

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES

- El medio de cultivo MS con un 75% de su concentración de macronutrientes permitió el mejor desarrollo de los explantes introducidos de campo al sistema de cultivo *in vitro*, pues evitó en gran medida la generación de polifenoles por parte de la planta como mecanismo de autodefensa.
- Los fungicidas ideales para utilizar con la especie estudiada *Solanum betaceum* en un sistema de cultivo *in vitro* fueron los químicos comerciales Phyton y Score 250EC; siendo este último el químico más noble; pues aplicado en un tiempo de inmersión de 15 minutos obtuvo excelentes resultados en sobrevivencia y asimilación de condiciones semi heterótrofas que brinda este sistema de multiplicación masiva para los explantes introducidos.
- El tiempo de inmersión de 10 minutos en hipoclorito de sodio a una concentración de 1,2% son factores ideales para un protocolo de desinfección de la especie, logrando en esta investigación un porcentaje de descontaminación del 78,85%.
- La aplicación de antibióticos en el protocolo de desinfección no obtuvo resultados positivos para disminuir la contaminación, pues estos compuestos comprometen la viabilidad de los explantes introducidos al sistema de cultivo *in vitro* mientras que la contaminación no se ve reducida.
- El desarrollo de semillas de tomate de árbol en el sistema de cultivo *in vitro* permitió evaluar el funcionamiento de las brasinolidas en el sistema, encontrando que estas hormonas actúan directamente sobre el desarrollo radicular en la especie y que influyen de cierta manera en incrementar la germinación de la misma.
- Las brasinolidas representan una nueva clase de productos naturales, reconocidos en la actualidad como fitoreguladores capaces de influir en diferentes procesos fisiológicos en las plantas, como la elongación, división celular y el desarrollo vascular y reproductivo.

- Las brasinolidas son fitoreguladores que se utilizan en concentraciones extremadamente bajas, a diferencia de los otros fitoreguladores; lo cual en el ámbito productivo es de gran beneficio económico, pues reduce costos y genera iguales o mejores resultados de una productividad de un sistema de cultivo *in vitro* como los logrados en esta investigación.
- La influencia de las brasinolidas en condiciones de crecimiento vegetal adversas como extrema temperatura o salinidad generan en la especie resistencia y viabilidad, por lo cual estos fitoreguladores son considerados como las “hormonas del estrés”.
- La mayor generación de brotes a partir de una yema se dio al utilizar los biorreguladores AIA y BAP en concentraciones de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> y 2 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente, obteniendo un promedio de 11,5 brotes por explante desarrollado.
- La interacción hormonal AIA\*Brasinolida en concentraciones de 0,5 mg L<sup>-1</sup> y 1mg L<sup>-1</sup> respectivamente, obtuvo buenos resultados para la generación de brotes indicando que las Brasinolidas actúan sinérgicamente con la familia de las auxinas haciendo un papel de citoquinina para ciertas variables analizadas.
- La supresión de los biorreguladores AIA y BAP y la aplicación de Brasinolidas en concentración de 1 mg L<sup>-1</sup> en los medios de cultivo originó mayor grosor del tallo en las plántulas desarrolladas en el sistema de cultivo *in vitro*.
- La acción sinérgica de los biorreguladores AIA y Brasinolidas en concentraciones de 0,5 mg L<sup>-1</sup> y 4 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, generaron la mayor altura y el mejor desarrollo radicular en las plántulas obtenidas *in vitro*; el aumento de concentración de AIA atenúa este desarrollo, pues la especie *Solanum betaceum* contiene auxina endógena, lo cual genera una saturación hormonal y por ende una inhibición de su acción en el metabolismo de la planta.
- La interacción hormonal BAP\*Brasinolida y la supresión del biorregulador AIA demostró la mejor vigorosidad en el desarrollo de los explantes en el sistema

de cultivo *in vitro*. La sobrevivencia se da por la mayor generación de brotes por parte de BAP y el mayor desarrollo radicular por parte de las Brasinolidas. Esta interacción en concentraciones de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP y  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de Brasinolida también obtuvo la mayor generación de células totipotenciales agrupadas en callo estableciendo un parámetro fundamental para la aplicación de distintos ensayos a futuro.

- Las Brasinolidas fueron un pilar muy importante en la investigación, pues su aplicación generó un desarrollo radicular acelerado, lo cual evitó aplicar en las plántulas obtenidas *in vitro* la fase de enraizamiento y se pasó directamente a la fase aclimatación.
- Los tratamientos que no generaron desarrollo radicular en la etapa de multiplicación no fueron considerados para evaluación en la etapa de aclimatación, la mayoría de estos tratamientos se componían por la fitohormona BAP; biorregulador que promueve la generación de callo y la inhibición de raíces como el resto de citoquininas en el sistema de cultivo *in vitro*.
- La asociación hormonal entre los biorreguladores BAP y Brasinolida en concentraciones de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  y  $4 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente aplicado en la etapa de multiplicación, generaron los mejores resultados en el desarrollo de las plantas en la etapa de aclimatación, pues permitieron que retomen sus propiedades autótrofas, con una vigorosidad y altura que les permitió sobrevivir a condiciones de campo.
- El biorregulador AIA actúa diferente acorde la naturaleza del explante, si éste proviene de semilla desarrollada *in vitro* se inhibe su acción hormonal, pues una planta joven tiene gran cantidad de auxina endógena; pero si proviene de una yema madura introducida al sistema de cultivo *in vitro* obtiene excelentes resultados principalmente en su desarrollo longitudinal.
- La aplicación del biorregulador Brasinolida con una concentración de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  en la etapa de multiplicación obtuvo resultados excelentes en la etapa de aclimatación, pues se obtuvo plantas que generaron un mayor desarrollo radicular y longitudinal, obteniendo plantas que a dos semanas de su aclimatación ya alcanzaron una altura de 200 milímetros, demostrando que

este biorregulador es óptimo para devolver a un explante desarrollado en un sistema de cultivo *in vitro* sus propiedades autótrofas.

- La variable que obtuvo mejores resultados al utilizar la interacción hormonal entre los tres biorreguladores de crecimiento fue el “número de hojas”, motivo por el cual sí en una futura investigación se necesita que las plantas madre aclimatadas generen mayor cantidad de yemas y hojas se puede aplicar los tres biorreguladores a una concentración establecida de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de cada uno; lo cual originaría mayor cantidad de yemas axilares y apicales que podrían ser utilizadas para multiplicación de la planta madre.
- El biorregulador BAP actuando en conjunto con las Brasinolidas potencia el desarrollo radicular de la especie estudiada; actuando de manera independiente genera desdiferenciación celular e interactuando con el biorregulador AIA genera mayor germinación de brotes.
- La introducción de la especie *Solanum betaceum* al sistema de cultivo *in vitro* se estandarizó utilizando yemas apicales y axilares de plantas jóvenes, de preferencia en floración, en donde se aplicó su protocolo estandarizado de desinfección ; luego su multiplicación dio distintos resultados acorde los tratamientos aplicados, siendo la implementación de Brasinolidas un punto crucial para la obtención de plantas desarrolladas en este sistema, pues los resultados se manifestaron al momento de aclimatación, en donde las plantas superaron su estado semi heterótrofo y se forjaron de igual manera que las plantas madre de las cuales partieron.
- Las plantas desarrolladas desde semilla en el sistema de cultivo *in vitro* tuvieron pocas diferencias con respecto a las plantas introducidas de campo; las diferencias se manifestaron principalmente en la etapa de multiplicación, en donde la carga hormonal endógena de los explantes es diferente, pues mientras más joven sea el explante, más circulación hormonal contiene, motivo que llevó a ciertas diferencias en los resultados obtenidos aplicando el mismo tratamiento hormonal, especialmente si se trataba del biorregulador AIA; todos estos cambios se vieron reflejados al momento de la aclimatación, pues se obtuvo tratamientos que no lograron llegar a esta etapa con plantas desarrolladas de semilla *in vitro*; pero sí con plantas desarrolladas de yemas introducidas de campo y viceversa.