

USO DE FOSFITO PARA LA BIOESTIMULACIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum* spp. Híbrido) *in vitro*

USE OF PHOSPHITE FOR THE BIOSTIMULATION OF SUGARCANE (*Saccharum* spp. Hybrid) *in vitro*

Jennifer Martínez-Ballesteros¹, Juan V. Hidalgo-Contreras¹, Miriam C. Pastelín-Solano², Tania Marín-Garza², Javier E. Bulbarela-Marini², Guadalupe Vivar-Vera² y Odon Castañeda-Castro^{2*}

¹Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. ²Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba, Veracruz, México.

*Autor de correspondencia: (odcastaneda@uv.mx)

RESUMEN

El fosfito (Phi) es un bioestimulante que está recibiendo un interés creciente en la horticultura debido a que su aplicación en cultivos ha mejorado el rendimiento, calidad y la tolerancia a diversos tipos de estrés. Se evaluaron cuatro dosis crecientes de fosfito (0, 0.1, 0.3 y 0.5 mM) durante 30 días en condiciones *in vitro* en caña de azúcar (*Saccharum* spp.) durante la etapa de multiplicación. Se utilizaron las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 en las que se registraron variables de crecimiento (brotes, hojas y biomasa) y bioquímicas (clorofilas, carbohidratos, aminoácidos y proteínas). Para el análisis de datos se realizó análisis de varianza y se aplicó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) para la separación de las medias. La dosis de 0.3 mM Phi en la variedad CP 72-2086 incrementó la longitud, ancho y número de hojas; también incrementó el número de brotes y la concentración foliar de clorofilas *a* y *b*. El tratamiento con 0.3 mM Phi en la variedad Mex 69-290 aumentó el tamaño de brotes y longitud de hojas. Por lo tanto, el Phi tiene un papel crucial como bioestimulante inorgánico en variedades de caña de azúcar cultivadas *in vitro*, al mejorar las variables de crecimiento y bioquímicas.

Palabras clave: *Saccharum*, ácido fosforoso, bioestimulante, oxianión.

SUMMARY

Phosphite (Phi) is a biostimulant that is receiving increasing interest in horticulture because its application in crops has improved yield, quality and tolerance to various types of stress. Four increasing doses of phosphite (0, 0.1, 0.3 and 0.5 mM) were evaluated for 30 days under *in vitro* conditions in sugarcane (*Saccharum* spp.) during the multiplication stage. Varieties CP 72-2086 and Mex 69-290 were used in which growth (shoots, leaves and biomass) and biochemical (chlorophylls, carbohydrates, amino acids and proteins) traits were measured. For data analysis, analysis of variance was performed and Tukey's test ($P \leq 0.05$) was applied for the separation of means. The dose of 0.3 mM Phi in the variety CP 72-2086 increased the length, width and number of leaves; it also increased the number of shoots and leaf concentration of chlorophyll *a* and *b*. Treatment with 0.3 mM Phi in variety Mex 69-290 increased shoot size and leaf length. Therefore, Phi plays a crucial role as an inorganic biostimulant in *in vitro*-grown sugarcane varieties by improving growth and biochemical variables.

Index words: *Saccharum*, biostimulant, oxyanion, phosphoric acid.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) representa para México una importante actividad económica, debido al valor agregado de sus productos como sacarosa, melaza, etanol y energía. Durante el año 2022 México fue el octavo productor mundial de caña de azúcar. Las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 fueron las más cultivadas (FAO, 2023).

La cadena de valor en la agroindustria azucarera presenta serios retos tecnológicos, económicos y ambientales (SADER, 2022), mismos, que la hacen vulnerable a los cambios abruptos en el clima provocados por el cambio climático, que aumenta el número de fenómenos meteorológicos extremos, los cuales generan condiciones adversas que aparecen lentamente, como el aumento de la temperatura y pérdida de la biodiversidad (Gómez-Merino *et al.*, 2022).

Es de suma importancia que los sistemas agroalimentarios tengan la capacidad y la resiliencia que generen las adaptaciones necesarias para seguir funcionando en presencia de perturbaciones no previstas (Mansoori *et al.*, 2014). El incremento poblacional y la disponibilidad de los alimentos se han convertido en una preocupación mundial, aunado al aumento de la demanda de alimentos y al cambio climático. La biotecnología vegetal, a través de la micropropagación ha demostrado beneficios en la producción de material vegetal, con una identidad genética homogénea y vigorosa, asegurando un mejor crecimiento una vez establecido en el campo (Bello-Bello *et al.*, 2018). En la búsqueda de estimular el metabolismo vegetal y mejorar el vigor fisiológico, los bioestimulantes se han convertido en una alternativa prominente, a causa de su capacidad de potenciar la productividad y la calidad de cultivos hortícolas y agronómicos (Han *et al.*, 2021).

El fosfito (Phi) es un oxianión derivado del ácido fosforoso ($H_3PO_3^-$), que como bioestimulante aplicado en los cultivos promueve la asimilación de nutrimentos y activa procesos de resistencia o tolerancia contra factores de estrés ambiental (Yáñez-Juárez *et al.*, 2018), favorece el crecimiento del sistema radical de las plantas y permiten un mayor crecimiento y rendimiento (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2015; Halpern *et al.*, 2015).

El Phi ha demostrado actuar como bioestimulante en las primeras etapas de crecimiento en caña de azúcar, permite mejorar indicadores de calidad como el jugo y presentar una respuesta positiva contra diversos tipos de estrés abiótico (Raposo Junior *et al.*, 2013). El Phi ha mostrado efectos estimulantes en el crecimiento de tejidos vegetales en cultivo *in vitro* (Al-Mayahi, 2019).

Con el objetivo de mejorar el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas de caña de azúcar, en esta investigación se evaluaron los efectos de diferentes dosis de Phi en variables de crecimiento y bioquímicas en dos variedades de caña de azúcar *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y establecimiento *in vitro*

Se recolectaron puntas de tallos de las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 de caña de azúcar (*Saccharum* spp. Híbrido) en los campos experimentales del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. La introducción de ápices se realizó por el método descrito por Bello-Bello (2018), y finalmente se realizó la siembra en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) en condiciones asépticas para la obtención de plántulas *in vitro*.

Tratamientos

Se evaluó la respuesta de la caña de azúcar cultivada *in vitro* y bioestimulada con Phi a partir de ácido fosforoso al 98 % (Sigma-Aldrich®; St. Louis, Missouri, EUA) en 0.1, 0.3 y 0.5 mM. El Phi fue agregado al medio de cultivo líquido MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con ácido ascórbico 100 mg L⁻¹, ácido cítrico 150 mg L⁻¹, kinetina 1 mg L⁻¹ y sacarosa 30 g L⁻¹, el pH del medio fue ajustado a 5.7 con NaOH o HCl (0.1-1.0 N) y esterilizado a 120 °C por un periodo de 15 min en autoclave vertical (Lab-Tech LAC5060s, Namyangju, Corea del Sur). Se vertieron 200 mL de medio de cultivo en los biorreactores Rita® (Alvard *et al.*, 1993) y se introdujeron 12 vitroplantas con longitud de 2 cm. El tiempo de inmersión de los biorreactores fue de 5 min con una frecuencia de 4, 8 y 12 h. El experimento se mantuvo *in vitro* durante 30 d.

Diseño y unidad experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, donde cada tratamiento tuvo tres repeticiones. Se realizaron dos experimentos independientes con base en la variedad, se tomó como unidad experimental a cada biorreactor con 12 vitroplantas

Medición de variables de crecimiento

Transcurridos 30 días, se evaluó el crecimiento de las vitroplantas, se contabilizó el número de brotes y hojas, largo y ancho de brotes y hojas por medio de un papel milimétrico con escala de 0.1 cm, se fotografió y procesó con el programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) (Rueden *et al.*, 2017). Para determinar el peso de biomasa fresca se utilizó una vitroplanta y se pesó en una balanza analítica digital (VELAB, VE-204, 049022, Monterrey, México). El peso de la biomasa seca se determinó en una estufa de circulación de aire forzado (HCF-125D, Riossa, Monterrey, México) por 72 h a 70 °C.

Medición de variables bioquímicas

Concentración de clorofilas

La cuantificación de clorofila *a*, *b* y total se realizó por la técnica de Harborne (1998) en absorbancia de 645 y 665 nm. Para la obtención del total de clorofila se realizó la suma de clorofila *a* y *b* y las proporciones correspondientes de clorofilas *a/b* en espectrofotómetro UV/Vis (Benchmark Scientific, Nueva York, NY, EUA).

Concentración de azúcares solubles totales

La determinación de azúcares solubles totales se realizó por el método de antrona (Brummer y Cui, 2005; basado en Southgate, 1976) en absorbancia de 620 nm a través de un espectrofotómetro UV/Vis.

Concentración de proteínas solubles

La concentración de proteínas totales se realizó por el método de Bradford (1976) modificado por Jones *et al.* (1989) en longitud de onda de 562 nm por espectrofotometría UV/Vis.

Concentración de aminoácidos libres totales

La concentración de aminoácidos libres totales en tejido foliar se determinó por el método de ninhidrina descrito por Moore y Stein (1954) y modificado por Sun *et al.* (2006). Para medición a través de las técnicas de espectrofotometría se utilizó un espectrofotómetro UV/Vis.

Análisis de datos

Para corroborar los supuestos normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizaron pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene ($P \leq 0.05$). Los datos presentaron distribución normal y homogeneidad de las varianzas; fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de Tukey ($P \leq 0.05$), para el análisis se utilizó el programa estadístico libre de R 4.0.1.V (R Core Team, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del Phi en el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de caña de azúcar

La adición de Phi promovió las variables de crecimiento en las variedades de caña de azúcar estudiadas, donde CP 72-2086 con la adición de 0.3 mM obtuvo el mayor número y longitud de brotes (Figuras 1A y 1B), la misma dosis en Mex 69-290 indujo la mayor longitud de brotes;

sin embargo, la adición de 0.1 mM de Phi salió de esta tendencia al obtener el mayor número de brotes (Figuras 1C y 1D).

La variedad CP 72-2086 con la dosis de 0.3 mM Phi tuvo diferencias estadísticas significativas en comparación con el testigo ya que obtuvo el mayor número, longitud y ancho de las hojas (Figuras 2A, 2B y 2C). La variedad Mex 69-290, con la dosis de 0.1 mM Phi, aumentó el número y longitud de hojas (Figura 2D y 2E). La dosis de 0.3 mM incrementó el ancho de hojas (Figura 2F) en comparación con el testigo.

La dosis de 0.3 mM Phi incrementó la variable peso de biomasa fresca y seca en la variedad CP 72-2086 a 3.48 g y 0.78 g en promedio, lo que representó un aumento con respecto al testigo (Figuras 3A y 3B), la dosis de 0.3 mM Phi en Mex 69-290 presentó el mayor peso de biomasa fresca y la dosis de 0.5 mM Phi obtuvo el mayor peso de biomasa seca con 0.72 g en la variedad Mex 69-290, en

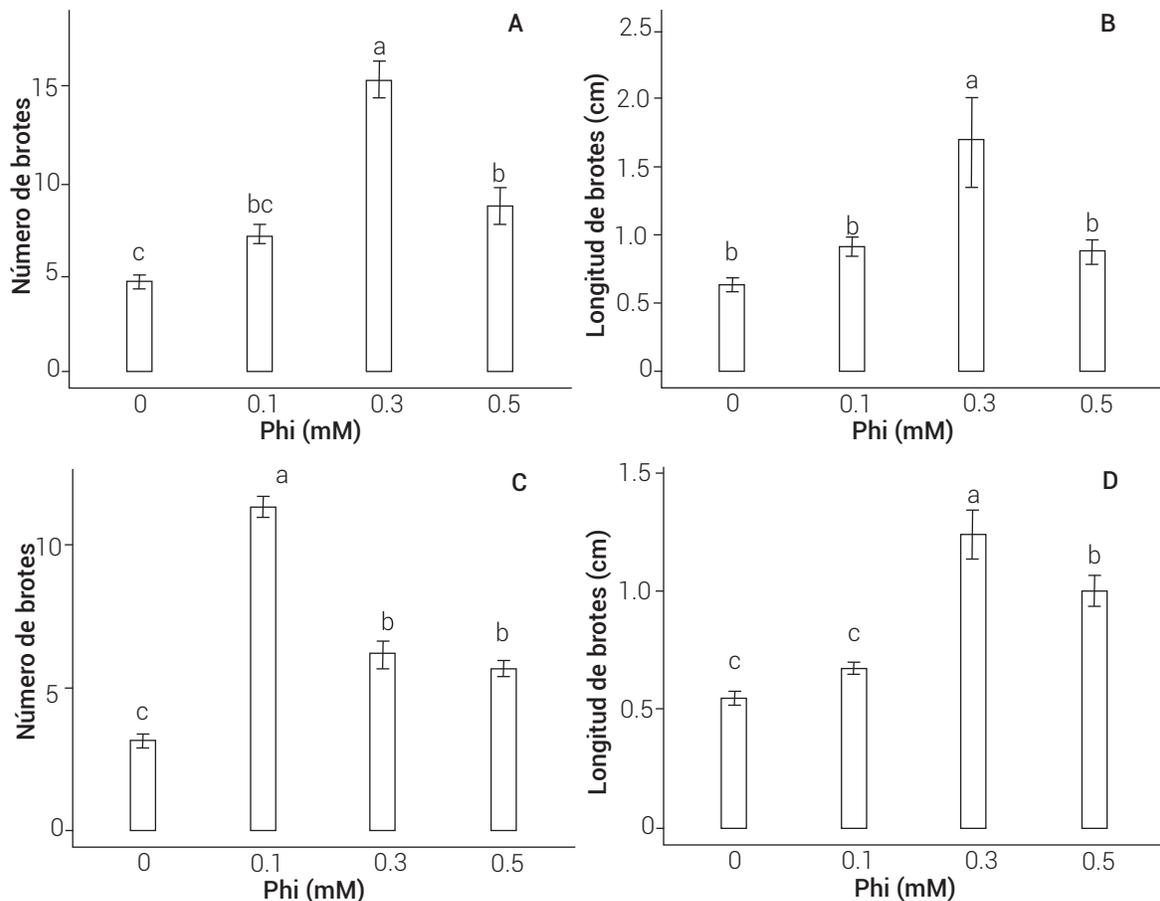


Figura 1. Número y longitud de brotes de vitroplantas de caña de azúcar en las variedades CP 72-2086 (A y B) y Mex 69-290 (C y D) expuestas a diferentes concentraciones de Phi. Medias ± error estándar con letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$).

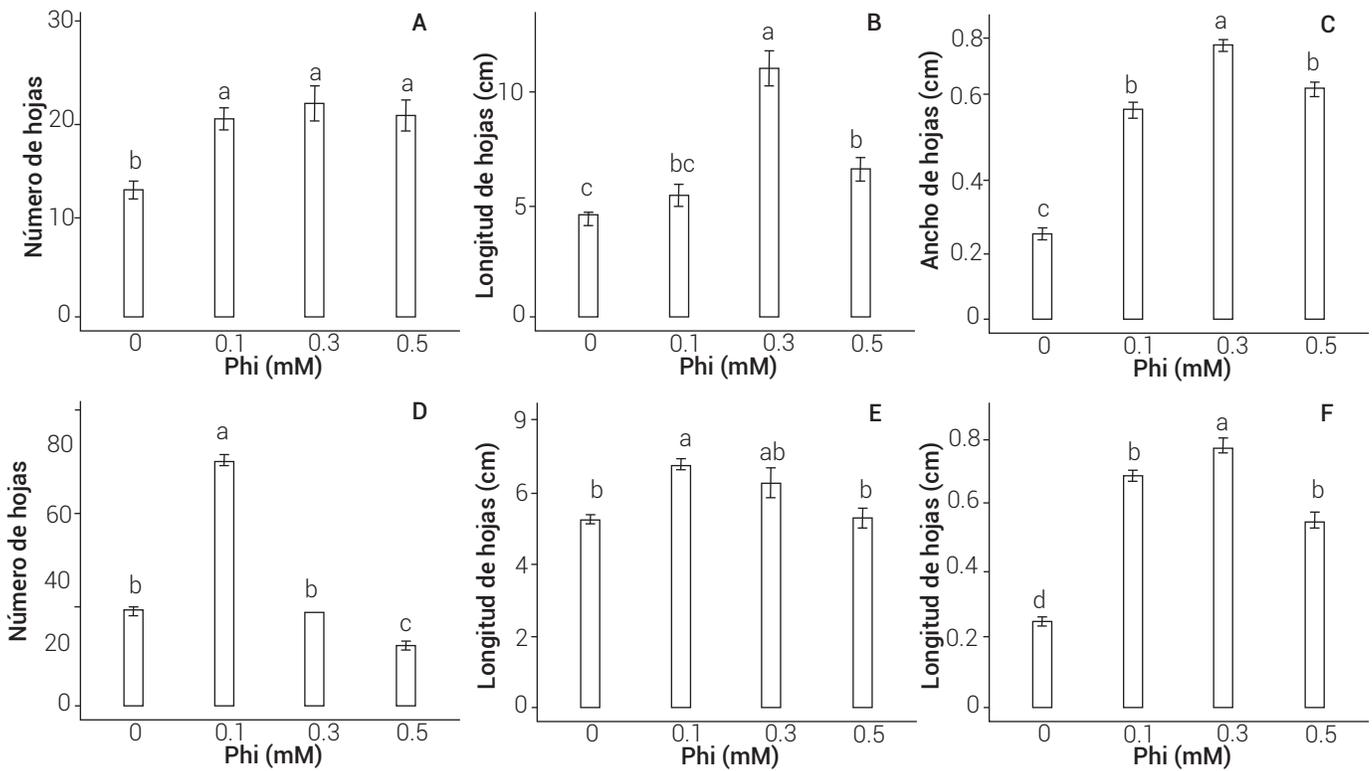


Figura 2. Número, longitud y ancho de hojas en vitroplantas de caña de azúcar de las variedades CP 72-2086 (A, B y C) y Mex 69-290 (D, E y F), expuestas a diferentes concentraciones de Phi. Medias \pm error estándar con letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$).

comparación con el testigo (Figuras 3C y 3D).

Las dosis evaluadas de Phi promovieron significativamente el crecimiento en las variedades de caña de azúcar estudiadas con respecto al testigo. Los bioestimulantes se han convertido en una alternativa debido a que inducen respuestas horméticas; esto es, un fenómeno dosis-respuesta presentándose principalmente por una estimulación a dosis bajas y una inhibición a dosis altas (Jalal *et al.*, 2021).

El incremento en las variables de crecimiento puede estar relacionado con la combinación de fosfato presente en la planta y las dosis de Phi, presentando un efecto sinérgico que conduce a una mayor absorción total de P por las plantas (Ávila *et al.*, 2013).

La utilización de Phi en plantas en las cuales ha promovido una mejora en el crecimiento, desarrollo y tamaño de los cultivos se relaciona con la capacidad de estos organismos de poder asimilar el Phi como una fuente de fósforo, en plantas de arroz afines a asimilar Phi se ha observado la sobreexpresión de genes NAD que favorecen el desarrollo celular; además, en la planta

modelo *Arabidopsis thaliana* se ha observado que la acumulación de Phi en los brotes y hojas ha permitido un mejor desarrollo celular al sobreexpresar genes de proteínas transportadoras de fosfatos (PHT) (Datta *et al.*, 2024; Jost *et al.*, 2015).

La relación que existe entre el peso de la biomasa fresca y seca se asocia con la capacidad fotosintética de las plantas; sin embargo, la idea de relación entre el peso de biomasa fresca y seca se ha ido descartando, debido a que el contenido foliar de agua no mantiene una proporción con respecto al peso seco, la que puede variar entre individuos, variedades y comunidades (Huang *et al.*, 2019). El Phi se acumula en diferentes orgánulos, principalmente en el citosol; en presencia de fosfato la acumulación de Phi aumenta en la vacuola (Thao y Yamakawa, 2009), la vacuola constantemente presenta cambios morfológicos asociados con diferentes señales ambientales y de crecimiento; sin embargo, establecer los procesos biológicos que derivan estos cambios todavía es tema de estudio (Cui *et al.*, 2020).

La aplicación de Phi en diversos cultivos ha demostrado su efectividad al aplicarlo como un bioestimulante; en fresa

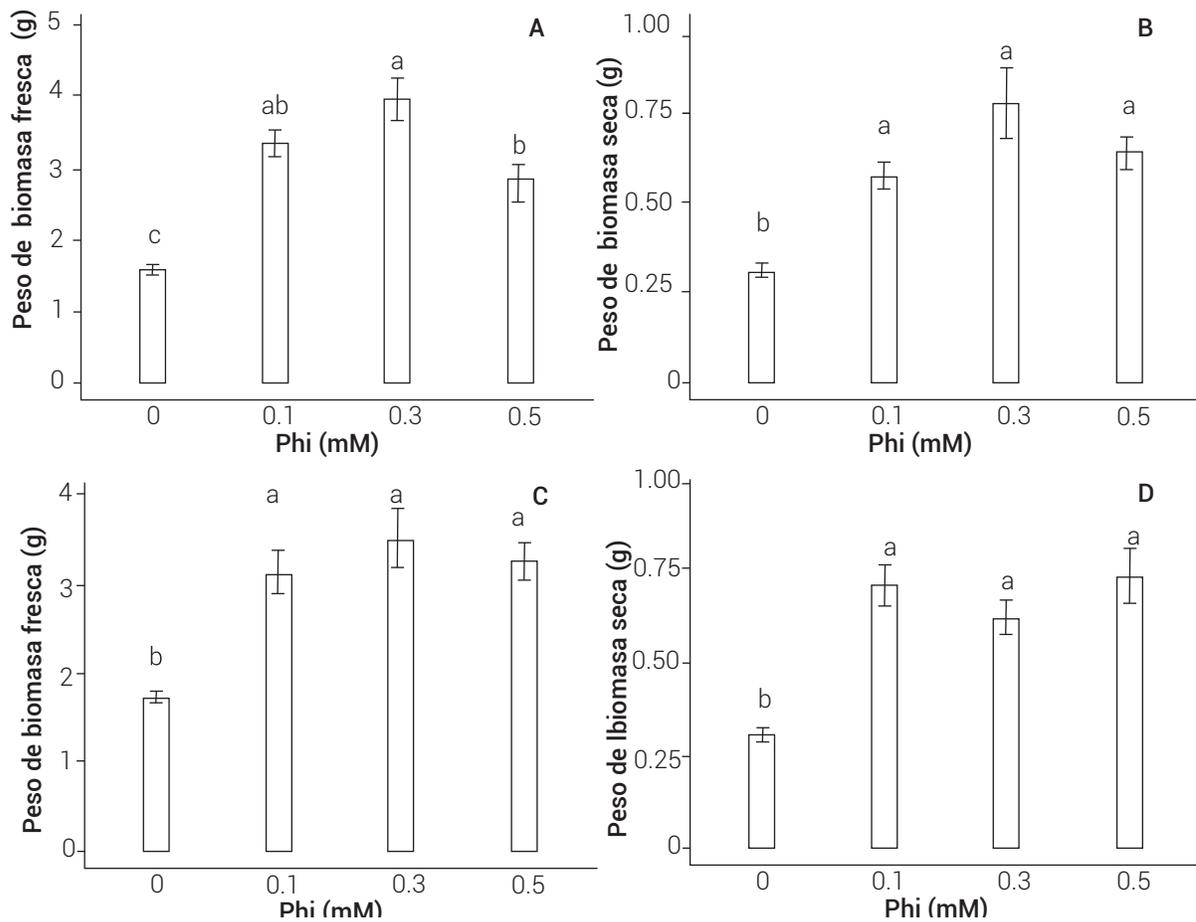


Figura 3. Peso de la biomasa fresca y seca de vitroplantas de caña de azúcar de las variedades CP 72-2086 (A y B) y Mex 69-290 (C y D), expuestas a diferentes concentraciones de Phi. Medias \pm error estándar con letras distintas sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$).

(*Fragaria* \times *ananassa* Duch. cv. Festival) el Phi incrementó la calidad y sanidad del fruto (Estrada-Ortiz *et al.*, 2013). En *lisanthus* (*Eustoma grandiflorum* Raf.), variedades Mariachi Blue y Echo, la aplicación de fosfito en dosis de 0.1 mM promovió una mejora en la calidad del cultivo (Torres-Flores *et al.*, 2018). En lechuga (*Lactuca sativa*) y acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.) la adición de dosis de 0.25 mM Phi mejoró de forma sustancial su rendimiento y calidad (Estrada-Ortiz *et al.*, 2016). En especies de *Brassica* (*B. campestris* cv. Mibuna Early y *B. juncea* cv. Red Giant), la aplicación de 0.1 y 0.5 mM Phi incrementó el peso de la biomasa seca y el área foliar (Trejo-Téllez *et al.*, 2019). En acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.), la aplicación de Phi bioestimuló principalmente el metabolismo y el contenido de nutrimentos (Estrada-Ortiz *et al.*, 2016). En papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*S. lycopersicum* L. cv. Hayslip), la utilización del Phi estimuló la floración y la calidad en la poscosecha (Lovatt y Mikkelsen, 2006). La estimulación con Phi promueve un incremento en el

número de hojas, altura de planta y biomasa, que está en relación con un aumento en la respiración celular (Méndez-Natera, 2002).

La dosis de 0.1 mM Phi tuvo efectos inhibitorios en el peso de biomasa seca en ambas variedades, la respuesta de las plantas a la aplicación de Phi depende de la capacidad del bioestimulante en la absorción de fósforo cuando se presenta en dosis adecuadas; sin embargo, cuando es aplicado en dosis no adecuadas ocasiona un bajo crecimiento, disminuye el área foliar y ocasiona un déficit en la absorción de fósforo (Exley, 2015; Vinas *et al.*, 2020).

Efecto del Phi en la concentración de clorofilas

En clorofila *a* la concentración fue de 0.73 mg g⁻¹ para la dosis de 0.3 mM Phi en la variedad CP 72-2086 y para Mex 69-290 la mayor concentración fue en la dosis de 0.5

mM con 0.74 mg g^{-1} . La dosis de 0.1 mM Phi presentó en ambas variedades la mayor concentración de clorofila *b* y total en comparación con el testigo (Cuadro 1).

Los resultados evidencian que las dosis de Phi influyen positivamente en la concentración de clorofilas, molécula importante en el crecimiento y desarrollo de la planta, y en el proceso de fotosíntesis. El fósforo es un nutrimento del cual se ha descrito su influencia en la estabilidad de las moléculas de clorofila (Bojović y Stojanović, 2006). En la planta de *Arabidopsis thaliana*, la aplicación de altas concentraciones de Phi (entre 40 y 50 % del fósforo total) tuvieron un efecto en el contenido de clorofila en hojas, las cuales presentaron un cambio de coloración; las hojas que presentaron un color verde claro tuvieron una menor concentración de clorofila, mientras que las hojas tratadas con Phi al 30 % desarrollaron un color verde oscuro, determinando que hubo un incremento significativo en la concentración de clorofila (Ticconi *et al.*, 2001).

En el caso de fresa silvestre (*Fragaria vesca*), la aplicación de Phi promovió el aumento de la concentración foliar de clorofila total en la etapa de fructificación (Blanke, 2002). La aplicación de Phi en plantas disminuye la capacidad de la asimilación de fósforo, lo que conduce a cambios principalmente en la membrana de los cloroplastos (Estrada-Ortiz *et al.*, 2016).

El Phi muestra efectos benéficos en la concentración de la molécula de clorofila cuando es aplicado en bajas dosis (Bojović y Stojanović, 2006), aunque se debe aplicar de manera sincronizada con una dosis adecuada de fertilizantes que satisfagan las necesidades del cultivo, incluso se consideran otros factores de influencia como es

el genotipo de la planta, el estado fenológico y condiciones ambientales para obtener una mayor concentración de clorofilas (Lovatt y Mikkelsen, 2006).

La concentración de clorofilas en la fotosíntesis es vital para el crecimiento y desarrollo de las plantas; sin embargo, su decremento puede causar alteraciones en la actividad fotosintética (Khairi *et al.*, 2015). El Phi tiene una respuesta hormética en la caña de azúcar cuando es aplicado a altas concentraciones, ocasiona un estrés y provoca daños en la capacidad fotosintética generando la degradación o disminución en la síntesis de clorofila (Cha-Um y Kirdmanee, 2008). La estimulación con Phi promueve un incremento en el número de hojas, altura de planta, biomasa de peso seco, lo que está en relación con un aumento en la capacidad fotosintética y respiración celular (Méndez-Natera, 2002).

Concentración de azúcares, proteínas y aminoácidos

Las dosis de 0.3 y 0.5 mM Phi presentaron el mayor promedio de concentración de azúcares totales en las variedades CP72-2086 y Mex 69-290 en comparación con el testigo. La dosis de 0.1 mM Phi indujo el mayor contenido de proteínas en ambas variedades a 430 y $561 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ PBF con respecto al testigo que presentó 325 y $314 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ PBF. La dosis de 0.5 mM Phi aumentó la concentración de aminoácidos libres totales de manera significativa en ambas variedades a 0.24 y 0.37 nM g^{-1} PBF (Cuadro 2).

Las dosis de Phi presentaron un efecto en la concentración de azúcares, proteínas y aminoácidos en el cultivo *in vitro* de caña de azúcar, lo que se considera como resultado favorable, ya que los azúcares sostienen el crecimiento de

Cuadro 1. Concentración de clorofilas en vitroplantas de caña de azúcar de las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 expuestas a diferentes dosis de Phi a los 30 días de tratamiento *in vitro*.

Variedad	Phi (mM)	Clorofila (mg g^{-1} PBF)		
		<i>a</i>	<i>b</i>	Total
CP 72-2086	Testigo	$0.67 \pm 0.09\text{a}$	$0.35 \pm 0.01\text{c}$	$1.02 \pm 0.03\text{bc}$
	0.1	$0.68 \pm 0.05\text{a}$	$0.58 \pm 0.03\text{a}$	$1.27 \pm 0.06\text{a}$
	0.3	$0.73 \pm 0.02\text{a}$	$0.40 \pm 0.01\text{bc}$	$1.14 \pm 0.02\text{ab}$
	0.5	$0.51 \pm 0.01\text{b}$	$0.44 \pm 0.01\text{ab}$	$0.94 \pm 0.02\text{c}$
Mex 69-290	Testigo	$0.63 \pm 0.02\text{b}$	$0.31 \pm 0.01\text{c}$	$0.95 \pm 0.03\text{b}$
	0.1	$0.73 \pm 0.01\text{a}$	$0.41 \pm 0.01\text{a}$	$1.15 \pm 0.02\text{a}$
	0.3	$0.52 \pm 0.01\text{c}$	$0.37 \pm 0.06\text{b}$	$0.88 \pm 0.01\text{b}$
	0.5	$0.74 \pm 0.02\text{a}$	$0.38 \pm 0.01\text{ab}$	$1.13 \pm 0.09\text{a}$

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

Cuadro 2. Concentración de azúcares, proteínas y aminoácidos en vitroplantas de caña de azúcar de las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 expuestas a diferentes dosis de Phi a los 30 días de tratamiento *in vitro*.

Variedad	Phi (mM)	Azúcares (mg g ⁻¹ PBF)	Proteínas (μg g ⁻¹ PBF)	Aminoácidos (nM g ⁻¹ PBF)
CP 72-2086	Testigo	0.09 ± 0.00c	325 ± 3.37d	0.05 ± 0.00c
	0.1	0.22 ± 0.00b	430 ± 5.75a	0.15 ± 0.00b
	0.3	0.25 ± 0.00a	470 ± 4.79b	0.24 ± 0.00a
	0.5	0.24 ± 0.00a	392 ± 3.35c	0.24 ± 0.00a
Mex 69-290	Testigo	0.08 ± 0.00c	314 ± 2.00d	0.05 ± 0.00d
	0.1	0.15 ± 0.00b	561 ± 13.4a	0.18 ± 0.00c
	0.3	0.23 ± 0.00a	519 ± 2.60b	0.29 ± 0.00b
	0.5	0.24 ± 0.00a	344 ± 4.06c	0.37 ± 0.00a

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

tejidos demandantes y son componentes importantes de la pared celular de las plantas; además, participan como moléculas señalizadoras en procesos asociados con el crecimiento y desarrollo de las plantas (Van den Ende, 2014). El incremento del contenido de los carbohidratos se relaciona con una mejor producción (Stapleton *et al.*, 2001). Los azúcares solubles totales son un indicador bioquímico para conocer el estatus nutrimental de la planta (Van den Ende, 2014).

En fresa en la etapa de floración y fructificación, la adición de fosfato en forma de Phi presentó un aumento en la concentración de clorofilas, proteínas y aminoácidos, en tanto que en la etapa de floración se observaron efectos positivos en la concentración de azúcares totales en hojas (Estrada-Ortiz *et al.*, 2011). Estos resultados son muy similares a los del presente estudio, donde la adición de 0.1 mM de Phi en el medio de cultivo *in vitro* promovió una mayor concentración de proteínas, mientras que una mayor dosis de 0.5 mM resultó en una reducción en la concentración de la proteína; esto puede deberse a que el fosfito en concentraciones no adecuadas inhibe la fosforilación de proteínas y suprime la actividad de las enzimas nucleicas como las fosfatasa ácidas, principalmente cuando hay estrés por fósforo (Ticconi *et al.*, 2001).

En estudios previos se ha observado que la eficiencia del Phi depende de la dosis y susceptibilidad de los cultivos al estrés (Thao y Yamakawa, 2009). De acuerdo con Moor *et al.* (2009), el Phi activa una respuesta en la expresión de proteínas que ayudan a la adaptación a diferentes tipos de estrés, lo que ocasiona respuestas positivas en la calidad de los cultivos.

La utilización de Phi como bioestimulante, en dosis adecuadas, aumenta la concentración de aminoácidos libres como ácido aspártico, asparagina y glutamina (Estrada-Ortiz *et al.*, 2011). Los aminoácidos son esenciales para la asimilación del nitrógeno y precursores de proteínas y ácidos nucleicos; el aumento de la concentración de aminoácidos puede deberse a la adaptación de las plantas a diferentes condiciones ambientales y de estrés, ya que la concentración de los aminoácidos y otros compuestos nitrogenados solubles son de vital importancia en el metabolismo vegetal (Hsu y Kao, 2003).

CONCLUSIONES

La adición de fosfito (Phi) en la dosis de 0.3 mM presentó un efecto bioestimulante en las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 de caña de azúcar. En la variedad CP 72-2086, específicamente, provocó un incremento significativo en las variables número y tamaño de brotes y en la concentración de clorofilas, proteínas, aminoácidos y azúcares totales, por lo que el uso de Phi es una alternativa como bioestimulante en la obtención de plantas sanas y vigorosas en la micropropagación *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca de Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable (No. 1079205).

BIBLIOGRAFÍA

- 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>
- Ávila F. W., V. Faquin, A. K. S. Lobato, P. A. Ávila, D. J. Marques, E. M. S. Guedes and D. K. Y. Tan (2013) Effect of phosphite supply in nutrient solution on yield, phosphorus nutrition and enzymatic behavior in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Australian Journal of Crop Science* 8:713-722.
- 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. B. de Oliveira (ed.). InTech Open. London, UK. pp:101-112, <https://doi.org/10.5772/intechopen.74037>
- Blanke M. (2002) Photosynthesis of strawberry fruit. *Acta Horticulturae* 567:373-376, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.567.81>
- Bojović B. and J. Stojanović (2006) Some wheat leaf characteristics in dependence of fertilization. *Kragujevac Journal of Science* 28:139-146.
- 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.). CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. pp:67-104.
- Cha-Um S. and C. Kirdmanee (2008) Effect of osmotic stress on proline accumulation, photosynthetic abilities, and growth of sugarcane plantlets (*Saccharum officinarum* L.). *Pakistan Journal of Botany* 40:2541-2552.
- Cui, Y., Q. Zhao, S. Hu and L. Jiang (2020) Vacuole biogenesis in plants: how many vacuoles, how many models? *Trends in Plant Science* 25:538-548, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.008>
- Datta D., M. Manna, H. Parmar, S. Karippadakam, A. Rashid, S. Mehta, ... and V. M. M. Achary (2024) Investigating the Phi use efficiency of a NADP utilizing phosphite dehydrogenase in rice. *Journal of Plant Biology* 67:231-240, <https://doi.org/10.1007/s12374-024-09423-x>
- Estrada-Ortiz E., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, R. Núñez-Escobar and M. Sandoval-Villa (2011) Biochemical responses in strawberry plants supplying phosphorus in the form of phosphite. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17:129-138, <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.17.024>
- Estrada-Ortiz E., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, R. Núñez-Escobar and M. Sandoval-Villa (2013) The effects of phosphite on strawberry yield and fruit quality. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13:612-620, <https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000049>
- Estrada-Ortiz E., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, H. V. Silva-Rojas, A. M. Castillo-González and E. Avitia-García (2016) Physiological responses of chard and lettuce to phosphite supply in nutrient solution. *Journal of Agricultural Science and Technology* 18:1079-1090.
- Exley C. (2015) A possible mechanism of biological silicification in plants. *Frontiers in Plant Science* 6:853, <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00853>
- 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. and L. I. Trejo-Téllez (2015) Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae* 196:82-90, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035>
- 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>
- Halpern M., A. Bar-Tal, M. Ofek, D. Minz, T. Muller and U. Yermiyahu (2015) The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In: Advances in Agronomy. Vol. 130. D. L. Sparks (ed.). Academic Press. Cambridge, Massachusetts, USA. pp:141-174, <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.001>
- Han X., Y. Xi, Z. Zhang, M. A. Mohammadi, J. Joshi, T. Borza and G. Wang-Pruski (2021) Effects of phosphite as a plant biostimulant on metabolism and stress response for better plant performance in *Solanum tuberosum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 210:111873, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111873>
- Harborne J. B. (1998) Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Springer. Dordrecht, The Netherlands. 302 p.
- Huang W., D. A. Ratkowsky, C. Hui, P. Wang, J. Su and P. Shi (2019) Leaf fresh weight versus dry weight: which is better for describing the scaling relationship between leaf biomass and leaf area for broad-leaved plants? *Forests* 10:256, <https://doi.org/10.3390/f10030256>
- Hsu S. Y. and C. H. Kao (2003) The protective effect of free radical scavengers and metal chelators on polyethylene glycol-treated rice leaves. *Biologia Plantarum* 46:617-619, <https://doi.org/10.1023/A:1024888217021>
- Jalal A., J. C. de Oliveira Junior, 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>
- Jost R., M. Pharmawati, H. R. Lapis-Gaza, C. Rossig, O. Berkowitz, H. Lambers and P. M. Finnegan (2015) Differentiating phosphate-dependent and phosphate-independent systemic phosphate-starvation response networks in *Arabidopsis thaliana* through the application of phosphite. *Journal of Experimental Botany* 66:2501-2514, <https://doi.org/10.1093/jxb/erv025>
- Khairi M., M. Nozulaidi and M. S. Jahan (2015) Effects of different water levels on physiology and yield of salinity rice variety. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 9:339-345.
- Lovatt C. J. and R. L. Mikkelsen (2006) Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? *Better Crops* 90:11-13.
- Mansoori M., M. Khayat and A. Jorphi (2014) Salinity stress evaluation on nutrient uptake and chlorophyll sugarcane genotypes. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 5:163-172.
- Méndez-Natera J. R. (2002) Relación entre el peso seco total y los caracteres vegetativos y la nodulación de plantas de maní (*Arachis hypogaea* L.). *Revista Científica UDO Agrícola* 2:46-53.
- Moor U., P. Pöldma, T. Tõnutare, K. Karp, M. Starast and E. Vool (2009) Effect of phosphite fertilization on growth, yield and fruit composition of strawberries. *Scientia Horticulturae* 119:264-269, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.005>
- 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)
- Murashige T. and F. Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Raposo Junior J. L., J. A. G. Neto and L. V. S. Sacramento (2013) Evaluation of different foliar fertilizers on the crop production of sugarcane. *Journal of Plant Nutrition* 36:459-469, <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.748066>
- 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 (2022) 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. 84 p.
- Southgate D. A. T. (1976) Determination of Food Carbohydrates. Applied Science Publishers, LTD. London, UK. 105 p.
- Stapleton S. C., C. K. Chandler, D. E. Legard, J. F. Price and J. C. Sumler (2001) Transplant source affects fruiting performance and pests of 'Sweet Charlie' strawberry in Florida. *HortTechnology* 11:61-65, <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.11.1.61>
- 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>
- Thao H. T. B. and T. Yamakawa (2009) Phosphite (phosphorous acid): fungicide, fertilizer or bio-stimulator? *Soil Science and Plant Nutrition* 55:228-234, <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x>
- Ticconi C. A., C. A. Delatorre and S. Abel (2001) Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in Arabidopsis. *Plant Physiology* 127:963-972, <https://doi.org/10.1104/pp.010396>
- Torres-Flores N. I., L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, G. Alcántar-González, F. Bello-Camacho, B. I. Trejo-Téllez y P. Sánchez-García (2018) Fosfito en la fenología en dos variedades de *lisanthus*. *Agroproductividad* 11:163-166.
- Trejo-Téllez L. I., E. Estrada-Ortiz, F. C. Gómez-Merino, C. Becker, A. Krumbein and D. Schwarz (2019) Flavonoid, nitrate and glucosinolate concentrations in *Brassica* species are differentially affected by photosynthetically active radiation, phosphate and phosphite. *Frontiers in Plant Science* 10:371, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00371>
- 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>
- Vinas M., J. C. Mendez and V. M. Jiménez (2020) Effect of foliar applications of phosphites on growth, nutritional status and defense responses in tomato plants. *Scientia Horticulturae* 265:109200, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109200>
- Yáñez-Juárez M. G., C. A. López-Orona, F. Ayala-Tafoya, L. Partida-Ruvalcaba, T. J. Velázquez-Alcaraz y R. Medina-López (2018) Los fosfitos como alternativa para el manejo de problemas fitopatológicos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36:79-94, <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1710-7>