

Efecto del estrés hídrico inducido con PEG 6000 sobre el contenido de agua de plantas *in vitro* de *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB)

Leonardo J Moreno-Bermúdez, Maritza Reyes, Rafael Gómez-Kosky, Mayelin Rodríguez Urquiza, Borys Chong-Pérez

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830
e-mail: ljmoreno@ibp.co.cu

RESUMEN

Los plátanos y bananos se desarrollan en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, por lo que están adaptados a buenas condiciones de humedad. La productividad de estos cultivos es afectada por factores abióticos como la sequía, la cual se ha incrementado en los últimos años por los efectos del cambio climático. La selección *in vitro* de genotipos tolerantes ofrece ventajas sobre la selección en campo pues permite ahorrar tiempo, recursos y trabajar con mayores volúmenes de plantas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del estrés hídrico inducido *in vitro* con Polietilenglicol 6000 (PEG 6000), en el contenido de agua (CA) de plantas de los cultivares de *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB). En el cultivar 'Pelipita' no se afectó el CA por el efecto del PEG 6000, en cambio, en el cultivar 'Grande naine' esta variable se redujo significativamente en aquellas plantas sometidas a estrés. Ambos cultivares respondieron de forma diferencial al estrés hídrico *in vitro* inducido con PEG 6000 y podrían emplearse como referencia en la evaluación de plantas obtenidas por mejoramiento genético con el propósito de lograr tolerancia a la sequía.

Palabras clave: banano, cambio climático, selección *in vitro*, sequía

Effect of hydric stress induced by PEG 6000 on water content of *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) *in vitro* plants

ABSTRACT

Bananas and bananas are grown in the tropical and subtropical regions of the world, by hence they are adapted to good humidity conditions. The productivity of these crops is affected by abiotic factors such as drought, which has increased in recent years due to the effects of climate change. *In vitro* selection of tolerant genotypes offers advantages over field selection as it saves time, resources and permit to work with larger plant volumes. The aim of this work was to determine the effect of *in vitro* water stress induced with polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) on water content (WC) of *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) cultivars. In 'Pelipita' cultivar WC was not affected by PEG 6000 effect, but in 'Grande naine' this trait was significantly reduced in those plants under stress. Both, 'Pelipita' and 'Grande naine' cultivars differentially respond to water stress induced *in vitro* by PEG 6000 and could be used as reference in plants evaluation obtained by plant breeding for drought tolerance.

Key words: banana, climate change, drought, *in vitro* selection

INTRODUCCIÓN

La sequía constituye uno de los más grandes desafíos a los que se enfrenta la agricultura para la producción de alimentos a nivel mundial. Esta impone a las plantas un estrés osmótico que afecta de forma negativa su crecimiento y desarrollo y trae como resultado una disminución en la productividad (Henry *et al.*, 2011).

Los plátanos y bananos (*Musa* spp.) son sensibles a este factor abiótico, ya que se desarrollan en las regiones tropicales y subtropicales y están adaptados a buenas condiciones de humedad. El incremento de la temperatura global del planeta como consecuencia del cambio climático, provoca sequías cada vez más intensas en las zonas dedicadas al cultivo de *Musa* spp. Esta problemática ha llevado a pensar en la

necesidad de contar con genotipos tolerantes al déficit hídrico, ya que para su producción el agua constituye uno de los factores más limitantes (Vanhove *et al.*, 2012).

La selección de cultivares tolerantes en condiciones de campo es compleja debido a dificultades en los manejos agrícolas, las variaciones fenotípicas y la ocurrencia de eventos lluviosos inesperados (Placide *et al.*, 2012). En su lugar, la selección *in vitro* ofrece múltiples ventajas, entre ellas que se pueden controlar las condiciones de cultivo, permite el trabajo con grandes volúmenes de individuos en espacios más reducidos, y ahorra tiempo y recursos. Además, existe una correlación en las respuestas de las plantas en condiciones *in vitro* e *in vivo* (Mohamed *et al.*, 2000).

La selección de plantas tolerantes al estrés hídrico en condiciones *in vitro* se basa en hacerlas crecer en presencia de un agente osmoestresante, que al ser incorporado al medio de cultivo se reduce su potencial osmótico. De esta manera se dificulta la absorción de agua por parte de la planta. En este sentido el polietilenglicol es una de las sustancias más empleadas (Rai *et al.*, 2011).

Por otra parte, para realizar una adecuada selección es necesario primeramente conocer qué variables pueden ser usadas para diferenciar las plantas tolerantes de las sensibles, y qué genotipos emplear como referencia. Con el propósito de detectar tolerancia a la sequía, el contenido de agua (CA) es una variable que ha sido usada por varios autores (Chen Yige *et al.*, 2012; Plácide *et al.*, 2012).

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del estrés hídrico inducido *in vitro* con Polietilenglicol 6000 en el contenido de agua de plantas de los cultivares de *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon plantas *in vitro* de los cultivares 'Pelipita' (*Musa* ABB) y 'Grande naine' (*Musa* AAA) que se encontraban en fase de multiplicación entre el tercer y el quinto subcultivo, propagadas vía organogénesis según el protocolo propuesto por Orellana (1998). A partir de las plantas se obtuvieron

explantos de aproximadamente 0.5 cm de diámetro y 1.0 cm de altura que se colocaron en el medio de cultivo (seis explantes por cada frasco de cultivo).

Se utilizó un medio de cultivo semisólido de multiplicación, compuesto por sales MS (Murashige y Skoog, 1962) 4.3 g l⁻¹, tiamina 1.0 mg l⁻¹, 6-bencilaminopurina 4.0 mg l⁻¹, ácido indolacético 0.65 mg l⁻¹, mio-inositol 100 mg l⁻¹, ácido cítrico 50 mg l⁻¹, sacarosa 30 g l⁻¹, Gelrite 2.8 g l⁻¹ y PEG 6000 30 g l⁻¹, como agente inductor del estrés. El pH del medio de cultivo fue ajustado a 5.8 con NaOH 0.1 M y HCl 0.1 M, y se dosificó en frascos de vidrio con capacidad total de 250 ml (30 ml/frasco). Los frascos se esterilizaron en autoclave a 121°C y 1.2 kg cm⁻² de presión durante 20 min.

Los explantes se mantuvieron durante 28 días en una cámara de crecimiento a 27±2°C, luz solar con una intensidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos entre 48-65 μmol m⁻² s⁻¹ y un fotoperíodo de aprox. 13 horas al día.

Para calcular el CA se empleó la ecuación propuesta por Placide *et al.* (2012): CA= [(MF - MS) / MF] x 100, donde MF representa masa fresca (g) y MS masa seca (g) de las plantas. Las plantas se pesaron inmediatamente después de extraerlas de los frascos de cultivo (MF) y posteriormente se secaron en estufa a 60°C y se pesaron varias veces en el tiempo hasta mantener peso constante (MS).

Se emplearon para cada cultivar dos tratamientos: I) plantas crecidas en presencia de PEG 6000 y II) plantas control sin el agente estresante en el medio de cultivo. Se comparó el CA de 24 plantas de cada cultivar para cada tratamiento. Para el análisis estadístico se empleó el programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) ver. 18.0 para Windows. Para el procesamiento de los resultados se realizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney al no cumplirse los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas por las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Para cada análisis se fijó un intervalo de confianza de un 95% (p <0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 28 días de cultivo se observó que el CA no varió de manera significativa para el cultivar

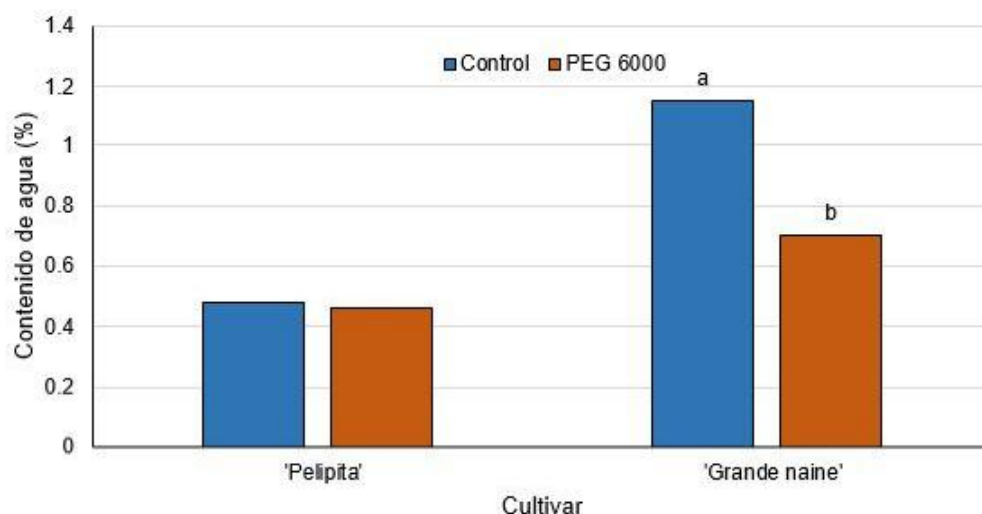


Figura 1. Contenido de agua de plantas *in vitro* de *Musa* spp., cultivares 'Grande naine' (AAA) y 'Pelipita' (ABB), sometidos a estrés hídrico inducido con Polietilenglicol 6000, a los 28 días de cultivo. Letras no comunes sobre barras indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo cultivar, según prueba de Mann-Whitney para $p < 0.05$. $n=24$

'Pelipita' cuando se compararon plantas de ambos tratamientos. En cambio, para el cultivar 'Grande naine' se constató una disminución significativa de esta variable en aquellas plantas crecidas en presencia de PEG 6000 (Figura 1).

Teniendo en cuenta que el CA permite conocer la capacidad de las plantas para mantenerse hidratadas ante un déficit hídrico, los resultados enunciados sugieren que el cultivar 'Pelipita' responde favorablemente al estrés por sequía *in vitro*. Por el contrario, el cultivar 'Grande naine' presenta sensibilidad a este factor bajo las mismas condiciones.

En la literatura científica se refiere que en *Musa* spp., los cultivares que poseen en su genoma la contribución de la especie *M. balbisiana* (representado con la letra B), toleran mejor ambientes propensos a la sequía que aquellos que solamente tienen la contribución de *M. acuminata* (representado con la letra A) (Ortiz, 2013). Por otra parte, Ravi *et al.* (2013) consideran al grupo genómico ABB, al cual pertenece el 'Pelipita', como tolerante a la sequía, y al grupo AAA en el cual se incluye el 'Grande naine' como sensible.

Resultados similares a los del presente trabajo fueron obtenidos por Placide *et al.* (2012), quienes estudiaron la respuesta de diferentes cultivares de *Musa* spp. a déficit hídrico *in vitro*. Estos autores determinaron

también el CA y obtuvieron las menores afectaciones de esta variable, en los cultivares 'Lept Chang Kut' (BBB) y 'Cachaco' (ABB) con mayor contribución B en su genoma. En contraste, la mayor afectación fue observada en el cultivar 'Mbwazirume' (AAA) con la mayor contribución A.

CONCLUSIONES

En base a los resultados presentados, podría considerarse el CA para diferenciar plantas *in vitro* de *Musa* spp. obtenidas por mejoramiento genético, tolerantes al déficit hídrico. Además, pudieran emplearse los cultivares 'Pelipita' y 'Grande naine' como referencia en la selección ya que respondieron de forma diferencial a las condiciones impuestas en el presente trabajo.

REFERENCIAS

- Chen Y, Chen F, Liu L, Zhu S (2012) Physiological Responses of *Leucaena leucocephala* Seedlings to Drought Stress. *Procedia Engineering* 28:110-116
- Henry IM, Carpentier SC, Pampurova S, Van Hoylandt A, Panis B, Swennen R, Remy S (2011) Structure and regulation of *Asr* gene family in banana. *Planta* 234:785-798
- Mohamed MAH, Harris PJC, Henderson J (2000) *In vitro* selection and characterization of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. *Plant Science* 159:213-222

- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497
- Orellana, PP (1998) Propagación vía organogénesis. En: Pérez, JN (Ed). *Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología*, pp.151-177. IBP, Santa Clara
- Ortiz R (2013) *Musa*. En: Cole C (Ed.) *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Tropical and Subtropical Fruits*, pp. 97-128. Springer-Verlag, Berlin
- Placide R, Carpentier SC, Swennen R (2012) Development of *in vitro* technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. *African Journal of Plant Science* 6(15):416-425
- Rai MK, Kalia RK, Singh R, Gondola MP, Dhawan AK (2011) Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection-An overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany* 71(1):89-98
- Ravi I, Uma S, Vaganan MM, Mustaffa MM (2013) Phenotyping bananas for drought resistance. *Frontiers in Physiology* 4:9
- Vanhove AC, Vermaelen W, Pains B, Swennen R, Carpentier SC (2012) screening the banana biodiversity for drought tolerance: can an *in vitro* growth model and proteomics be used as a tool to discover tolerant varieties and understand homeostasis. *Frontiers in Plant Science* 3:1-10

Recibido: 21-07-2015
Aceptado: 09-11-2015