

EFFECTOS BIOESTIMULANTES DEL ALUMINIO EN CRECIMIENTO Y METABOLISMO DE CAÑA DE AZÚCAR *in vitro*

BIOSTIMULATING EFFECTS OF ALUMINUM ON GROWTH AND METABOLISM OF SUGARCANE *in vitro*

Jennifer Martínez-Ballesteros¹, Odón Castañeda-Castro², Juan Valente Hidalgo-Contreras¹ y Fernando C. Gómez-Merino^{1,3*}

¹Colegio de Postgraduados (CP), Campus Córdoba, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. ²Universidad Veracruzana, Orizaba, Veracruz, México. ³CP, Campus Montecillo, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México..

*Autor de correspondencia (fernandg@colpos.mx)

RESUMEN

El aluminio (Al³⁺) es un elemento benéfico que a bajas dosis puede promover crecimiento, desarrollo y metabolismo en plantas. En esta investigación se evaluó el efecto del aluminio (Al³⁺) en indicadores de crecimiento (número de brotes y hojas, tamaño de brotes, largo y ancho de hojas, peso de biomasa fresca y seca) y bioquímicos [concentración de clorofilas (*a*, *b* y total), azúcares, proteínas y aminoácidos] en las variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) Mex 69-290 y CP 72-2086, durante la etapa de multiplicación en condiciones de cultivo *in vitro*. Se probaron cuatro dosis de Al³⁺: 0, 50, 100 y 150 µM al momento de la siembra, y las variables se midieron 30 días después de la siembra. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía y las medias fueron comparadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La aplicación de 100 µM Al³⁺ en la variedad CP 72-2086 aumentó el largo y ancho de hojas, número de hojas y brotes, concentración de clorofilas *a* y *b*, azúcares, proteínas y aminoácidos. El tratamiento con 50 µM Al³⁺ en la variedad Mex 69-290 presentó el mejor efecto bioestimulante al incrementar el número de hojas y brotes, el largo y ancho de hojas, clorofila *a* y azúcares totales. El Al³⁺ tuvo un efecto bioestimulante al mejorar indicadores de crecimiento y bioquímicos de las variedades Mex 69-290 y CP 72-2086 cultivadas *in vitro*.

Palabras clave: *Saccharum*, bioestimulación inorgánica, elementos benéficos, Poaceae, vitroplantas.

SUMMARY

Aluminum (Al³⁺) is a beneficial element that at low doses can promote growth, development and metabolism in plants. This research evaluated the effect of aluminum (Al³⁺) on growth indicators (number of shoots and leaves, shoot size, length and width of leaves, weight of fresh and dry biomass) and biochemical indicators [concentration of chlorophylls (*a*, *b* and total), sugars, proteins and amino acids] in sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties Mex 69-290 and CP 72-2086, during the multiplication stage under *in vitro* culture conditions. Four doses of Al³⁺: 0, 50, 100 and 150 µM were tested at planting, and the variables were measured 30 days later. Data were subjected to one-way analysis of variance and means were compared by the Tukey test ($P \leq 0.05$). The application of 100 µM Al³⁺ in the variety CP 72-2086 increased leaf length and width, number of leaves and shoots, chlorophylls *a* and *b* concentration, sugars, proteins and amino acids. The treatment with 50 µM Al³⁺ in variety Mex 69-290 showed the best biostimulant effect by increasing the number of leaves and shoots, leaf length and width, chlorophyll *a*, and total

sugars. Al³⁺ had a biostimulant effect by improving growth and biochemical indicators of Mex 69-290 and CP 72-2086 varieties grown *in vitro*.

Index words: *Saccharum*, inorganic biostimulation, beneficial elements, Poaceae, vitroplants

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es el cultivo agroalimentario más productivo del mundo; de ésta se obtienen diversos productos agroindustriales como sacarosa, melaza, etanol y energía (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Actualmente, México ocupa el octavo lugar mundial en producción caña de azúcar (FAO, 2023; Statistica, 2023), y su cultivo tiene enorme impacto en la economía y el desarrollo social de las comunidades donde se produce (SADER, 2021); sin embargo, esta cadena de valor enfrenta serios retos tecnológicos, económicos y ambientales.

El cambio climático, el incremento poblacional y la creciente demanda de alimentos aumenta la necesidad de encontrar soluciones que atiendan la producción de alimentos en condiciones de estrés ambiental y presión por recursos naturales (Shao *et al.*, 2015). Alternativas biotecnológicas como la utilización de bioestimulantes pueden favorecer la productividad y calidad de los cultivos (Gómez-Merino *et al.*, 2022). Los bioestimulantes pueden inducir mecanismos de tolerancia, resistencia o defensa contra factores de estrés abiótico. El aluminio (Al³⁺) aplicado en bajas dosis puede detonar efectos benéficos en las plantas, como la mejora en la absorción de nutrientes (nitrógeno, fósforo y potasio), el crecimiento radicular y el incremento de biomasa (Bojórquez-Quintal *et al.*, 2017); además, el Al³⁺ puede promover tolerancia al estrés abiótico en plantas adaptadas a suelos ácidos (Singhal *et al.*, 2022) y puede mejorar el crecimiento de tejidos vegetales en cultivo *in vitro* (Al-Mayahi, 2019).

La micropropagación de caña de azúcar es una tecnología determinante para obtener plántulas libres de patógenos, genéticamente homogéneas y vigorosas (Bello-Bello *et al.*, 2018); sin embargo, la regeneración de plantas a partir de esta tecnología puede ser tardada, lo que eleva los costos de producción en las biofábricas. El aluminio ha mostrado efectos estimulantes en el crecimiento de las plantas, especialmente en las primeras etapas de crecimiento (Bojórquez-Quintal *et al.*, 2017; Moreno Alvarado *et al.*, 2017). En palma datilera (*Phoenix dactylifera* L.), la adición de aluminio al medio de cultivo *in vitro* incrementó el número de vástagos emitidos por los tejidos micropropagados (Al-Mayahi, 2019). Con el objetivo de reducir los tiempos de multiplicación *in vitro* de caña de azúcar y aumentar el crecimiento de los explantes, en esta investigación se evaluaron los efectos de diferentes dosis de aluminio (Al^{3+}) en el crecimiento e indicadores bioquímicos de dos variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y establecimiento *in vitro*

Se utilizaron vitroplantas de caña de azúcar de las variedades Mex 69-290 y CP 72-2086. Estos dos genotipos se encuentran entre los de mejor desempeño en campo, y junto con Mex 79-431, ocupan 70 % de la superficie destinada a este cultivo en México (Lavín-Castañeda *et al.*, 2022). La introducción de ápices se realizó bajo campana de flujo laminar. Previo a la siembra, los explantes fueron lavados con solución de hipoclorito de sodio al 20 % (Cloralex®, Industrias Allen; Ciudad de México, México) con 20 gotas de Tween® 20 durante 20 min. En seguida, los explantes fueron lavados con agua destilada, y finalmente se realizó la siembra en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) en condiciones asépticas.

Tratamientos con aluminio

Se evaluó la respuesta al aluminio ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, EUA) en dosis de 0, 50, 100 y 150 μM Al^{3+} en las variedades Mex 69-290 y CP 72-2086 de caña de azúcar. Cada variedad se consideró un experimento independiente. El Al^{3+} fue agregado al medio de cultivo MS líquido (sin gelificante), suplementado con 30 g sacarosa L^{-1} , 100 mg ácido ascórbico L^{-1} , 150 mg ácido cítrico L^{-1} , 1 mg kinetina L^{-1} , 0.65 mg AIA L^{-1} y 0.3 mg BAP L^{-1} . El pH del medio de cultivo se ajustó a 4.6 con NaOH o HCl (0.1-1.0 N). El medio fue esterilizado a 120 °C por 20 min en una autoclave vertical (Lab-Tech LAC5060s; Namyangju, Corea del Sur). Se introdujeron 12 vitroplantas

de 2 cm de longitud en biorreactores Rita® (Alvard *et al.*, 1993) que contenían 200 mL del medio de cultivo. En cada biorreactor se estableció un periodo de cultivo de 30 días. El tiempo de inmersión fue de 5 min con una frecuencia de 4, 8 y 12 h. El flujo de fotones fue entre 40 y 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con un fotoperiodo de 16 h luz provisto por lámparas fluorescentes de luz blanca (General Electric; Wayne, Pennsylvania, EUA) y 8 h de oscuridad, con una temperatura de 25 ± 2 °C/ 18 ± 2 °C (día/noche).

Medición de variables de crecimiento

Después de 30 días de tratamiento, se contabilizó el número de brotes y hojas. Para la medición del tamaño de brotes, así como del largo y ancho de hojas, las vitroplantas se colocaron sobre hojas de papel milimétrico junto a una escala de 10 mm y se utilizó el programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) (Rueden *et al.*, 2017). El peso de biomasa fresca se determinó pesando una vitroplanta completa en una balanza analítica digital (VELAB, VE-204, 049022; Monterrey, N. L., México). El peso de la biomasa seca se determinó después del secado en una estufa de circulación de aire forzada HCF-125D (Riossa; Monterrey, N. L., México) por 72 h a 72 °C.

Concentración de clorofilas en hojas

La concentración foliar de clorofilas *a*, *b* y total se determinó con el método de Harborne (1973). El tejido foliar fresco se colocó en acetona 80 %, se maceró y se incubó por 24 h a 4 °C; después, los extractos se filtraron y fueron leídos a una absorbancia de 645 y 665 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Benchmark Scientific; Nueva York, NY, EUA).

Concentración de azúcares solubles totales en hojas

La concentración foliar de azúcares solubles totales se determinó con antrona (Brummer y Cui, 2005; basado en Southgate, 1976). Las muestras se colocaron en 40 mL de etanol 80 % (v/v) y se incubaron en baño María (Benchmark Scientific; Nueva York, NY, EUA) a 125 °C hasta que el sobrenadante se evaporó. Al precipitado se le agregaron 20 mL de agua destilada. Se tomó una alícuota de 500 μL y se adicionaron 500 μL de etanol 80 % (v/v). Se agregaron 5 mL de antrona (Meyer; Querétaro, Querétaro, México). Las muestras fueron transferidas a baño María a 95 °C durante 15 min y luego colocadas en hielo. Se usó una curva estándar con glucosa (Sigma-Aldrich; St. Louis, Missouri, EUA). Las muestras se leyeron a 620 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Benchmark Scientific; Nueva York, NY, EUA).

Concentración de proteínas solubles en hojas

La concentración de proteínas totales se determinó por el método de Bradford (1976) modificado por Jones *et al.* (1989). El tejido fue macerado y se agregó 1 mL de NaOH 0.1 N (Merck; Darmstadt, Alemania). La mezcla se homogenizó y se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente; posteriormente, se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. Se tomaron alícuotas de 100 μ L del sobrenadante y se agregó 1 mL de reactivo Bradford Dye (Bio-Rad; Berkeley, California, EUA). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro UV/Vis (Benchmark Scientific) a una longitud de onda de 562 nm.

Concentración de aminoácidos libres totales en hojas

La concentración foliar de aminoácidos libres totales se determinó por el método de ninhidrina [Moore y Stein (1954), modificado por Sun *et al.* (2006)]. Las muestras se colocaron en 500 μ L de etanol 80 % y se incubó en baño María (Benchmark Scientific) a 80 °C durante 20 min. Se tomaron 250 μ L del sobrenadante y se añadieron 250 μ L de solución de citrato de sodio (16 mM)/ácido ascórbico (34 mM), pH 5.2 y 500 μ L de ninhidrina (1 %; p/v) (Sigma Chemical; Querétaro, Querétaro, México) en etanol 70 % (v/v). Se incubó a 95 °C durante 20 min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se construyó una curva estándar con leucina (Sigma-Aldrich; St. Louis, Missouri, EUA). Se cuantificó en el espectrofotómetro UV/Vis Benchmark Scientific a 570 nm.

Diseño experimental y análisis de datos

Se condujeron dos experimentos (uno por cada variedad) y la unidad experimental fue un biorreactor Rita® con 12 plántulas. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones y se distribuyeron en un diseño completamente al azar. La normalidad y homogeneidad de varianzas fueron verificadas con las pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), usando el software R 4.0.1.V (R Core Team, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos del Al³⁺ en el crecimiento de caña de azúcar *in vitro*

De manera general, todas las dosis de Al³⁺ evaluadas promovieron el crecimiento en las variedades de caña de azúcar estudiadas. En Mex 69-290, dosis de 50 y 100 μ M Al³⁺ incrementaron el número de brotes de 3.2 a 9.5, lo que

representó aumentos promedio de 197.9 % con respecto al testigo. El tamaño de brotes también aumentó de 0.55 cm en el testigo a 1.46 cm en los tratamientos con Al³⁺, con un aumento medio de 166.3 % con respecto al testigo (Figuras 1A y 1B).

En la variedad CP 72-2086, con las dosis de 50, 100 y 150 μ M Al³⁺ se obtuvo el mayor número de brotes, 9.4 en promedio (Figura 1C), siendo superior en promedio en 159.4 % a las plántulas del testigo, que tuvieron 3.6 en promedio. Las dosis 50 y 100 μ M Al³⁺ produjeron el mayor tamaño de brotes, 1.36 cm en promedio (Figura 1D), lo que representó un aumento de 180.6 % en comparación con el testigo, que tuvo un promedio de 0.54 cm por brote.

En la variedad Mex 69-290, la dosis de 100 μ M Al³⁺ incrementó el número de hojas a 70, lo que representó un aumento de 130.9 % respecto al testigo, que tuvo 30 hojas en promedio (Figura 2A). Las dosis de 50 y 100 μ M Al³⁺ aumentaron el largo de hojas, de un promedio de 5.24 cm en el testigo, a 8.57 en los tratamientos de 50 y 100 μ M Al³⁺, lo que representó un incremento promedio de 63.3 % (Figura 2B). La dosis de 50 μ M Al³⁺ incrementó el ancho de hojas de 0.25 cm en el testigo, a 0.61 en las tratadas con Al³⁺ (Figura 2C), con un aumento del 162 %, en comparación con el testigo.

En la variedad CP 72-2086, las dosis de 50 y 100 μ M Al³⁺ aumentaron el número de hojas a 37.7, en tanto que el testigo tuvo 27.7 (Figura 2D), con un incremento en promedio en 63.6 %. Las dosis de 50, 100 y 150 μ M Al³⁺ aumentaron el largo de hojas a 9.75 cm, lo que representó un incremento de 73.1 % en promedio con respecto al testigo, que mostró una media de 5.64 cm (Figura 2E). La dosis de 50 μ M Al³⁺, incrementó el ancho de hojas a 0.61 cm, de 0.25 cm que presentó el testigo (Figura 2F).

Las dosis de 50, 100 y 150 μ M Al³⁺ incrementaron el peso de biomasa fresca en la variedad Mex 69-290 a 2.75 g en promedio, de 1.67 g en el testigo (Figura 3A); además, las dosis de 50 y 100 μ M Al³⁺ aumentaron el peso de la biomasa seca de 0.74 g en el testigo a 1.17 g en las plántulas tratadas, con un aumento de 57.5 % en comparación con el testigo (Figura 3B).

Las dosis de 50, 100 y 150 μ M Al³⁺ incrementaron en el peso de la biomasa fresca en la variedad CP 72-2086 a 2.86 g en promedio, lo que representó 52.7 % de aumento con respecto al testigo, el cual tuvo un peso promedio de 1.87 g en materia fresca (Figura 3C). En esta variedad, la aplicación de 50 y 100 μ M Al³⁺ causó un efecto negativo al disminuir el peso de biomasa seca en 55.4 % en promedio con respecto al testigo (Figura 3D).

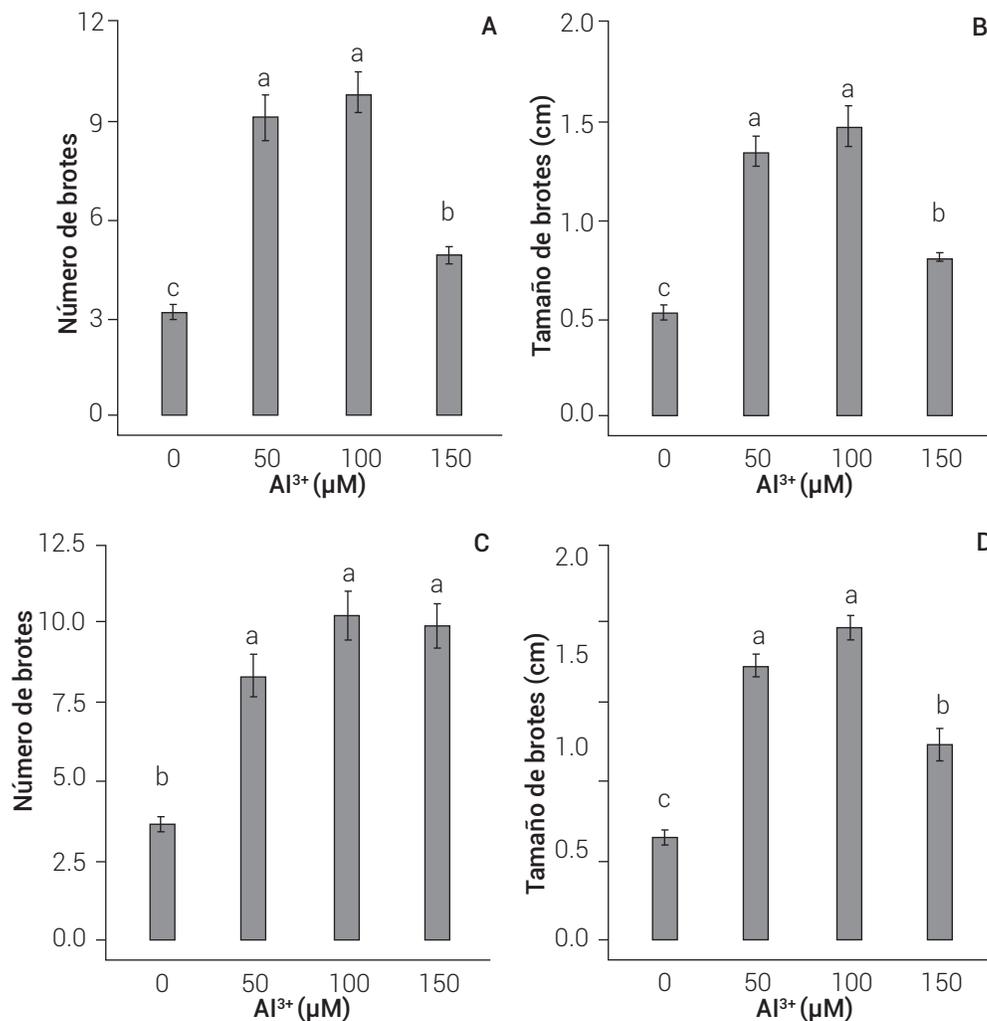


Figura 1. Efecto del aluminio (Al^{3+}) en el número y tamaño de brotes en plantas de caña de azúcar de las variedades Mex 69-290 (A y B) y CP 72-2086 (C y D) después de 30 días de tratamiento. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variedad (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los bioestimulantes, como elementos benéficos, inducen respuestas horméticas, un fenómeno dosis-respuesta en el que a bajas dosis se producen efectos positivos o estimuladores, mientras que en dosis altas se inducen efectos negativos o inhibitorios (Jalal *et al.*, 2021). En arroz (*Oryza sativa* L.), la dosis 200 μM Al^{3+} produjo respuestas estimulantes en variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, y en dosis de 400 μM Al^{3+} tuvo efectos inhibitorios del crecimiento (Moreno-Alvarado *et al.*, 2017). En plantas de *Arabidopsis* susceptibles a aluminio, dosis de 0, 5 y 20 μM Al^{3+} no promovieron cambios en crecimiento y expresión génica, en tanto que dosis superiores a 50 μM Al^{3+} ocasionaron cambios en el crecimiento de raíces y en la expresión de genes de resistencia y adaptación al estrés (Le Poder *et al.*, 2022). En tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), dosis de 50 μM Al^{3+}

promueve respuestas favorables, mientras que 100 μM Al^{3+} induce efectos inhibitorios en el crecimiento (Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2007). En caña de azúcar, dosis de 220 μM Al^{3+} causaron efectos inhibitorios en el crecimiento (Rosa-Santos *et al.*, 2020). El Al^{3+} es un ion que, dependiendo de su solubilidad y concentración, puede tener efectos benéficos o ejercer efectos limitativos en indicadores de crecimiento, desarrollo y rendimiento de plantas (Schmitt *et al.*, 2016).

La respuesta de las plantas a la aplicación de Al^{3+} también depende de la capacidad genética de adaptación al catión. En variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas con 50 y 100 μM $AlCl_3$ se observaron diferentes capacidades de adaptación y susceptibilidad a la presencia de este catión (Landa *et al.*, 2010). El mismo fenómeno fue observado en plantas de baya-zafiro

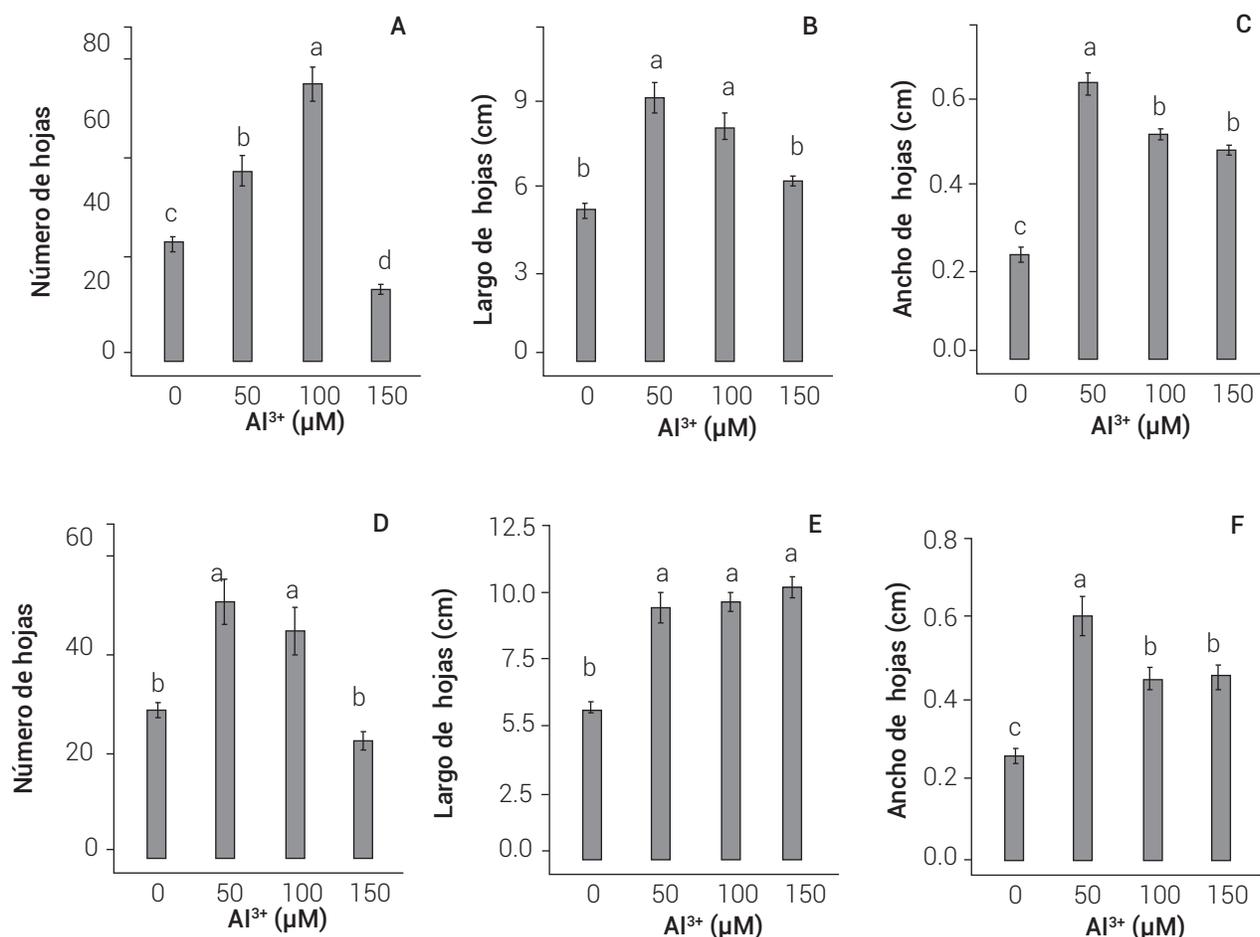


Figura 2. Efecto del aluminio (Al^{3+}) en el número, largo y ancho de hojas en plantas de caña de azúcar de las variedades Mex 69-290 (A, B y C) y CP 72-2086 (D, E y F), después de 30 días de tratamiento. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variedad (Tukey, $P \leq 0.05$).

(*Symplocos paniculata*) tratadas con 1 mM Al^{3+} (Schmitt *et al.*, 2016). En variedades de caña de azúcar también se han reportado diferentes respuestas y capacidad de adaptación a la presencia de Al^{3+} (Oliveira *et al.*, 2021). Si bien la resistencia a Al^{3+} se ha investigado en los principales cultivos, los mecanismos precisos que llevan al desarrollo de tales respuestas a nivel bioquímico y molecular no han sido elucidados en su totalidad. Este vacío científico se debe principalmente a la interferencia del ion Al^{3+} en múltiples sitios en apoplasto, y a la complejidad de los mecanismos de autodefensa de la planta (Ribeiro *et al.*, 2021). A pesar de lo anterior, el análisis del transcriptoma en caña de azúcar ha mostrado que la tolerancia al aluminio puede explicarse por un mecanismo de desintoxicación eficiente combinado con la formación de raíces laterales y la activación de enzimas redox (Rosa-Santos *et al.*, 2020).

Efectos del Al^{3+} en las concentraciones de biomoléculas en caña de *in vitro*

Concentración de clorofilas

En la variedad Mex 69-290, la dosis 50 μM Al^{3+} incrementó la concentración de clorofila *a* de 0.63 mg g^{-1} BF en el testigo a 0.97 mg g^{-1} BF en el tratamiento con Al^{3+} , lo que representó un aumento de 53 %. La dosis 100 μM Al^{3+} aumentó la concentración de clorofila *b* a 0.48 mg g^{-1} BF, lo que representó un incremento de 54 % en comparación con el testigo, que tuvo 0.32 mg g^{-1} BF (Cuadro 1). En la variedad CP 72-2086 la dosis de 100 μM Al^{3+} incrementó la concentración de clorofilas *a* y *b* a 1.14 y 0.83 mg g^{-1} BF, equivalente a 86 y 137 % de aumento, respectivamente, en comparación con el testigo, el cual mostró 0.61 y 0.35 mg g^{-1} BF para las clorofilas *a* y *b*, respectivamente (Cuadro 2).

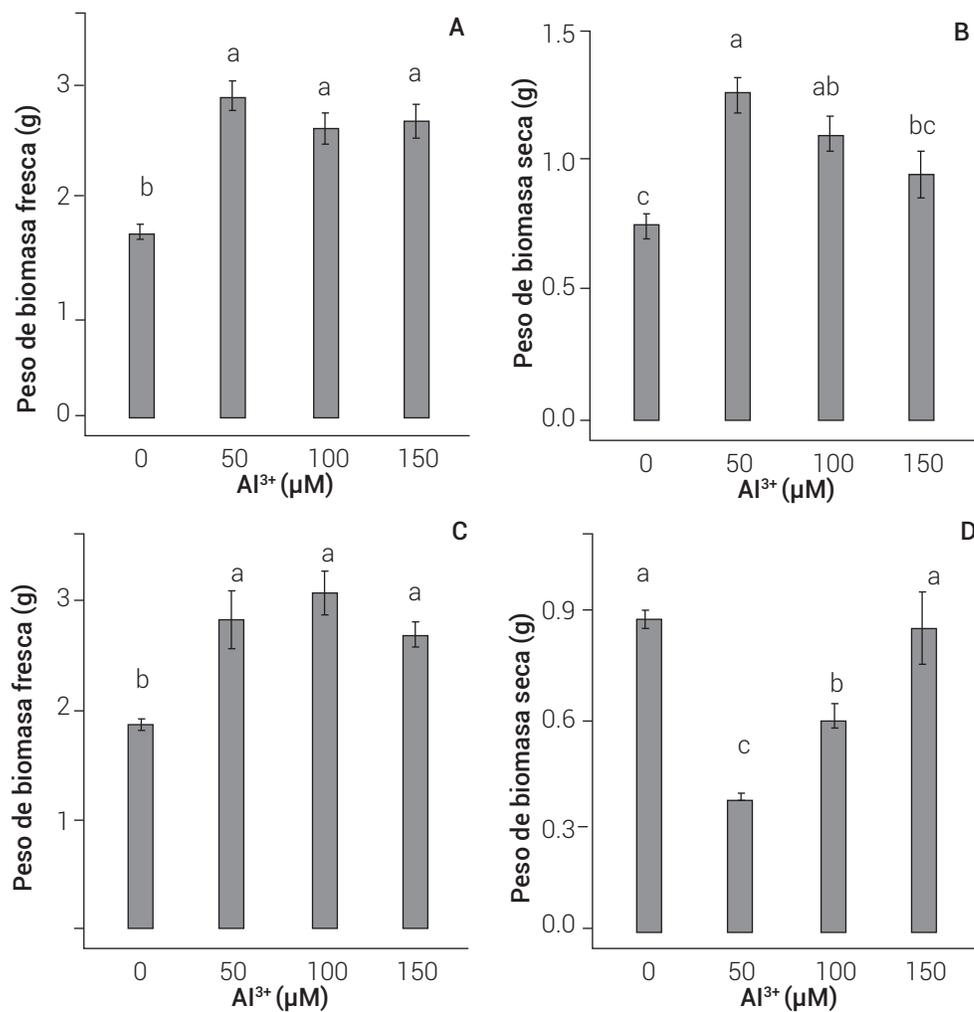


Figura 3. Efecto del aluminio (Al^{3+}) en el peso de la biomasa fresca y seca en plantas de caña de azúcar de las variedades Mex 69-290 (A y B) y CP 72-2086 (C y D) después de 30 días de tratamiento. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variedad (Tukey, $P \leq 0.05$).

Estos resultados ponen en evidencia que el tratamiento con Al^{3+} en concentraciones de 50 y 100 μM influye positivamente en las concentraciones foliares de clorofilas, moléculas determinantes en la fotosíntesis y por ende en el crecimiento y desarrollo de la planta. En condiciones de estrés hídrico y salino, las concentraciones de clorofilas pueden incrementarse en diversas hortalizas (Bulgari *et al.*, 2019); sin embargo, cuando el Al^{3+} se suministra fuera del rango hormético, el aparato fotosintético puede ser irrumpido, lo que causa una disminución en la concentración y alteración en las estructuras de clorofilas y del fotosistema II, cierre de los centros de reacción (RCS) e inhibición del transporte de electrones (Negreanu-Pirjol *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2021). En frijol común, si bien la aplicación de 50 μM Al^{3+} por 72 h no tuvo efectos en las concentraciones de clorofilas, al aumentar la dosis y el tiempo de exposición, se observaron efectos fitotóxicos

(Chico *et al.*, 2021). El incremento de las clorofilas se ha reportado como un mecanismo de resistencia asociado con el incremento de la clorofila *b*, lo cual se ha asociado como una respuesta al estrés. Respuestas horméticas al Al^{3+} pueden causar aumento en fotosíntesis, intercambio gaseoso, apertura de estomas y eficiencia nutricional, procesos que pueden persistir durante el ciclo de desarrollos de las plantas (Agathokleous, 2021).

Concentración de azúcares, proteínas y aminoácidos

En la variedad Mex 69-290, la dosis de 50 μM Al^{3+} aumentó la concentración de azúcares de 0.07 mg g^{-1} BF en el testigo a 0.30 mg g^{-1} BF en las plantas expuestas al tratamiento de Al^{3+} ya referido, lo cual representó un incremento de 328.6 % del valor medio de esta variable en comparación con el testigo. De forma similar, en plantas

Cuadro 1. Efecto del aluminio (Al³⁺) en la concentración foliar de clorofilas a, b y total en plantas de caña de azúcar de la variedad Mex 69-290, después de 30 días de tratamiento.

Variedad	Al ³⁺ (μM)	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
		(mg g ⁻¹ PBF)		
Mex 69-290	0	0.63 ± 0.01 b	0.31 ± 0.01 b	0.94 ± 0.13 bc
	50	0.97 ± 0.01 a	0.44 ± 0.01 a	1.42 ± 0.08 a
	100	0.51 ± 0.01 c	0.48 ± 0.01 a	1.00 ± 0.09 b
	150	0.47 ± 0.01 c	0.42 ± 0.03 a	0.89 ± 0.03 c

Medias ± error estándar con letras diferentes en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). PBF: peso de la biomasa fresca.

Cuadro 2. Efecto del aluminio (Al³⁺) en la concentración foliar de clorofilas a, b y total en plantas de caña de azúcar de la variedad CP 72-2086, después de 30 días.

Variedad	Al ³⁺ (μM)	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
		(mg g ⁻¹ PBF)		
CP 72-2086	0	0.61 ± 0.01 c	0.35 ± 0.01 c	0.97 ± 0.02 c
	50	0.97 ± 0.39 b	0.55 ± 0.43 b	1.50 ± 0.06 b
	100	1.14 ± 0.06 a	0.83 ± 0.48 a	1.98 ± 0.10 a
	150	0.95 ± 0.02 b	0.41 ± 0.01 c	1.37 ± 0.02 b

Medias ± error estándar con letras diferentes en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). PBF: peso de la biomasa fresca.

tratadas con 50 μM Al³⁺, la concentración foliar de proteínas aumentó de 314.11 μg g⁻¹ BF en el testigo a 406.61 μg g⁻¹ BF en el tratamiento citado, lo cual fue superior en 29.4 % al comparar con el testigo. La dosis 100 μM Al³⁺ aumentó de manera significativa la concentración de aminoácidos libres totales en comparación con el testigo (Cuadro 3).

En la variedad CP 72-2086, la dosis 100 μM Al³⁺ incrementó la concentración de azúcares en 166.7 % con respecto al testigo. La dosis de 100 μM Al³⁺ promovió un incremento de proteínas del 39.2 % con respecto al testigo (Cuadro 4).

La disminución de los procesos fotosintéticos está directamente relacionada con la disminución de la concentración de azúcares. En lentijilla (*Azolla microphylla*), la exposición a una concentración de 100 μM Al³⁺ indujo un aumento en los azúcares solubles, pero en concentraciones de 500 μM Al³⁺ provocó una deficiencia fotosintética del 50 % e inhibición en la síntesis de azúcares como la sacarosa (Chakraborty *et al.*, 2019). En los resultados obtenidos en este estudio se observa que el Al³⁺ estimula la concentración de clorofilas y azúcares solubles totales en ambas variedades de caña de azúcar evaluadas.

La acumulación de azúcares solubles se asocia como una respuesta al estrés, que depende del tipo y concentración del factor estresante. En cultivares de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), la exposición a 200 μM Al³⁺ aumentó la concentración de azúcares solubles (Cárcamo *et al.*, 2019). Aparte de su función en procesos metabólicos y en la estructura celular, los azúcares también actúan como moléculas señaladoras que regulan diferentes procesos asociados con el crecimiento y desarrollo de las plantas (Van den Ende, 2014). En frijol, la aplicación de Al³⁺ en concentración de 50 μM causó un aumento de 35 % en el contenido de proteínas con respecto al testigo (Chico *et al.*, 2021). A altas concentraciones, el Al³⁺ se asocia con un declive en los procesos de síntesis de proteínas, ya que inhibe rutas metabólicas, además de retardar los procesos de crecimiento, absorción de nutrimentos y desarrollo morfológico (Niedziela *et al.*, 2022).

En células vegetales, la exposición a Al³⁺ detona la activación de proteínas útiles en la adaptación a las condiciones de estrés ocasionadas por el mismo aluminio, lo que a su vez provoca una mayor síntesis de proteínas relacionadas con señalización de auxinas, detoxificación y de protección contra especies reactivas de oxígeno (ROS) (Rosa-Santos *et al.*, 2020). El incremento de ROS promueve la maleabilidad de la pared celular que permite

la entrada de agua al interior, provocando una expansión celular (Jalal *et al.*, 2021), lo que a su vez permite un mayor crecimiento de la planta.

Los resultados del presente estudio muestran que la aplicación de la dosis baja de Al^{3+} produjo niveles más altos de aminoácidos, y que, al elevar la dosis de este elemento benéfico en el medio de cultivo esta variable tiende a disminuir; sin embargo, las concentraciones en hojas de plantas tratadas con Al^{3+} son mayores a las encontradas en hojas de plantas del tratamiento testigo. El incremento en la concentración de aminoácidos, precursores de las proteínas, correlaciona con la síntesis proteica e indica que no se presentó un proceso de desnaturalización de las proteínas (Hajiboland *et al.*, 2013). El uso de bioestimulantes permite lograr un mejor ajuste osmótico e induce la síntesis de aminoácidos esenciales para las plantas y de otros osmoprotectantes (Bulgari *et al.*, 2019).

En resumen, los efectos benéficos del aluminio en plantas pueden verse reflejados en la promoción del crecimiento, la estimulación de la absorción de nutrimentos esenciales y la reducción de los efectos negativos de factores de

estrés abiótico, así como la estimulación del metabolismo (Bojórquez-Quintal *et al.*, 2017). Estas respuestas pueden estar sustentadas por las interacciones sinérgicas del Al^{3+} con fitohormonas reguladoras del crecimiento vegetal y con genes relacionados con la proliferación celular y la síntesis de ADN (Escobar-Sepúlveda *et al.*, 2017; Moreno-Alvarado *et al.*, 2017), además de promover eficiencia en la absorción, transporte y utilización de nutrimentos y el metabolismo (Bojórquez-Quintal *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

En las condiciones experimentales aquí descritas, el Al^{3+} ejerció efecto bioestimulante en las dos variedades de caña de azúcar evaluadas (Mex 69-290 y CP 72-2086), siendo superior en CP 72-2086 en las variables concentración de clorofilas, número y tamaño de brotes. Con el uso del aluminio en el medio de crecimiento *in vitro* es posible obtener plantas más sanas y vigorosas en menor tiempo, lo que permite recomendar su empleo como potente bioestimulante inorgánico para la micropropagación de caña de azúcar.

Cuadro 3. Efecto del aluminio (Al^{3+}) en la concentración foliar de azúcares, proteínas y aminoácidos en plantas de caña de azúcar de la variedad Mex 69-290 después de 30 días de tratamiento.

Variedad	Al^{3+} (μM)	Azúcares ($mg\ g^{-1}$ PBF)	Proteínas ($\mu g\ g^{-1}$ PBF)	Aminoácidos ($nM\ g^{-1}$ PBF)
Mex 69-290	0	0.07 \pm 0.00 d	314.11 \pm 9.36 b	0.05 \pm 0.00 d
	50	0.30 \pm 0.02 a	406.61 \pm 0.43 a	0.24 \pm 0.03 b
	100	0.19 \pm 0.00 b	244.35 \pm 4.13 c	0.39 \pm 0.02 a
	150	0.16 \pm 0.00 c	307.39 \pm 11.78 b	0.16 \pm 0.01 c

Medias \pm error estándar con letras diferentes en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). PBF: peso de la biomasa fresca.

Cuadro 4. Efecto del aluminio (Al^{3+}) en la concentración de azúcares, proteínas y aminoácidos en plantas de la variedad CP 72-2086 de caña de azúcar después de 30 días de tratamiento.

Variedad	Al^{3+} (μM)	Azúcares ($mg\ g^{-1}$ PBF)	Proteínas ($\mu g\ g^{-1}$ PBF)	Aminoácidos ($nM\ g^{-1}$ PBF)
Mex 69-290	0	0.09 \pm 0.00 d	323.90 \pm 15.80 c	0.05 \pm 0.00 d
	50	0.15 \pm 0.00 b	410.70 \pm 6.57 b	0.24 \pm 0.03 b
	100	0.24 \pm 0.00 a	450.95 \pm 4.63 a	0.39 \pm 0.02 a
	150	0.16 \pm 0.00c	139.95 \pm 29.14d	0.16 \pm 0.01c

Medias \pm error estándar con letras diferentes en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). PBF: peso de la biomasa fresca.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a JMB, y al Colegio de Postgraduados por las facilidades brindadas para realizar este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- Agathokleous E. (2021) The rise and fall of photosynthesis: hormetic dose response in plants. *Journal of Forestry Research* 32:889-898, <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01252-1>
- Al-Mayahi A. M. W. (2019) Effect of aluminum on the growth of the *in vitro* culture tissues of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Um-Aldehin. *Folia Oecologica* 46:164-169, <https://doi.org/10.2478/foecol-2019-0019>
- Alvard D., F. Cote and C. Teisson (1993) Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 32:55-60, <https://doi.org/10.1007/BF00040116>
- Bello-Bello J. J., M. Mendoza-Mexicano and J. A. Pérez-Sato (2018) *In vitro* propagation of sugarcane for certified seed production. In: Sugarcane Technology and Research. A. De Oliveira (ed.). InTech Open. London, UK, pp.101-112, <https://doi.org/10.5772/intechopen.74037>
- Bojórquez-Quintal E., C. Escalante-Magaña, I. Echevarría-Machado and M. Martínez-Estévez (2017) Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Frontiers in Plant Science* 8:1767, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01767>
- Bradford M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brummer Y. and S. W. Cui (2005) Understanding carbohydrate analysis. In: Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties and Applications. S. W. Cui (ed.). Taylor & Francis-CRC Press. Boca Raton, Florida, USA, pp:67-104, <https://doi.org/10.1201/9780203485286.ch2>
- Bulgari R., G. Cocetta, A. Trivellini, P. Vernieri and A. Ferrante (2019) Biostimulants and crop responses: a review. *Biological Agriculture & Horticulture* 31:1-17, <http://doi.org/10.1080/0148765.2014.964649>
- Cárcamo M. P., M. Reyes-Díaz, Z. Rengel, M. Alberdi, R. P. Omena-García, A. Nunes-Nesi and C. Inostroza-Blancheteau (2019) Aluminum stress differentially affects physiological performance and metabolic compounds in cultivars of highbush blueberry. *Scientific Reports* 9:11275, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47569-8>
- Chakraborty S., A. Mishra, E. Verma, B. Tiwari, A. K. Mishra and S. S. Singh (2019) Physiological mechanisms of aluminum (Al) toxicity tolerance in nitrogen-fixing aquatic macrophyte *Azolla microphylla* Kaulf: phytoremediation, metabolic rearrangements, and antioxidative enzyme responses. *Environmental Science and Pollution Research* 26:9041-9054, <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04408-7>
- Chico R. J., L. Cerna R., L. Gonzales L., J. Campos R. y M. Rodríguez L. (2021) Análisis de la toxicidad por aluminio en el crecimiento de dos variedades de "frijol", *Phaseolus vulgaris* L. *Campus* 26:27-39, <https://doi.org/10.24265/campus.2021.v26n31.02>
- Escobar-Sepúlveda H. F., L. I. Trejo-Téllez, S. García-Morales and F. C. Gómez-Merino (2017) Expression patterns and promoter analyses of aluminum-responsive NAC genes suggest a possible growth regulation of rice mediated by aluminum, hormones and NAC transcription factors. *PLoS ONE* 12:e0186084, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186084>
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2023) FAOSTAT-Producción agrícola. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat> (Enero 2023).
- Gómez-Merino F. C., L. I. Trejo-Téllez, J. Salazar-Ortiz, J. A. Pérez-Sato, H. E. Senties-Herrera, J. J. Bello-Bello y N. Aguilar-Rivera (2017) La diversificación de la agroindustria azucarera como estrategia para México. *AgroProductividad* 10:7-12.
- Gómez-Merino F. C., L. F. Gómez-Trejo, R. Ruvalcaba-Ramírez and L. I. Trejo-Téllez (2022) Application of phosphite as a biostimulant in agriculture. In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Sustainable Agriculture: Revisiting Green Chemicals. H. B. Singh and A. Vaishnav (eds.). Elsevier. Amsterdam, The Netherlands, pp:135-153, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85581-5.00002-1>
- Hajiboland R., J. Barceló, C. Poschenrieder and R. Tolrà (2013) Amelioration of iron toxicity: a mechanism for aluminum-induced growth stimulation in tea plants. *Journal of Inorganic Biochemistry* 128:183-187, <http://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.07.007>
- Harborne J. B. (1973) *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman & Hall. London, England. 278 p.
- Jalal A., J. C. de Oliveira Jr., J. S. Ribeiro, G. C. Fernandes, G. G. Mariano, V. D. R. Trindade and A. R. dos Reis (2021) Hormesis in plants: physiological and biochemical responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 207:111225, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111225>
- Jones C. G., J. D. Hare and S. J. Compton (1989) Measuring plant protein with the Bradford assay. 1. Evaluation and standard method. *Journal of Chemical Ecology* 15:979-992, <https://doi.org/10.1007/BF01015193>
- Landa C. R., L. I. Trejo T., F. C. Gómez M., B. Villar S. y C. García O. (2010) Concentración de cationes en frijol común en respuesta a aluminio. *Terra Latinoamericana* 28:119-127.
- Lavín-Castañeda J., L. I. Trejo-Téllez, J. V. Hidalgo-Contreras y F. C. Gómez Merino (2022) Nuevas variedades de caña de azúcar en prueba semicomercial en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. *Revista ATAM* 35:9-12.
- Le Poder L., C. Mercier, N. Duong, P. David, S. Pluchon, L. Nussaume and T. Desnos (2022) Uncoupling Al toxicity from Al signals in the STOP1 pathway. *Frontiers in Plant Science* 13:785791, <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.785791>
- Moore S. and W. H. Stein (1954) A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *Journal of Biological Chemistry* 211:907-913, [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71178-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71178-2)
- Moreno-Alvarado M., S. García-Morales, L. I. Trejo-Téllez, J. V. Hidalgo-Contreras and F. C. Gómez-Merino (2017) Aluminum enhances growth and sugar concentration, alters macronutrient status and regulates the expression of NAC transcription factors in rice. *Frontiers in Plant Science* 8:73, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00073>
- Murashige T. and F. Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Negreanu-Pirjol B. S., T. Negreanu-Pirjol, R. Sirbu and D. R. Popoviciu (2019) Bioaccumulation and effects of aluminium on plant growth in three culture plants species. *Revista de Chimie* 70:602-604, <https://doi.org/10.37358/RC.19.2.6964>
- Niedziela A., L. Domzalska, W. M. Dynkowska, M. Pernisová and K. Rybka (2022) Aluminum stress induces irreversible proteomic changes in the roots of the sensitive but not the tolerant genotype of triticale seedlings. *Plants* 11:165, <https://doi.org/10.3390/plants11020165>
- Oliveira M. S., S. V. Rocha, V. K. Schneider, F. Henrique-Silva, M. R. Soares and A. Soares-Costa (2021) Physiological, nutritional, and molecular responses of Brazilian sugarcane cultivars under stress by aluminum. *PeerJ* 9:e11461, <https://doi.org/10.7717/peerj.11461>
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/> (May 2023).
- Ribeiro A. P., F. Vinecky, K. E. Duarte, T. R. Santiago, R. A. C. N. Casari, A. F. Hell, ... and H. B. C. Molinari (2021) Enhanced aluminum tolerance in sugarcane: evaluation of SbMATE overexpression and genome-wide identification of ALMTs in *Saccharum* spp. *BMC Plant Biology* 21:300, <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02975-x>
- Rosa-Santos T. M., R. G. D. Silva, P. Kumar, P. Kottapalli, C. Crasto, K. R. Kottapalli, ... and S. M. Zingaretti (2020) Molecular mechanisms

- underlying sugarcane response to aluminum stress by RNA-Seq. *International Journal of Molecular Sciences* 21:7934, <https://doi.org/10.3390/ijms21217934>
- Rueden C. T., J. Schindelin, M. C. Hiner, B. E. DeZonia, A. E. Walter, E. T. Arena and K. W. Eliceiri (2017) ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics* 18:529, <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) Programa Nacional de la Agroindustria de la Caña de Azúcar 2021-2024. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. Ciudad de México. 83 p.
- Schmitt M., T. Watanabe and S. Jansen (2016) The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB Plants* 8:plw065, <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw065>
- Shao J. F., J. Che, R. F. Chen, J. F. Ma and R. F. Shen (2015) Effect of *in planta* phosphorus on aluminum-induced inhibition of root elongation in wheat. *Plant and Soil* 395:307-315, <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2566-6>
- Singhal R. K., S. Fahad, P. Kumar, P. Choyal, T. Javed, D. Jinger, ... and T. Nawaz (2022) Beneficial elements: new players in improving nutrient use efficiency and abiotic stress tolerance. *Plant Growth Regulation* 2022:1-29, <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00843-8>
- Southgate D. A. T. (1976) Determination of Food Carbohydrates. Applied Science Publishers, Ltd. London, UK. 105 p.
- Statista (2023) Sugar production worldwide in 2021/2022, by leading country (in million metric tons). Statista Inc. New York, USA. <https://www.statista.com/statistics/495973/sugar-production-worldwide/> (March 2023).
- Sun S. W., Y. C. Lin, Y. M. Weng and M. J. Chen (2006) Efficiency improvements on ninhydrin method for amino acid quantification. *Journal of Food Composition and Analysis* 19:112-117, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.04.006>
- Trejo-Téllez L. I. y F. C. Gómez-Merino (2007) Respuestas fisiológicas y bioquímicas de plantas de tabaco a concentraciones de aluminio en invernadero. *Terra Latinoamericana* 25:251-259.
- Van den Ende W. (2014) Sugars take a central position in plant growth, development and, stress responses. A focus on apical dominance. *Frontiers in Plant Science* 5:313, <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00313>