

Evaluación de déficit hídrico en variantes somaclonales de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*, Deneger), usando mediciones morfométricas.

Water deficit evaluation in somaclonal variants of passion fruit
(*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*, Deneger), using morphometric measurements.

Iván Darío Loaiza Campiño¹, Nefthalí Mesa López²

-
- ¹. Ingeniero Agrónomo-estudiante de MSc. Docente Catedrático, Universidad del Tolima. IDEAD. Programa Ingeniería en Agroecología.
². Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Grupo de investigación GEBIUT, Universidad del Tolima. Ibagué-Colombia
-

Recibido: Junio 19 del 2019

Aceptado: Septiembre 10 del 2019

*Correspondencia del autor: Iván Darío Loaiza Campiño

E-mail: idloaizac@ut.edu.co

Resumen

El aumento de las temperaturas y el cambio en los regímenes pluviales tienen efectos directos sobre el rendimiento de los cultivos, el maracuyá no tolera épocas secas marcadas, lo que puede resultar en poca inducción floral y en caída de frutos, hasta la defoliación de la planta. El mejoramiento genético vegetal aparece como estrategia para favorecer la adaptación de los cultivos al estrés ambiental. Una de las herramientas del fitomejoramiento es el cultivo de tejidos vegetales, con éste se ha obtenido variedades mejoradas usando variación somaclonal. Por tal motivo, se planteó un proyecto de selección in vitro de variantes somaclonales (VS) de maracuyá, buscando tolerancia al déficit hídrico. La investigación cuenta con cuatro etapas, 1. Inducción de callogénesis (2,4-D), 2. Organogénesis directa e indirecta; 3. Inducción de estrés hídrico (PEG 6000); 4. Selección in vitro de VS tolerantes a déficit hídrico. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en plántulas sembradas en medios con 20g PEG/l, para longitud, grosor y número de raíces, en cuanto a tallo no se encontraron diferencias estadísticas. El número de hojas presentó diferencias significativas respecto a los demás medios que inducían estrés hídrico [25 y 30g PEG/L]. Finalmente, las variables morfométricas permitieron diferenciar los mejores tratamientos y las plántulas, que mostraron tolerancia al déficit hídrico, esto expresado en términos de crecimiento longitudinal, grosor, ancho y número, pese a las concentraciones del agente estresante PEG 6000. Lo obtenido se convierte en insumo importante para continuar con el proceso de fitomejoramiento del maracuyá en la Universidad del Tolima.

Palabras clave: cambio climático, estrés, mejoramiento genético, 2,4-D; selección, tolerancia.

Abstract

The increase in temperatures and the change in rainfall regimes have direct effects on crop yields, passion fruit does not tolerate marked dry seasons, which can result in little floral induction and fruit fall, until the defoliation of the plant. Plant genetic improvement appears as a strategy to favor the adaptation of crops to environmental stress. One of the tools of plant breeding is the cultivation of plant tissues, with this one has obtained improved varieties using somaclonal variation. For this reason, a project was proposed for in vitro selection of somaclonal variants (VS) of passion fruit, seeking tolerance to the water deficit. The research has four stages, 1. Induction of calllogenesis (2,4-D), 2. Direct and indirect organogenesis; 3. Water stress induction (PEG 6000); 4. In vitro selection of VS tolerant to water deficit. Statistically significant differences were found in seedlings planted in media with 20g PEG / l, for length, thickness and number of roots, in terms of stem no statistical differences were found. The number of leaves showed significant differences with respect to the other means that induced water stress [25 and 30g PEG / L]. Finally, the morphometric variables allowed differentiating the best treatments and seedlings, which showed tolerance to the water deficit, this expressed in terms of longitudinal growth, thickness, width and number, despite the concentrations of the stressful agent PEG 6000. The obtained becomes important input to continue the process of plant breeding of passion fruit at the University of Tolima.

Keywords: climate change, stress, genetic improvement, 2,4-D; Selection tolerance.

Introducción

En Colombia el aumento previsto de la temperatura promedio anual para el año 2050 se estima que sea de 2,5 °C; y es probable que la precipitación aumente en un 2,5% a mediados de siglo (1). De hecho, sin adaptación acelerada, el cambio climático resultaría en: degradación del suelo y pérdida de materia orgánica en las vertientes andinas, inundaciones en las costas Caribe y Pacífica, pérdidas de nichos para, el café, los frutales, el cacao y el banano, cambios en la prevalencia de plagas y enfermedades, descongelamiento de glaciares y estrés hídrico. Entre los factores que causan estrés abiótico encontramos las sequías, las inundaciones, las bajas temperaturas, la salinidad y acidez de los suelos (2, 3). Según datos de la Comisión Europea de Ciencia y Gestión del Conocimiento (4), más del 75% de las tierras agrícolas en todo el mundo sufren de sequía. El cultivo de maracuyá y las pasifloras en general no toleran épocas secas marcadas, sin un riego suplementario. La poca tolerancia a la sequía se debe a sus raíces fibrosas superficiales, lo que puede resultar en poca inducción floral, caída de frutos, defoliación de la planta, finalmente pérdidas económicas en toda la cadena productiva y de transformación (5). Es en estos escenarios donde cobra importancia la investigación en material genético tolerante al déficit hídrico (6). El cultivo in vitro ha sido utilizado para obtener plantas tolerantes a sequía, a partir variantes somaclonales (VS) y la selección in vitro, estos métodos se basan en la obtención e inducción de la variación genética entre las células, tejidos y/o ór-

ganos en las plantas cultivadas y regeneradas (7); esta estrategia ha sido utilizada en cultivos como sorgo (8), caña de azúcar (9) trigo (10), banano (11).

Por ello se planteó un proyecto cuyos objetivos fueron inducir variación somaclonal, someter a estrés hídrico las plántulas regeneradas y usar marcadores morfométricos en la evaluación de los somaclones de maracuyá, buscando tolerancia a déficit hídrico con fines de fitomejoramiento.

Materiales y métodos

El material vegetal se colectó en el Municipio de Dolores, con pendientes que van desde el 20 al 75%. Coordenadas geográficas 3°47' 3.64" N/ -75°02'74.8"W.

Los variantes somaclonales de maracuyá se obtuvieron mediante inducción de callogénesis utilizando tejido foliar de maracuyá, con diferentes concentraciones de la fitohormona 2,4-D (0, 1, 2 y 4 mg/l), posteriormente se indujo organogénesis indirecta y directa. Los medios organogénicos empleados fueron: MS+BAP+ANA (relaciones 0,6:0,3 y 0,3:0,6) y MS+Kinetina+ANA (relaciones 0,2:0,7 y 0,7:0,7). Las plántulas regeneradas se llevaron, a medios de cultivos organogénicos con adición de Polietilenglicol 6000 (PEG 6000); para simular estrés hídrico, se usaron las siguientes concentraciones [0gPEG/L], [20gPEG/L], [25gPEG/L] y [30gPEG/L]. Se realizaron durante un mes, cuatro mediciones morfométricas; para las raíces y tallos se midieron longitud

y grosor. El largo y ancho se determinaron en el caso de las hojas. Para ello se utilizó un calibrador milimétrico. **Análisis estadístico:** Se realizó un ANOVA y pruebas de diferencia de medias con los datos obtenidos, mediante el paquete estadístico XLSTAT. © 2014

Resultados

Las mediciones de longitud y número de raíces mos-

traron diferencias estadísticas significativas respecto a las diferentes concentraciones de PEG. El tratamiento con la concentración [20gPEG/L] presentó la mejor respuesta para estas dos variables (Tabla 1, figura1). El menor crecimiento longitudinal se observó en [25gPEG/L] y el menor número en [0gPEG/L]. Las concentraciones de [20 y 25gPEG/L], tuvieron los mejores resultados en grosor de raíces.

Tabla 1. Relación entre concentraciones de PEG 6000 y el crecimiento de algunos órganos vegetales de variantes somaclonales de maracuyá.

[PEG]	Raíz long	Raíz grosor	#_Raíces	Hojas long	Hojas ancho	#_Hojas
0	8,80 AB	0,36 A	0,26 A	9,71 A	5,32 A	8,13 A
20	18,16 B	0,69 B	0,68 B	15,35 B	7,19 B	9,74 B
25	4,01 A	0,58 B	0,49 AB	14,51 B	7,35 B	8,80 A
30	10,87 AB	0,52 AB	0,29 AB	10,51 A	4,83 A	8,16 A

Promedios con igual letra no presentan diferencias significativas (DMS 0,05). Lon= longitud

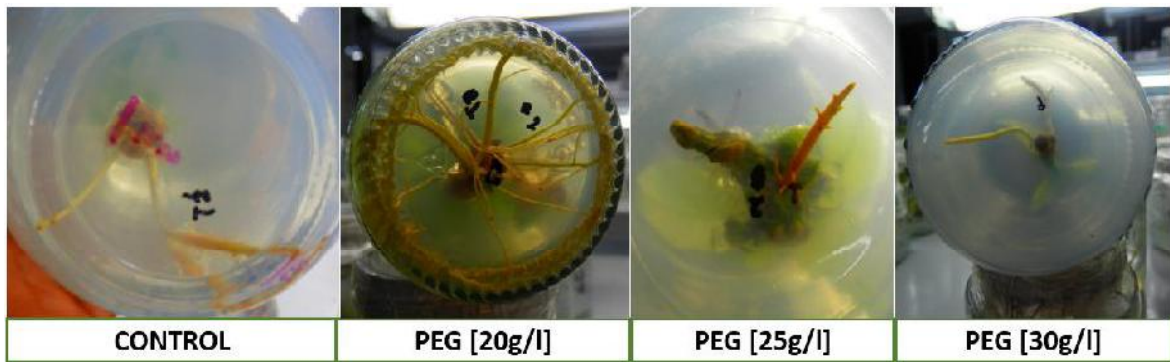


Figura 1. Comparación del grosor, longitud y número de raíces, en variantes somaclonales de maracuyá.

La variable longitud de hojas mostró diferencias estadísticas significativas para las diferentes concentraciones de PEG. El tratamiento con [20gPEG/L], presentó la mejor respuesta, el medio control con [0gPEG/L], fue el de menor influencia. El mayor ancho de hoja se encontró con [25gPEG/L] y el menor en [30gPEG/L]. El mayor número de hojas se observó en el tratamiento de [20gPEG/L]. (Figura 2 y tabla 1).

Lo que respecta a tallo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a longitud, grosor y número.

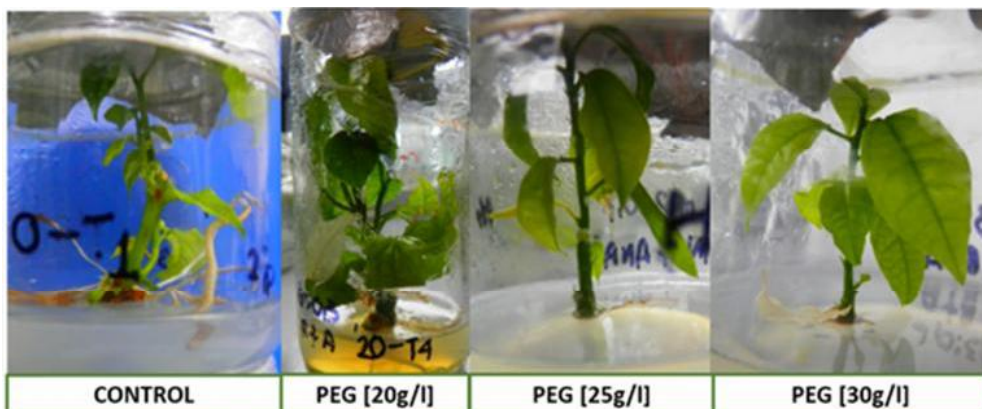


Figura 2. Número de hojas producidas con déficit hídrico en variantes somaclonales de maracuyá.

Discusión

Las concentraciones de [20 y 25gPEG/l], tuvieron los mejores resultados en grosor de raíces, mostrando que las plántulas respondieron al estrés hídrico con dicho incremento, salvo en el tratamiento control, similar a lo reportado por Albiski et al, (22); quienes encontraron que usando el 4% de agente estresante, algunas plántulas incrementaron la longitud y grosor de las raíces quizás como estrategia para la búsqueda de agua.

Albiski y colaboradores (12) reportan disminución de la longitud en hojas in vitro en papa, esto debido al déficit hídrico generado por el uso de sorbitol, similar a lo encontrado en esta investigación, donde la variable longitud de hojas fue menor cuando se utilizó [30gPEG/L]. El tratamiento con [20gPEG/l], presentó la mejor respuesta, el medio control con [0gPEG/l], fue el de menor influencia. El mayor ancho de hoja se encontró con [25gPEG/l]. El mayor número de hojas se observó en el tratamiento de [20gPEG/l], similar a Albiski et al, (12) quien reporta algunas líneas de papa, que, pese a los altos contenidos de agente estresante, tuvieron incremento en el número de hojas.

Estos resultados se complementarán con análisis bioquímicos y fisiológicos para realizar una selección in vitro más detallada de los variantes somaclonales de maracuyá tolerantes a déficit hídrico.

Conclusiones

Los mejores resultados de mediciones morfométricas se obtuvieron con los medios que contenían [20gPEG/L], mostrando diferencias significativas en las variables longitud, grosor y número de raíces.

En cuanto a longitud y número de hojas, los mejores resultados correspondieron al medio de cultivo que contenía [20gPEG/L], el ancho de hojas mostró mejor comportamiento en el medio de cultivo con [25gPEG/L].

Las variables morfométricas permitieron diferenciar los mejores tratamientos y las plántulas, que mostraron tolerancia al déficit hídrico, esto expresado en términos de crecimiento longitudinal, grosor, ancho y número, pese al contenido del agente estresante PEG 6000.

Agradecimientos

Al Laboratorio de Protección de Plantas, al grupo de Investigación en Genética y Biotecnología Vegetal - GEBIUT, al laboratorio del Grupo de Investigación en Productos Naturales - GIPRONUT y a la Oficina de investigaciones y desarrollo científico de la Universidad del Tolima al financiar el proyecto 260230516 “Selección in vitro de Variantes Somaclonales de Maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener) Tolerantes a Déficit Hídrico”.

Los autores de este artículo manifestamos que no existen conflictos de intereses.

Financiación

La fuente de financiación de esta investigación fue la Oficina de investigaciones y desarrollo científico de la Universidad del Tolima, mediante concurso, el código y nombre de la investigación financiada fue: proyecto 260230516 “Selección in vitro de Variantes Somaclonales de Maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener) Tolerantes a Déficit Hídrico”.

Referencias

1. Jarvis A, Ramírez J, Laderach P, Guevara E, Zapata E. (2009). Escenarios de Cambio climático en Colombia y la agricultura. Program Leader, Decision and Policy Analysis, CIAT.
2. Mohamed MAH, Harris PJC, Henderson, J. (2000). In vitro selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. *Plant Sci*, 159, 213-222.
3. Yang S, Vanderbeld B, Wan J, Huang Y. (2010). Narrowing down the targets: Towards successful genetic engineering of drought-tolerant crops. *Molecular Plant*. 3, 469-490.
4. Comisión Europea. (2018). Nuevo atlas mundial de la desertificación revela una presión sin precedentes sobre los recursos naturales del planeta. Comunicado de prensa.
5. Miranda D, Fisher G, Carranza C, Magnitskiy Casierra S, Piedrahita W, Flórez, LE. (2009). Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. Disponible en <http://fedepasifloras.org/es/wp-content/uploads/2018/01/Cultivo-poscosecha-y-comercializacio%CC%81n-de-las-pasiflora%CC%81ceas-en-Colombia.pdf>
6. Diaz, Y.; Lozano, H.; Portilla, J.P. (2012). Respuesta fisiológica al déficit hídrico in vitro y análisis proteómico preliminar en callos de cuatro cultivares de *Allium cepa* L. *Idesia* 30; (3), 11-21.
7. Rai MK, Rajwant KK, Rohta Singha MP, Gangolaa AKD. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection- An overview of the recent progress. *Environ Exp Bot*. 71:89-98.
8. Tsago Y, Andargie M, Takele A. (2014). In vitro selection of sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) for polyethylene glycol (PEG) induced drought stress. *Plant Sci Today*, 1(2), 62-68.
9. Kumar T, Uzma Khan MR, Abbas Z, Ali GM. (2014). Genetic improvement of sugarcane for drought and salinity stress tolerance using *Arabidopsis* vacuolar pyrophosphatase (AVP1) gene. *Mol Biotech*, 56(3), 199-209.
10. Chachar, MH, Chachar NA, Chachar SD, Chachar QI Mujtaba SM, Yousafzai A. (2014). In-vitro screening technique for drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at early seedling stage. *J Agr Techn*. 10:1439-1450.
11. Marssaro AL, Morais-Lino LS, López Cruz J, Da Silva Ledo CA, Do Santos-Serejo JA. (2017). Simulation of in vitro water deficit for selecting drought-tolerant banana genotypes. *Pesq. agropec. bras.*, 52(12): 1301-1304.
12. Albiski F, Najla S, Sanoubar R, Alkabani N, Murshed R. (2012). In vitro screening of potato lines for drought tolerance. *Phys Mol Biol Plants*, 18(4), 315-321.