

Efecto del campo electromagnético en la callogénesis del cafeto (*Coffea arabica* L.)

Electromagnetic field effect of the in the callugenesis of Coffee (Coffea arabica L.)

Albys E. Ferrer Dubois, Yilan Fung Boix, Elizabet Issac Alemán

Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. GP 4078. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, CP 90400. Cuba. Tel/fax: 53 -22- 643721.

E-mail: albys@cnea.uo.edu.cu

RESUMEN. Diversos autores han obtenido buenos resultados en la utilización de los campos electromagnéticos en el cultivo “*in vitro*” y en particular en la callogénesis. En esta investigación se estudió la influencia de los campos electromagnéticos en la formación de callos en vitroplantas de cafeto (*Coffea arabica* L.) var. Caturra Rojo durante la fase de multiplicación. Se utilizaron varias frecuencias de inducción de campo y diferentes tiempos de exposición. Los resultados fueron procesados estadísticamente por el programa “GwBasic” por un Análisis de Varianza de Clasificación Simple por Rangos (Kruskal–Wallis), además de un Ordenamiento de los Rangos obtenidos para los callos. Se obtuvo la mayor formación de callos para el tratamiento en el que se utilizó 8 Hertz de frecuencia y 24 horas de exposición al campo electromagnético. Con este resultado se evidenció el efecto positivo que ejercen los campos electromagnéticos en la formación de callos.

Palabras clave: Callogénesis, campos electromagnéticos, *Coffea arabica*, micropropagación.

ABSTRACT. Diverse authors have obtained good results in the use of the electromagnetic fields in the cultivation *in vitro* and in particular in the callugenesis. In this investigation the influence of the fields electromagnetic was studied in the formation of callus in coffee vitroplantas (*Coffea arabica* L.) var. Red Caturra during the multiplication phase. Several frequencies of field induction and different times of exhibition were used. The results were processed statistically by the program “GwBasic” for an Analysis of Variance of Simple Classification for Ranges (Kruskal-Wallis), besides a Classification of the Ranges obtained for the callus. The biggest formation of callus was obtained for the treatment in which was used 8 Hertz of frequency and 24 hours of exhibition to the electromagnetic field. With this result the positive effect was evidenced that exercise the electromagnetic fields in the formation of callus.

Key words: Callugenesis, electromagnetic fields, *Coffea arabica*, micropropagation.

INTRODUCCIÓN

Los efectos biológicos del campo magnético han sido ampliamente tratados por muchos investigadores en diversas partes del mundo. Polk y Postow (1990)

Los efectos de campos magnéticos que se han reportado han sido: cambios electroquímicos en la superficie celular, modificaciones en la permeabilidad de la membrana, alteraciones de la respiración celular y del metabolismo de las proteínas, los carbohidratos y los ácidos nucleicos, además de la activación de los sistemas redox, entre otros (Lubin y Jolley, 1983). Se considera que el cafeto es un sistema modelo

in vitro ya que pueden emplearse varias partes de la planta, como semillas, hojas y tallos, para su mejoramiento por la vía del cultivo de tejidos, así como por transformaciones genéticas. Las experiencias que se obtengan con esta planta pueden extrapolarse a otras especies vegetales de características similares. (Sondalh, 1988)

Diversos investigadores han obtenido experiencias positivas en el estudio de la acción de los campos magnéticos en el proceso de callogénesis, en varias especies. (Camacho y Bertot en 1997 en zanahoria (*Daucus carota* L.), Goldsworthy y Mina, 1990 en tabaco (*Nicotiana tabacum*), Terrero *et al.* (1998) en ñame (*Dioscorea alata* L.)

Teniendo en cuenta estas consideraciones se realizó esta investigación con el objetivo de estudiar la acción del campo electromagnético en el proceso de callogénesis durante la multiplicación *in vitro* de café.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), en la Universidad de Oriente de Santiago de Cuba. La fase experimental se ejecutó según la metodología de micropropagación e identificación bioquímica de variedades de café (*Coffea arabica* L.) (Cruz *et al*, 1990)

Se utilizaron semillas de *Coffea arabica* L. var. Caturra Rojo las cuales presentaban 14 semanas de cosechadas, 98 % de germinación y buen estado fitosanitario, suministradas por el Laboratorio Provincial de Semillas del Ministerio de la Agricultura. Se desinfectaron las semillas con formol al 1,6 % durante 30 minutos, se lavaron con solución de yodo al 0,1 %, y se imbibieron con solución de ácido bórico al 0,5 % en zaranda a 120 rpm durante 72 horas.

Los embriones fueron inoculados en tubos de ensayo que contenían 5 mL de medio de cultivo de establecimiento compuesto por: fórmula mineral de macronutrientes, fórmula mineral de micronutrientes, vitaminas, caseína hidrolizada 0,05 %, sacarosa 3 % y agar 0,6 %. El pH se ajustó a 5,8 y se esterilizó en autoclave con los requerimientos para estos medios.

Los embriones fueron mantenidos bajo iluminación fluorescente con un flujo de fotones fotosintéticos de $54 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$, iluminación de 24 horas diarias, temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa entre 60 y 65 %.

Luego de seis semanas de crecidas las vitroplantas, se obtuvieron los ápices meristemáticos. Cada ápice se pasó en tubos de ensayos de 25 por 150 milímetros, que contenían 10 mL de medio de cultivo de multiplicación, al que se le adicionó cisteína, 25 g/L, ácido indolacético (AIA) 0,5 μM , 6

bencilaminopurina (6 BAP) 5 μM y 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) 0,05 μM .

Para los tratamientos se empleó el magnetizador BioNaK-03, un estimulador electromagnético que basa su funcionamiento en una distribución espacial de campos magnéticos. Los tubos de cultivo se colocaron en el interior del magnetizador y se le aplicaron los siguientes datos: (tabla 1)

La inducción se realizó durante cuatro semanas. Se utilizaron 20 plantas por tratamiento, las cuales se incubaron en las condiciones de cultivo antes mencionadas. A la octava semana se evaluó la presencia de callos. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado utilizando tres réplicas para cada tratamiento.

Los resultados experimentales fueron procesados estadísticamente por el programa estadístico "GwBasic" por un Análisis de Varianza de Clasificación Simple por Rangos (Kruskal-Wallis), además de un Ordenamiento de los Rangos obtenidos para los callos, utilizando la escala expresada en la tabla 2.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Tiempo de exposición (HORAS)	Frecuencia de Inducción (HERTZ)
1	0 (control)	0 (control)
2	10	8
3	24	8
4	10	15
5	24	15
6	10	30
7	24	30
8	10	60
9	24	60

Tabla 2. Escala de rangos utilizada para la formación de callos

Escala	Parámetros
1	Ausencia de tumefacción basal
2	Presencia de tumefacción basal
3	Callos entre 1-10 mm de diámetro
4	Callos entre 11-15 mm de diámetro
5	Callos de más de 15 mm de diámetro

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La proliferación de callos ocurrió en la zona basal de los ápices meristemáticos, ya que en este sitio se

produjo el corte de la raíz para comenzar la multiplicación “*in vitro*”.

Se obtuvieron plántulas con callos de aspecto friable y de color verde, pardos y blancos, predominando los de color verde.

Se obtuvieron diferencias significativas para un nivel de significación de un 95 %, el valor de la constante de Kruskal–Wallis fue de 18,9550 con 8 grados de libertad, lo cual demuestra que la formación de callos fue desigual entre los tratamientos (Figura 1).

Los mayores valores, en sentido general, se obtuvieron en los tratamientos expuestos a los campos electromagnéticos con respecto al tratamiento control (T1).

El mayor valor se obtuvo para el tratamiento 3 (8Hertz de frecuencia y 24 horas de exposición); en la Figura 2 se muestran los callos obtenidos con este tratamiento.



Figura 2. Plántula de cafeto con gran formación de callos

Esta auxina añadida al medio de cultivo, conjuntamente con las auxinas endógenas de las plántulas que se encuentran en mayor concentración en los ápices meristemáticos, aumentan la plasticidad de la pared celular, lo que trae como consecuencia su expansión y, a su vez, la elongación de las células vegetales y el mayor crecimiento de los callos.

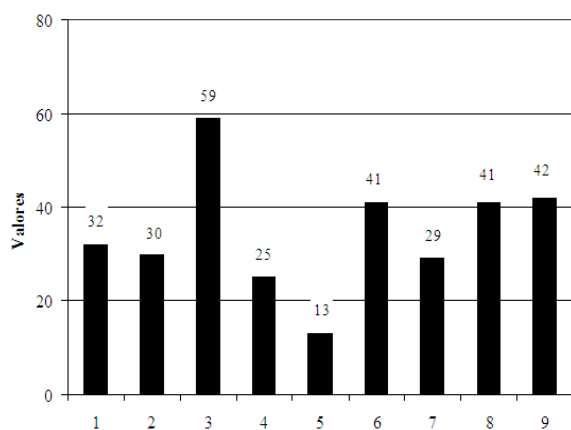


Figura 1: Valores de Rangos para los Callos de Cafeto obtenidos en los diferentes tratamientos

Se ha expuesto que bajo la acción de campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja ocurren cambios en el mecanismo de acción de las auxinas. (Bandurski, 1993)

Estos resultados corroboran lo expuesto por Camacho y Bertot (1997) quienes obtuvieron un mayor crecimiento y desarrollo de callos en *Daucus carota* L. al utilizar tiempos de exposición al campo de 24 horas con una frecuencia de 60Hz.

Se estimó que el campo electromagnético aplicado influyó positivamente en el crecimiento del número de células heterogéneas que conforman un callo, las cuales presentan además gran actividad meristemática que pudo ser activada por la acción de los campos electromagnéticos, los cuales alteran la permeabilidad de las membranas celulares facilitando los mecanismos de transporte de nutrientes y de esta forma contribuyen a una mayor formación y desarrollo de estos callos.

Terrero *et al.* (1998) observaron un efecto positivo en el crecimiento de callos de *Discorea alata* L. para una frecuencia de 60 Hz y tiempo de exposición de una hora. Goldsworthy y Mina. (1990) aplicaron corriente de uno a dos miliamperes a callos de *Nicotiana tabacum* L. con lo que obtuvieron un aumento en el crecimiento de los mismos y se promovió la morfogénesis.

Se considera que pudo haber ocurrido una estimulación en el mecanismo de transporte de las auxinas utilizadas, específicamente el 2,4D, bajo la acción del campo electromagnético.

Se confirmó el efecto estimulante que ejercen los campos electromagnéticos para la formación y el crecimiento de los callos y se demuestra que existe una fuerte dependencia

entre los efectos que tiene su origen desde el nivel celular de las plantas y la frecuencia y tiempo de exposición a los campos electromagnéticos.

Ruzic *et al.* (1992) reportaron que los campos magnéticos están sinérgicamente acoplados con las alteraciones del metabolismo de las plantas y afectan el transporte celular e intercelular de iones.

Varios experimentos indican que es a nivel celular donde actúan los campos magnéticos, aunque se esté a la búsqueda de receptores específicos, los llamados magnetosomas; se piensa que es a nivel de la membrana celular donde pueden actuar los campos magnéticos modificando su distribución iónica. (Rioja, 1997)

El efecto estimulador del campo magnético sobre los sistemas biológicos ha sido atribuido a diferentes mecanismos, tales como el incremento de la actividad enzimática y el aumento de la eficiencia de los procesos relacionados con la división celular. La mayoría de los autores coinciden en afirmar que esto se debe a cambios que se producen en la permeabilidad de las membranas y en la sensibilidad de los mecanismos de transporte a través de la misma. (Osipova, 1990)

Se puede considerar que estos resultados son una muestra de la influencia positiva de los campos electromagnéticos en el aumento de la formación de callos en plántulas de café.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvo la mayor formación de callos para el tratamiento en el que se utilizó 8 Hertz de frecuencia y 24 horas de exposición al campo electromagnético.

BIBLIOGRAFÍA

1. BANDURSKI, R. S.: Auxinas, en *Fisiología y Bioquímica Vegetal* (Azcón-Bieto, J. y M. Talón, eds.). Mc Graw-Hill-Interamericana de España, pp. 285-298, 1993.

2. CAMACHO, ZURINA Y FATIMA BERTOT: "Influencia del campo electromagnético de baja frecuencia en el proceso de embriogénesis somática de *Daucus*

carota". (inédito). Trabajo de Diploma en opción al título de Lic. en Biología, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba, 1997.

3. CRUZ, G. DE LA ET AL.: "Metodología de micropropagación e identificación bioquímica de variedades de café (*Coffea sp.*). IICA Jorge Dimitrov, Bayamo, Cuba, 1990.

4. GEORGE, E.F.: *Plant Propagation by tissue culture*, Part 1 and 2, The technology, 2da edn. Printed in Great Britain, p. 1361, 1996.

5. GOLDSWORTHY, A. Y M.G. MINA: Modelo eléctrico de célula de tabaco en un medio que contiene Ácido 3 Indolacético o Ácido 2,4 Diclorofenoxiacético. Su relación en la organogénesis y su acción herbicida. (en inglés). *Plant Cell Tissue and Organ Cult.* pp. 221-226, 1990.

6. LUBIN, R. A. Y JELLOY: Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cell in vitro: Inhibition of responses to *Parathyroid hormone* by low-energy low-frequency fields, *Proceeding Natural Academic Science*, USA, 1983.

7. OSIPOVA, L. D.: Influencia de los campos magnéticos sobre los tejidos de callos de frutales (en ruso). "Bioll. Cent. Ord. Trad. Krasn Con. *Jornal of Plant. Sco.* 45: 549-555, 1990."

8. POLK, CH. AND E. POSTOW.: Handbook of biological effects of electromagnetic fields. Editora Boca Raton: CRC. Press, Florida, Estados Unidos, 1990.

9. RIOJA, J.: Tratamiento con campos eléctricos pulsantes, en Actas del Congreso Bioelectromagnetismo y Salud pública. Alcalá de Henares, Madrid, España, pp. 295-305, 1997.

10. RUZIC, R. ET AL.: Estimulation of grow *Castanea sativa*. *Electromagnetobiology*. 11:145. En: Recent Advances in Plant Tissue Culture III. (1991-1995) (Herman, E., ed.) *Agritech Consultants, Inc.* Shruk OAK, 1995, 1992.

11. SIGARROA, A.: *Biometría y Diseño Experimental*, Editorial, Pueblo y Educación, Cuba, p. 183, 1985.

12. SMITH, S.D.; B.R. McLEOD AND A.R. LIBOFF: "Effects of CR-tuned 60 Hz magnetic fields on sprouting and early growth of *Raphanus sativus*". *Bioelectrochemical Bioenergy* 32:67-76, 1993.

13. SONDAHL, M. R.: "In vitro methods applied to

Coffee”, en Plant tissue culture, methods and applications in agriculture. (Thorpe, T.A, ed), pp. 325-347, 1981.

14. TERRERO, YAQUELIN; A. BOTTA Y Y. FUNG: “Influencia de la concentración del 2,4D y el ANA en la formación de callos de *Dioscorea alata* L”. Trabajo de Diploma en opción *et al* título de Lic. en Biología, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba, 1998.

Recibido: 26 /Junio/2007

Aceptado: 15/Septiembre/2007