

## Efectos del PEG-6000 como simulador del estrés hídrico en tres variedades de musáceas cultivadas bajo condiciones in vitro

María Elena Montes de Godoy

Máster en Horticultura, Universidad de Talca, Chile

maria.montes@catolica.edu.sv

Docente Investigadora, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

Universidad Católica de El Salvador, El Salvador

### Resumen

El propósito de la investigación fue determinar la respuesta in vitro de tres cultivares de musáceas, guineo de seda (AAA), majoncho “San Andrés” (ABB) y plátano enano (AAB), bajo distintas dosis de PEG-6000 como estresante de la presión osmótica normal o ideal. Se utilizaron cormos de hijos de espada de los tres cultivares.

En el laboratorio los cormos se redujeron a 10 cm. para luego ser sometidos a desinfección. En cámara estéril se brindaron tres enjuagues con agua desmineralizada estéril. Luego, se procedió a realizar el corte de las yemas de forma longitudinal y transversal para obtener el meristema apical. Estos explantes fueron inoculados en medio de cultivo nutritivo MS (Murashige & Skoog, 1962). Las dosis de PEG utilizadas durante todas las fases fueron 0.0, 5.0, 7.5 y 10%. El fotoperiodo de incubación fue de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, con 1350 lux de intensidad, con temperatura mínima de 24 °C y máxima de 26 °C.

En la etapa de establecimiento se evaluó el porcentaje de supervivencia, encontrándose mejor adaptación en los tratamientos sin PEG. Se realizaron dos ciclos de multiplicación en los que se evaluó la tasa de producción de brotes, la cual fue menor en el segundo ciclo. En la fase de desarrollo y enraizamiento se evaluó el número de hojas, altura de planta (cm.), número y largo de raíces (cm.). El número de hojas fue relativamente estable en todos los tratamientos y en los tres cultivares. La altura de planta fue levemente mayor en majoncho con un promedio de 5.3 cm. Por otra parte, el número de raíces fue menor con las dosis de 10% en los cultivares de todos los tratamientos.

**Palabras claves:** Polietilenglicol (PEG 6000), estrés hídrico, musáceas, cultivo in vitro

### Abstract

The purpose of the research was to determine the answer in vitro of three musaceae cultivars, yellow bananas (AAA), majoncho “San Andrés” (ABB) and dwarf banana (AAB), under different doses of PEG-6000 causing the normal or ideal osmotic pressure. Children sword corms from the three cultivars were used.

In the lab, the corms were reduced to 10 centimeters and later were disinfected. In the sterile chamber, they were rinsed with demineralized water. Later, it was proceed to cut the yolk in a transversal and longitudinal form to get the apical meristem. These explants were inoculated in the middle of the nutritive cultivation MS (Murashige & Skoog, 1962) The PEG doses used during all the phases were 0.0, 5.0, 7.5 and 10%. The incubation photoperiod was 16 light hours and 8 in the dark with 1350 lux of intensity, with a minimum temperature of 24°C and a maximum of 26°C.

In the establishing stage, the survival percentage was evaluated, finding a better adaptation of the treatments without PEG. Two multiplication cycles were performed and the outbreak production rates were evaluated, which was smaller in the second cycle. In the development and rooting phase, it was evaluated the number of leaves, height of the plant (cm.), number and length of the roots (cm). The number of leaves was relatively stabled in all the treatments and in the cultivars. The plant height was slightly higher in majoncho with an average of 5.3 cm. On the other hand, the number of roots was smaller with the 10% dose in the cultivars in all the treatments.

**Key words:** Polietilenglicol (PEG 6000), hydric stress, musaceae, in vitro cultivation

## 1. Introducción

El estrés hídrico es el factor ambiental que mayormente limita la producción vegetal a nivel mundial, debido a que impide el adecuado crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos (García et al., 2004; Valladares et al., 2004).

En nuestro país y en el mundo entero, el cambio climático está provocando una significativa disminución de la calidad y cantidad de alimentos; así como la calidad del medio ambiente. Se sabe que el sector agrícola es uno de los que más consumen agua y que la mayoría de plantaciones son regadas de forma artesanal e incluso las que cuentan con sistemas de riego tecnificado no hacen uso eficiente del agua, llegando en muchas regiones a sobrepasar el límite de aprovechamiento del agua. Esto ha provocado también la sobreexplotación de los recursos hídricos superficiales y subterráneos, lo cual afecta grandemente el ambiente (Pérez, 2012).

Por esta situación se hace necesario que las estrategias de mejoramiento se encaminen a la obtención de cultivos resistentes a condiciones ambientales adversas, de las cuales la limitación de agua es la más grave (Covarrubias, 2007). El estrés hídrico es uno de los factores más limitantes para la producción de musáceas, ya que entre el 80 al 85% del peso fresco de una planta es agua, la cual es necesaria primordialmente para la formación de frutos. Se estima que el 85% de la plantación mundial de musáceas procede de parcelas pequeñas y huertos familiares (FAO/2011, Cit/Pérez, 2012), los cuales difícilmente tienen acceso a sistemas de riego tecnificados que hacen uso eficiente del agua. En el caso de las musáceas, que son uno de los alimentos más nutritivos y preferidos por el pueblo salvadoreño, presentan una gran limitante con respecto a las condiciones climáticas, puesto que demandan alta intensidad lumínica, bastante humedad y suelos con buen drenaje (Wagner et al., 1985).

En esta investigación se estudió el comportamiento in vitro de tres diferentes cultivares de musáceas (guineo de seda, plátano enano y majoncho “San Andrés”) en distintas concentraciones del agente estresante del contenido hídrico por excelencia, como es el Polietilenglicol-6000 (PEG) (Guía, 1998/Cit. por García et al., 2004), bajo condiciones de laboratorio, para determinar la posibilidad de encontrar algún tipo de tolerancia o resistencia al estrés hídrico en algunas de ellas; evaluándose desde la fase de establecimiento, multiplicación, desarrollo y enraizamiento.

## 2. Metodología

### 2.1 Introducción del material

El material inicial fueron 20 cormos de “hijos de espada” de cada uno de los tres cultivares de guineo de seda (AAA), plátano enano (AAB) y majoncho “San Andrés”(ABB), recolectados de parcelas de productores agrícolas. El día uno se realizó la introducción del material en el laboratorio. Para eso, los cormos se redujeron con cuchillo hasta una altura de 10 cm. para luego ser sometidos a desinfección. Primero, se realizó un lavado con el agente surfactante Tween 80, a razón de 3 gotas por 100 ml de agua. Reduciéndose nuevamente con cuchillo hasta aproximadamente 1 cm de diámetro y 3 de altura. Luego, se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (lejía comercial) al 5.25% durante 15 minutos.

En ese momento el material se llevó a cámara estéril, donde se brindaron tres enjuagues con agua desmineralizada estéril. Luego, se procedió a realizar el corte de las yemas de forma longitudinal y transversal para obtener el meristema apical de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>.

Este material fue inoculado en medio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962), con 3 mg/l de la citoquinina BAP (Bencilaminopurina), ajustando a un pH de 5.8. Las dosis de PEG utilizadas durante todas las fases fueron 0.0, 5.0, 7.5 y 10%. El fotoperiodo de incubación fue de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, con

1350 lux de intensidad, con temperatura mínima de 24 °C y máxima de 26 °C. Cada una de las etapas o fases del proceso de micropropagación tuvo una duración aproximada de 30 días. El diseño experimental utilizado fue completamente al Azar con cinco repeticiones. El análisis estadístico de los datos fue Análisis de Varianza (ANOVA), con comparación de medias por Tukey y Test de Rangos Múltiples. Se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.I.

## 2.2 Multiplicación

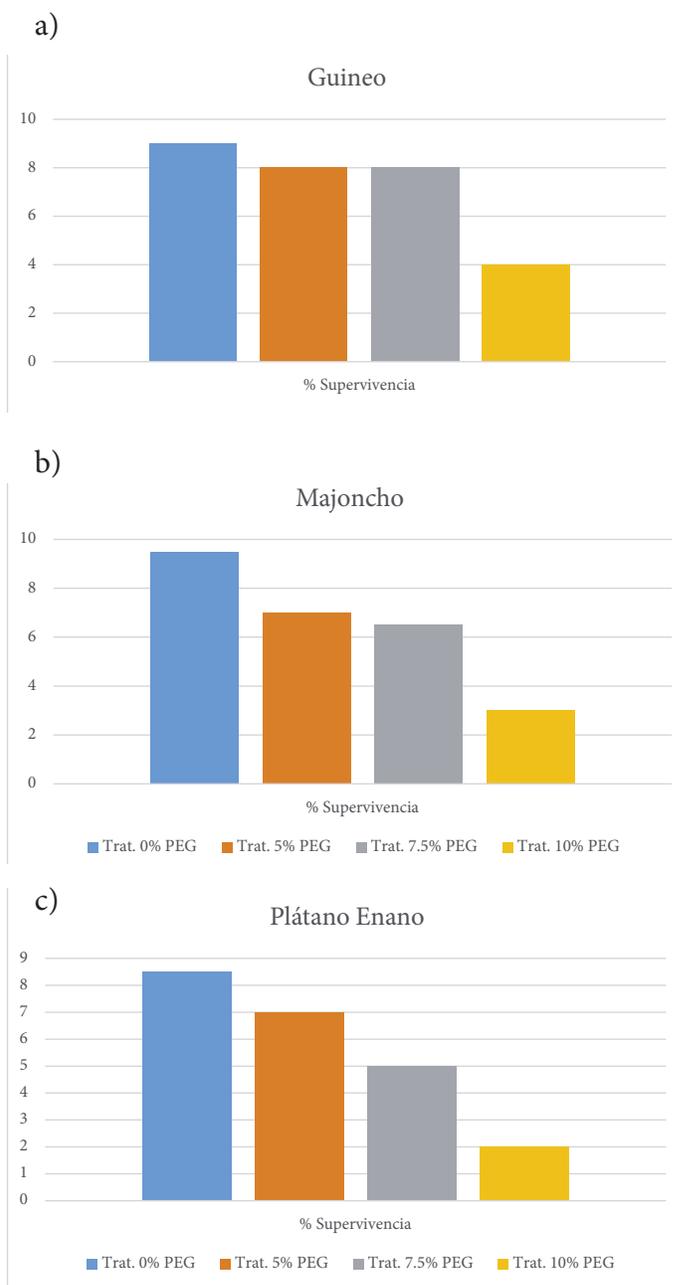
Esta etapa se realizó en dos ciclos para contar con suficiente material para los ensayos, así como para comparar las tasas de multiplicación en cada uno de los tratamientos. En todos los casos, se empleó el medio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) con 3 mg/l de BAP en dosis de PEG-6000 antes mencionadas. El fotoperiodo también fue de 16 horas luz y 8 de oscuridad con 1350 Lux de intensidad, con temperaturas entre 24- 26°C.

## 2.3 Fase de desarrollo y enraizamiento

En las musáceas, generalmente, estas etapas se fusionan en una sola, puesto que tienden naturalmente a enraizar al ser suprimidas las citoquininas del medio de cultivo, por lo que el medio nutritivo consistió también en las sales y vitaminas MS (Murashige & Skoog, 1962), pero sin reguladores de crecimiento, conservando las dosis de PEG utilizadas en las fases anteriores.

## 3. Resultados

Para la fase de establecimiento, en el caso de los tres cultivares, el mayor porcentaje de supervivencia se obtuvo con el tratamiento uno que contenía la dosis de 0% de PEG, como es de esperar, debido a que al no existir un agente estresante del sistema hídrico en el medio de cultivo, el material vegetal se desarrolló sin inconvenientes en los tres cultivares (Figura 1). En este caso, fue mejor el majoncho con un 95% de supervivencia (Figura 1a). El segundo lugar de super-



**Figura 1.** Gráfico del porcentaje de supervivencia de tres cultivares de musáceas al final de la etapa de la fase de establecimiento, en condiciones de estrés hídrico utilizando distintas dosis de PEG, a) guineo (AAA), majoncho (ABB), plátano enano (AAB).

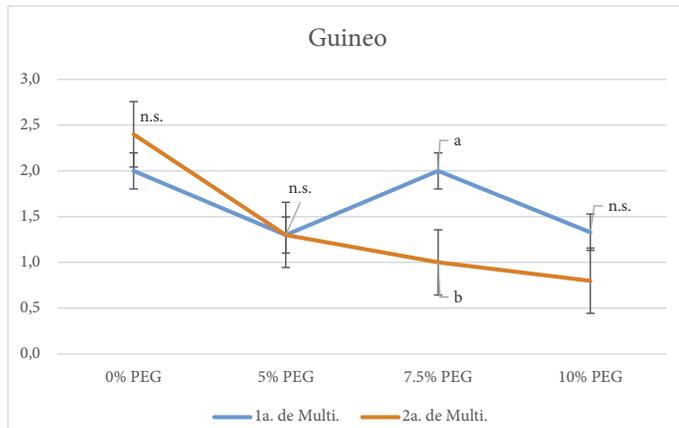
vivencia corresponde al tratamiento dos, con la dosis de 5.0 % de PEG con un 80% de supervivencia en el caso del guineo, variando los porcentajes con tendencia a disminuir en el resto de cultivares (Figuras 1b y 1c). En tercer lugar de supervivencia se encuentra la dosis de 7.5% de PEG, es decir, el tratamiento tres y en última instancia está el cuarto tratamiento, correspon-

diente a la dosis de 10% de PEG, parámetro común de poca supervivencia en los tres cultivares.

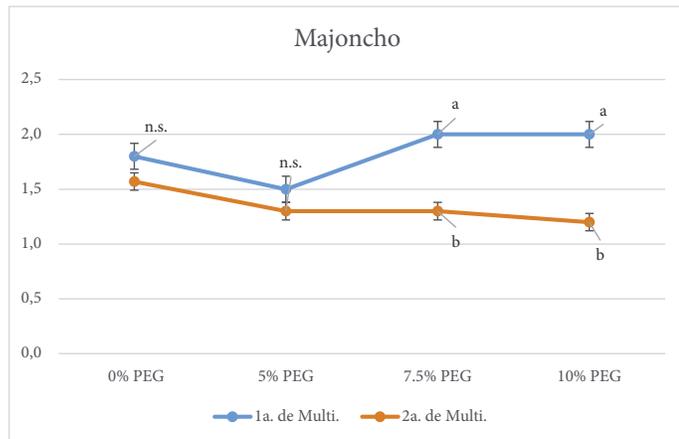
Se realizaron dos ciclos de multiplicación. En estas etapas se evaluó la tasa de multiplicación de cada dosis según el cultivar (Figura 2). En general, se observa que en la primera fase de multiplicación hubo mayor cantidad de brotes producidos que en la segunda, a excepción de los tratamientos con 0% de PEG, en el que de manera natural tiende a incrementarse la cantidad de brotes producidos.

No obstante, esta situación ocurre al contrario cuando se trata del majoncho (Figura 2b). La mayor tasa de multiplicación se obtuvo en el plátano enano con una media de 3.5 (Figura 2c). Sin embargo, de manera general fue el cultivar que presentó menor número de brotes regenerados al incluir cualquier dosis de PEG en el medio de cultivo con diferencias significativas ( $p < 0.01$ ).

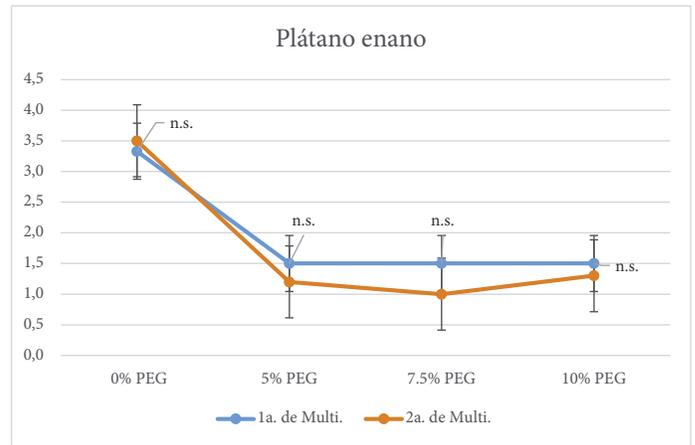
a)



b)



c)



**Figura 2.** Gráfico de comparación entre dos fases de multiplicación de musáceas de tres cultivares de musáceas con bajo distintos tratamientos de PEG, siendo guineo (AAA), majoncho (ABB) y plátano enano (AAB). La significancia estadística se evaluó al 5%.

Para la fase de desarrollo y enraizamiento se evaluaron los parámetros: número de hojas, altura de planta (cms.), número de raíces y largo de raíces (cms.). En cuanto al número de hojas producidas al final de esta fase, se tiene que, para el caso del guineo, se regeneró un mayor número de hojas con la dosis de 7.5%, con un número de 4.6 hojas/planta. No obstante, sin diferencias estadísticas (Figura 3a).

Para el caso del majoncho, casi todo estuvo uniforme, variando entre 4.8 y 5.0 hojas por planta (Figura 3b). En plátano, el mayor número de hojas se obtuvo con la dosis de 5% de PEG, con una media de 5.6 hojas sin diferencias estadísticas (Figura 3c).

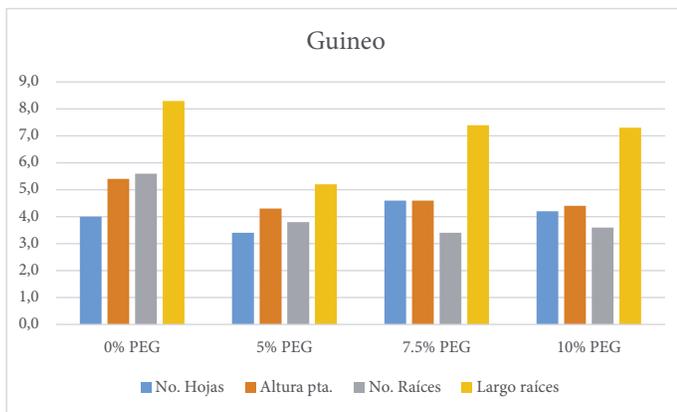
En cuanto a la altura de planta por tratamiento, con guineo, la máxima se alcanzó con 0% de PEG, con una media de 5.4 cms. de altura sin diferencias estadísticas. En el caso del majoncho, el mejor resultó ser el de 5% de PEG con una media de 6.5 cm con diferencias significativas. En el plátano las mejores alturas se alcanzaron con dosis de 5% y 7.5% de PEG sin diferencias estadísticas.



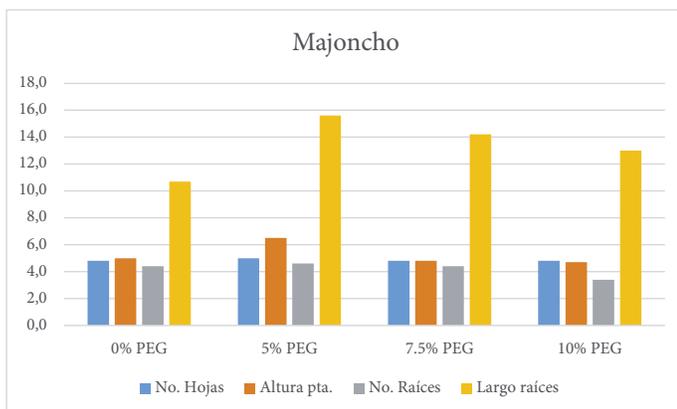
En la variable número de raíces, para el caso del guineo, fue mejor en el tratamiento de 0% de PEG con una media de 5.6 raíces/planta, sin diferencias estadísticas. Para majoncho fue similar la producción de raíces en los cuatro tratamientos, con un leve incremento en la dosis de 5%, y para el plátano enano. También se obtuvo un leve incremento en la dosis de 5% de PEG, al igual que en el caso del majoncho, sin diferencias estadísticas.

En el largo de raíces, para el caso del guineo, las de mayor longitud se obtuvieron con el tratamiento 0% de PEG, con una media de 8.3 cms., sin diferencias significativas entre los tratamientos. Con el majoncho se obtuvo la mayor longitud de raíces de los tres cultivares y de todos los tratamientos con una media de 15.6 cms. y para el plátano enano, la mayor longitud se obtuvo con el tratamiento de 7.5% de PEG, con una longitud de 8.8 cms., todo sin diferencias estadísticas.

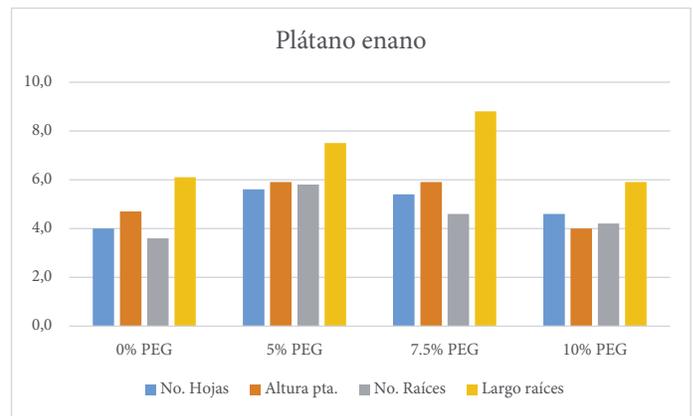
a)



b)



c)



**Figura 3.** Gráficos de Medias mostrando los parámetros evaluados en la fase de desarrollo y enraizamiento de tres cultivares musáceas en condiciones de estrés hídrico, bajo distintas dosis de PEG-6000, siendo guineo (AAA), majoncho (ABB) y plátano enano (AAB).

Otro parámetro que se verificó fue el color de hojas, aunque no se reportaron datos. Sin embargo, el color de las mismas se mantuvo entre el verde oscuro y claro y para las dosis más altas de PEG, entre 5 y 7.5%, se obtuvieron algunas hojas amarillentas y café oscuro. En la Figura 4 se muestra además, una panorámica general del crecimiento de los tres cultivares.

a)



b)



c)



**Figura 4.** Panorámica de tres cultivares de musáceas bajo condiciones de estrés hídrico bajo distintas dosis de PEG 6000, a) plátano enano (AAB), b) majoncho “San Andrés” (ABB), c) guineo de seda (AAA).

#### 4. Discusión

Para la fase de establecimiento, el mayor porcentaje de supervivencia se obtuvo en todos los casos, con el tratamiento uno, que no contenía PEG, logrando hasta el 95% como es el caso del majoncho. Es lógico pensar en este resultado, debido que al no existir un agente estresante de la condición osmótica en el medio de cultivo, el material vegetal se estableció sin mayores inconvenientes, continuando en secuencia decrecien-

te de supervivencia hasta llegar a la dosis de 10% de PEG, que en el caso del plátano enano llegó a un 2%. Es decir, que la relación fue inversamente proporcional al incremento de dosis de PEG, correspondió una disminución en la supervivencia de los explantes.

En la fase de multiplicación, los explantes de manera natural tienden a incrementarse en número según transcurren los ciclos. Sin embargo, al incluir PEG en los medios de cultivo, se observa una disminución en la producción durante la segunda fase, esto podría deberse a que los tejidos con el transcurrir del tiempo hayan acumulado mayores niveles de PEG o al menos siendo menos tolerante al mismo; situación similar sucedió con arroz (*Oriza sativa*) (García et al., 2004) y maíz (*Zea mays*). En este último, se reportó que al tercer ciclo de estar en medios nutritivos conteniendo PEG se redujo el peso de los brotes regenerados (Castro-Montes et al., 2009). En este caso, los tratamientos que no incluyeron PEG sí incrementaron su número, en el caso del guineo y del plátano. El plátano fue el cultivar con mayor tasa de multiplicación siendo 3.5. No obstante, el número de brotes siempre fue menor comparativamente con los otros cultivares.

En la fase de desarrollo y enraizamiento el número de hojas se mantuvo entre cuatro y cinco por planta en todos los tratamientos. La misma situación se reportó en maíz, donde los tratamientos con distintas dosis de PEG-8000 no variaron en el número de hojas producidas con respecto a los que no lo contenían (Castro-Montes et al., 2009).

En cuanto a la altura de planta, la medida menor fue de 4.0 cm, correspondiendo en los tres cultivares, a la dosis más alta de PEG, siendo 10%. Este comportamiento parece lógico puesto que entre mayor sea la concentración del agente estresante de la condición osmótica, a la planta se le hace más difícil la supervivencia y por ende mantener las características morfológicas normales. En otro estudio con *Musa acuminata* AAA, ocurrió que las plantas sometidas a déficit hídrico presentaron una disminución de altu-

ra de 13.5% con respecto a plantas control (Serrano, 2005). Situación parecida se ha encontrado en maíz (Castro-Montes et al., 2009), en donde líneas de maíz sometidas a condiciones de estrés hídrico presentaron alturas disminuidas entre el 10 y 20% con respecto a los tratamientos sin PEG-8000.

Sobre el número y largo de raíces se puede mencionar que tampoco fueron parámetros significativos, solamente que en plátano enano los tratamientos que no contenían PEG tuvieron menor cantidad de raíces regeneradas y una menor longitud. De los tres cultivares, el majoncho fue el que presentó mayor largo de raíces, sin importar la dosis de PEG. De hecho, los tratamientos que lo incluyeron tuvieron una mayor longitud. No obstante, sin incidencia significativa. Según mencionan los autores del trabajo de maíz y también observado en girasol (Turhan y Baser, 2004/Cit. por Castro-Montes et al., 2009), se pueden obtener distintas respuestas morfológicas de cultivos in vitro al ser sometidos a estrés. Similar resultado se ha observado en esta investigación con respecto a los cultivares de musáceas evaluados.

## 5. Referencias

- Barra, M., Correa, J., Salazar, E. y Sagredo, B. (2012). Evaluación de la respuesta a estrés hídrico de germoplasma de papa (*Solanum tuberosum*), bajo condiciones in vitro. Recuperado de: [www.abbabatatabrasileira.com.br/](http://www.abbabatatabrasileira.com.br/).
- Castro-Montes, I.; López-Peralta, M.C. y González-Hernández, V.A. (2009). Evaluación morfo-fisiológica de brotes de maíz sometidos a selección in vitro bajo estrés osmótico. *Rev. Fitotec. Mex.* 32 (4):281-288.
- Covarrubias, A. (2007). Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. *Biotecnología V14CS3*.
- FAO. (2000). El Riego en América Latina y el Caribe en Cifras. Recuperado de: <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/regions/lac/indexesp5.stm>
- García, A.; Marrero, M.T. y González, M.C. (2004). Respuesta in vitro de variedades de arroz a condiciones de estrés hídrico. *Biología Vegetal* 3:131-137.

Una vez establecidos in vitro los tres cultivares de musáceas mostraron, en general, respuesta positiva comparable a la de los tratamientos sin estrés osmótico. Por lo que se puede decir que la selección por tolerancia al estrés osmótico mediante las técnicas de cultivo de tejidos vegetales puede ser comparable a la de campo, lo cual concuerda con lo expresado por varios autores (Dobranski et al., 2003; Gopal et al., 2008/Cit. por Barra et al., 2012). Es complicado mencionar en términos generales cuál ha sido el cultivar con mayor tolerancia a las condiciones de estrés hídrico simulado en el laboratorio, debido a que al ser evaluados varios parámetros no se puede generalizar la superioridad de ninguno de ellos.

Sin embargo, se puede decir que el porcentaje de supervivencia fue mejor para guineo, la mejor tasa de multiplicación se obtuvo con plátano enano y que en la fase de desarrollo fue mejor tolerada por plátano enano y por majoncho.

- Guzmán, S.M. (2010). Evaluación de la productividad del agua en el cultivo de banano (*Musa AAA Simmonds*) para la zona de Santa Marta por medio de la variación de tres coeficientes de cultivo (Kc). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. 92p.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Peñas, P.E. (2005). Necesidades hídricas del banano y del plátano. Monografía. Ministerio de Educación Superior. Centro Universitario de las Tunas, Facultad de Ciencias Agrícolas. Ed. Universitario. La Habana-Cuba. 64 p.
- Pérez Valdivia, E. (2012). Respuesta de nueve cultivares de musáceas en la etapa vegetativa a cuatro niveles de sombra agroforestal. Tesis Magister Scientiae, Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica. 83 p.
- Serrano H., M. (2005). Influencia del estrés hídrico sobre el crecimiento de plántulas de platanera (*Musa acuminata* Colla AAA). Tesis Técnico Agrícola. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria, España. Recuperado de: <http://www.icia.es/icia/download/suelosyriegos/Fin%20de%20carrera%201J.pdf>.
- Valladares, F.; Vilagrosa, A.; Peñuelas, J.; Ogaya, R.; Camarero, J.J.; Corcuera, L.; Sisó, S. y Gil-Pelegrín, E. (2004). Estrés hídrico: Ecofisiología y escalas de la sequía. En: Valladares, F. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Pp: 163-190. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S.A. Madrid.
- Wagner, M. y Haddad, O. 1985. Influencia de diferentes frecuencias de riego en el comportamiento de tres clones de musáceas. *Agronomía Tropical* 35(4-6): 91-103.1985.