.L ⁻¹	12,44

Se mantuvieron en condiciones *in vitro* durante 21 días a una temperatura de 24 °C y a 16 horas luz. Al finalizar este periodo se evaluaron los siguientes indicadores:

- **Longitud mayor de las hojas (mm):** Se mide desde el extremo superior del diente hasta la punta de la hoja más larga. Se emplea un papel milimetrado.
- **Longitud del sistema radicular (mm):** Se mide desde el extremo inferior del diente hasta la punta de la raíz más larga. Se emplea un papel milimetrado.

- **Masa fresca de la parte foliar (g):** Se corta todas las hojas, de cada muestra, desde el extremo superior del diente e inmediatamente se masa en una balanza analítica ($e=1\text{mg}$).
- **Masa fresca del sistema radicular (g):** Se corta todas las raíces, de cada muestra, desde el extremo inferior del diente e inmediatamente se masa en una balanza analítica ($e=1\text{mg}$).
- **Masa seca foliar (g):** Las hojas, de cada muestra, se sometieron a tres ciclos de 8 horas en una estufa a 125°C comprobando su masa en una balanza analítica ($e=1\text{mg}$), hasta que el valor fue constante.
- **Masa seca del sistema radicular (g):** Se calculó siguiendo el mismo procedimiento anterior.

Se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianza y se realizó el análisis de varianza con la prueba Duncan (0,05) mediante el programa InfoStat (versión 2011). Se calculó la inhibición del crecimiento sobre la base de la masa fresca y la masa seca radicular y foliar en ausencia de sales (EC) y en presencia de sales (ES), según la fórmula descrita por Marín *et al.* (1999): $I (\%) = 100 (EC - ES/EC)$. Se calculó el Índice del Estrés $IE = 1 - (\text{rendimiento en condición estresante} / \text{rendimiento en condición no estresante})$ según la fórmula descrita por Akhtar *et al.* (2000). Además se realizaron análisis de regresión con ajustes de curvas entre cada indicador medido y los niveles de salinidad, así como la dilución de NaCl (3 M) en que disminuye el indicador en un 50 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los resultados de la inhibición del crecimiento (Tabla 2) en todos los cultivares

se aprecia un mayor porcentaje de inhibición en la masa fresca y seca del sistema radicular, con respecto a las estructuras foliares. Al ser el ajo de reproducción vegetativa, el ápice se desarrolla los primeros días con las reservas que posee el diente (Muñoz, 2010). Esto implica que la estructura foliar no sea afectada por las condiciones del tratamiento, en sus primeras etapas, mientras que las raíces se desarrollan en contacto directo con las condiciones del medio siendo afectadas directamente desde su formación.

En la inhibición del crecimiento de las estructuras foliares, 'Clon 6' presenta los valores más bajos (32 % y 44 %) en masa seca y fresca. En el tratamiento 55 mL.L^{-1} los cvs. 'Trocha 1' y 'Vencedor 3' fueron los más afectados con valores de 55 % y 65 % en las masas frescas y secas respectivamente. El cultivar 'Criollo' mantuvo sus valores de inhibición en un nivel intermedio, aunque sus valores medios de crecimiento son menores que el resto de los cultivares en todos los tratamientos.

En el caso de la inhibición del crecimiento del sistema radicular, a partir del tratamiento 35 mL.L^{-1} todos presentan valores superiores al 88 %, excepto 'Vencedor 3' (79 %) en masa fresca y 'Trocha 1' (80 %) en masa seca respectivamente.

Los tratamientos 35 mL.L^{-1} y 45 mL.L^{-1} corresponden a valores de E.C 9,03 dSm y 10,90 dSm, Intervalos cercanos al valor de declive del crecimiento reportado para *Allium sativum* L. (Mariani y Ferrante, 2017). El cultivar 'Criollo' presenta valores superiores, al resto de los cultivares desde el tratamiento de 25 mL.L^{-1} , al ser más sensible a la salinidad acorde a este análisis.

Tabla 2. Comportamiento de la masa fresca y masa seca y los porcentajes de inhibición según los tratamientos aplicados de NaCl (3 M) en los medios de cultivo.

	Masa fresca foliar							
	‘Criollo’		‘Trocha 1’		‘Vencedor’ 3		‘Clon 6’	
	media	%	media	%	media	%	media	%
MS	0,328 A	/	0,688 A	/	0,582 A	/	0,590 A	/
5 mL.L ⁻¹	0,318 A	/	0,577 AB	/	0,520 AB	/	0,541 AB	/
15 mL.L ⁻¹	0,245 AB	/	0,454 BC	34	0,507 AB	/	0,505 AB	/
25 mL.L ⁻¹	0,223 B	32	0,443 BC	36	0,474 AB	/	0,488 AB	/
35 mL.L ⁻¹	0,213 B	35	0,400 C	42	0,399 BC	31	0,453 BC	23
45 mL.L ⁻¹	0,176 B	46	0,390 C	43	0,347 C	40	0,439 BC	26
55 mL.L ⁻¹	0,175 B	47	0,311 C	55	0,313 C	46	0,400 C	32
	Masa fresca sistema radicular							
	‘Criollo’		‘Trocha 1’		‘Vencedor’ 3		‘Clon 6’	
	media	%	media	%	media	%	media	%
MS	0,350 A	/	0,228 A	/	0,191 A	/	0,213 A	/
5 mL.L ⁻¹	0,120 B	66	0,130 B	43	0,149 A	/	0,152 B	29
15 mL.L ⁻¹	0,068 BC	80	0,106 BC	53	0,130 A	/	0,104 BC	51
25 mL.L ⁻¹	0,058 CD	83	0,091 BCD	60	0,051 B	73	0,052 CD	75
35 mL.L ⁻¹	0,020 CD	94	0,024 CDE	89	0,039 B	79	0,017 D	92
45 mL.L ⁻¹	0,009 CD	97	0,009 DE	96	0,007 B	97	0,004 D	98
55 mL.L ⁻¹	0,006 D	98	0,003 E	99	0,003 B	99	0,003 D	99
	Masa seca foliar							
	‘Criollo’		‘Trocha 1’		‘Vencedor’ 3		‘Clon 6’	
	media	%	media	%	media	%	media	%
MS	0,046 A	/	0,096 A	/	0,089 A	/	0,076 A	/
5 mL.L ⁻¹	0,043 AB	/	0,060 AB	/	0,061 AB	/	0,056 AB	/
15 mL.L ⁻¹	0,034 BC	27	0,050 B	48	0,059 AB	/	0,054 AB	/
25 mL.L ⁻¹	0,029 CD	37	0,046 B	52	0,048 B	46	0,051 AB	/
35 mL.L ⁻¹	0,029 CD	38	0,046 B	52	0,043 B	51	0,050 AB	/
45 mL.L ⁻¹	0,024 CD	49	0,041 B	57	0,038 B	57	0,044 B	42
55 mL.L ⁻¹	0,020 D	56	0,040 B	58	0,031 B	65	0,042 B	44
	Masa seca sistema radicular							
	‘Criollo’		‘Trocha 1’		‘Vencedor’ 3		‘Clon 6’	
	media	%	media	%	media	%	media	%
MS	0,047 A	/	0,018 A	/	0,028 A	/	0,026 A	/
5 mL.L ⁻¹	0,010 B	79	0,013 B	27	0,024 A	/	0,020 B	23
15 mL.L ⁻¹	0,009 B	81	0,013 B	29	0,013 B	54	0,010 C	62
25 mL.L ⁻¹	0,007 BC	85	0,004 C	77	0,009 C	70	0,005 D	79
35 mL.L ⁻¹	0,004 BC	91	0,004 C	80	0,003 D	90	0,003 DE	90
45 mL.L ⁻¹	0,001 C	98	0,002 C	92	0,002 D	95	0,002 DE	94
55 mL.L ⁻¹	0,001 C	98	0,001 C	95	0,001 D	97	0,001 E	97

(%: Porcentaje de inhibición del crecimiento, **MS**: medio Murashige y Skoog, (1962) tratamiento control, **media**: Valor medio del indicador, **I**: no se detectan diferencias significativas con respecto al tratamiento control, **letras**: diferencias significativas para análisis de Duncan 0,05).

Según Torres (2018), la respuesta de los cultivares a las condiciones salinidad elevada implica la activación de mecanismos moleculares para evitar el desbalance iónico y la deshidratación. Las plantas, potencia de manera preferencial evitar el daño oxidativo, que su crecimiento vegetativo (Ahmad y Wani, 2014). Esta es la causa de que los cultivares más susceptibles tengan menor desarrollo en sus estructuras y órganos.

La comparación mediante el Índice de Estrés en el tratamiento 35 mL.L⁻¹ (Figura 1) muestra que en el caso del desarrollo de los indicadores foliares 'Clon 6' es el menos afectado. En los indicadores de longitud mayor del sistema radicular (LSR) y masa seca del sistema radicular (PSR) 'Trocha 1' y para el indicador masa fresca del sistema radicular 'Vencedor 3'.

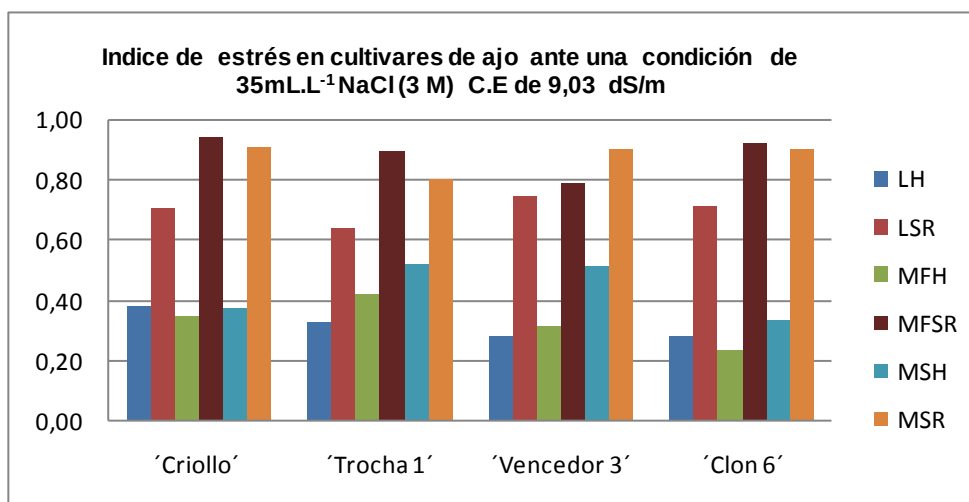


Figura 1. Índice de Estrés (IE) de los cultivares de ajo en respuesta un tratamiento de 35mL.L⁻¹ de NaCl en el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) (C.E: 9,03 dS/m) **LH**: Longitud mayor de las hojas, **LSR**: Longitud del sistema radicular, **MFH**: Masa fresca de la parte foliar, **MFSR**: Masa fresca del sistema radicular, **MSH**: Masa seca foliar, **MSR**: Masa seca del sistema radicular

En la Tabla 3 se observan las ecuaciones de regresión para cada variable estudiada, así como la concentración de NaCl a la cual disminuye el indicador al 50 %.

Tabla 3. Dilución de NaCl (3 M) en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) en que disminuyen los indicadores evaluados en un 50 %.

indicadores	ajuste a ecuación lineal	Cultivares de ajo			
		‘Criollo’	‘Trocha 1’	‘Vencedor 3’	‘Clon 6’
Longitud mayor de las hojas	ecuación	$y = 143,355 - 1,572x$	$y = 144,152 - 1,174x$	$y = 142,718 - 1,041x$	$y = 153,219 - 1,175x$
	R ²	99,55	98,00	96,62	95,27
	E.E	2,36	3,76	4,36	5,10
	punto medio	44,81	61,34	68,57	65,25
Longitud del sistema radicular	ecuación	$y = 47,619 - 0,793x$	$y = 66,993 - 1,221x$	$y = 81,838 - 1,558x$	$y = 69,428 - 1,304x$
	R ²	95,60	98,34	96,52	96,86
	E.E	3,1	3,56	6,64	5,28
	punto medio	30,13	27,43	26,27	26,61
Masa fresca de la parte foliar	ecuación	$y = 0,328 - 0,003x$	$y = 0,589 - 0,005x$	$y = 0,571 - 0,005x$	$y = 0,568 - 0,003x$
	R ²	97,56	96,29	97,35	95,91
	E.E	0,01	0,02	0,02	0,02
	punto medio	48,09	59,03	60,16	89,16
Masa fresca del sistema radicular	ecuación	$y = 0,132 - 0,003x$	$y = 0,149 - 0,003x$	$y = 0,179 - 0,004x$	$y = 0,193 - 0,005x$
	R ²	97,69	97,97	95,41	96,48
	E.E	0,01	0,01	0,02	0,02
	punto medio	19	22,88	22,08	18,04
Masa seca foliar	ecuación	$y = 0,044 - 0,004x$	$y = 0,054 - 0,002x$	$y = 0,065 - 0,006x$	$y = 0,072 - 0,006x$
	R ²	96,87	89,45	97,92	91,63
	E.E	0,002	0,001	0,002	0,005
	punto medio	55	99,72	52,18	58,52
Masa seca del sistema radicular	ecuación	$y = 0,011 - 0,002x$	$y = 0,013 - 0,001x$	$y = 0,026 - 0,006x$	$y = 0,022 - 0,004x$
	R ²	95,76	88,61	95,61	88,85
	E.E	0,001	0,002	0,002	0,004
	punto medio	28,75	32,50	19,10	25,98

Los valores de punto medio del indicador de masa foliar superan el rango del tratamiento en 'Trocha 1', 'Vencedor 3' y 'Clon 6' debido al ajuste matemático a la recta lineal.

Los cultivares 'Trocha 1' y 'Vencedor 3' presentaron los mayores valores del punto medio (22,08 y 22,88), en el indicador más afectado por los tratamientos (masa fresca del sistema radicular). Aunque 'Vencedor 3' presenta al menor valor (19) para el indicador masa seca del sistema radicular.

Badram (2015) refiere que las diferencias en los comportamiento entre cultivares es debido a su polimorfismo genético y similitud o no entre las líneas de cultivares. La variabilidad genética entre los cultivares de ajo pude ser detectada incluso entre cultivares de una misma región (Hoogerheide *et al.*, 2017), lo cual soporta que los dos cultivares comerciales, mejorados en las mismas condiciones ambientales y de selección, tenga expresión y comportamientos cercanos en la mayoría de los indicadores, diferenciándose del resto.

CONCLUSIONES

Los cultivares que mostraron un mejor comportamiento ante las condiciones de estrés salinos fueron Trocha 1' y 'Vencedor 3', aunque los cultivares restantes presentaron valores muy cercanos a estos. Todos los cultivares se encuentran en un rango de tolerancia para suelos modernamente salinos, por debajo de los 7,5 dSm, lo cual indica que será necesario incluir nuevos cultivares y la aplicación de técnicas biotecnológicas en futuros programas de mejora genética.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad P. y Wani M.R. (eds.) (2014). Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment. Volume 2. Springer Science Business Media New York. 385p. DOI 10.1007/978-1-4614-8600-8.
- Akhtar, K.; Ashraf, M. y Rao, A. (2000). Evaluation of selection indices for identification of productive mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotypes under different water regimes. Pakistan Journal of Biological Sciences, 3 (10): 1541-1544. DOI [10.3923/pjbs.2000.1541.1544](https://doi.org/10.3923/pjbs.2000.1541.1544)
- Badran, A.E. (2015). Comparative analysis of some garlic varieties under drought stress conditions. Journal of Agricultural Science, 7(10):271-280. ISSN: 1916-9752.
- Durán, J.L. y Acosta, R. (2018). Suelos degradación, recuperación y manejo en el trópico. Editorial Científico Técnica. La Habana, Cuba: 136p, ISBN: 978-959-05-1028-1.
- Hoogerheide, E.S.; Azevedo, J.A.; Vencovsky, R.; Zucchi, M.I.; Zago, B.W. y Pinheiro, J.B. (2017). Genetic variability of garlic accessions as revealed by agro-morphological traits evaluated under different environments Genet. Mol. Res. 16(2) DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029612>.
- INIFAT (2014). Catálogo de Variedades. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt". La Habana, Cuba. 326 p. ISBN: 978-959-7223-06-1.
- Khademi, R.; Bolandnazar, S.; Zaare, F. y Oustan, S. (2018). Effect of selenium application on phenylalanine ammonia-

- lyase (PAL) activity, phenol leakage and total phenolic content in garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. Information Processing In Agriculture, 5: 339–344.
<https://doi.org/10.1016/j.inpa.2018.04.004>.
- Marín, E. (1991). Inhibición del crecimiento de las plántulas de arroz durante la germinación en condiciones salinas. Rev. Centro Agrícola, 18 (3): 3-9. ISSN 0253- 5785.
- Mariani, L. y Ferrante, A. (2017). Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses—drought, salinity, hypoxia, and lodging. Horticulturae, 52 (3): 1-18. DOI:10.3390.
- Muñoz, L. (2010). El cultivo y mejoramiento de la producción de ajo en Cuba. Agricultura Orgánica, 1: 18-21. ISSN 1028- 2130.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15: 473- 497. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/j.1399-3054.19>
- Torres, W. (2018). Aspectos de la biología de las plantas ante condiciones de estrés abiótico. En: Cornide, M.T. (coord.). Genética, genómica y fitomejoramiento. Tomo I. Editorial UH. La Habana: 211-263. ISBN: 978-959-7211-90-7.

Fecha de aceptación: 3 julio 2019

Fecha de recepción: 6 noviembre 2019

Agrotecnia de Cuba
ISSN impresa: 0568-3114
ISSN digital: 2414- 4673
<http://www.ausuc.co.cu>

