

Marcadores morfológicos en FHIA-21 (*Musa AAAB*) para la selección temprana al carácter altura de la planta en casa de cultivo

Idalmis Bermúdez-Carabaloso^{1*}, Delia Luisa Álvarez-Vázquez¹, Maritza Reyes¹, Mayelin Rodríguez¹, Leonardo Rivero¹, Claudia Beatriz Rodríguez Sierra^{1,2*}

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Cara, Cuba. CP 54830.

²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830.

RESUMEN

La inducción de mutaciones en programas de mejoramiento genético asistidos por biotecnología requiere de la evaluación de grandes poblaciones de plantas. Contar con un sistema de selección temprana permite acortar los esquemas de mejoramiento genético en el tiempo y disminuir el tamaño de la población de plantas evaluada en campo. La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar marcadores morfológicos en FHIA-21 (*Musa AAAB*) para la selección temprana al carácter altura de la planta, en condiciones de casa de cultivo. En plantas *in vitro* se aplicó ácido giberélico (GA₃) disuelto en agua destilada (50, 100 y 150 mg l⁻¹) directamente sobre el haz y el envés de las hojas a los 15 y 21 días después del trasplante (ddt) de bandejas a macetas. En las plantas control sólo se aplicó agua destilada. Se evaluaron las variables: altura de la planta (cm), número de hojas, largo y ancho de la segunda hoja emitida (cm) y largo del peciolo de la segunda hoja emitida (cm). Los resultados evidenciaron un incremento de los valores de todas las variables evaluadas, independientemente de la concentración de GA₃ aplicada. En relación con el tiempo y el número de aplicaciones, para todos los casos el mayor valor se obtuvo con dos aplicaciones (21 ddt). De los caracteres morfológicos evaluados los que permitieron distinguir entre plantas de porte bajo en orden decreciente fueron: el largo del peciolo, altura de las plantas y largo de la segunda hoja emitida. Con la aplicación de GA₃ se puede utilizar el carácter altura de la planta para seleccionar a nivel de casa de cultivo plantas de FHIA 21 (*Musa AAAB*) con variaciones fenotípicas en poblaciones con variabilidad inducida por radiaciones.

Editora:

Yelenys Alvarado-Capó
Instituto de las
Biotecnología de las
Plantas, Universidad
Central Marta Abreu de
Las Villas.

*Correspondencia:

e-mail:
idalmis@ibp.co.cu

Recibido: 30-10-2023

Aceptado: 26-12-2023

Copyright:

Este es un artículo de
acceso abierto
distribuido bajo una
Licencia Creative
Commons Atribución-
NoComercial 4.0
Internacional (CC BY-NC
4.0)
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido
su uso, distribución o
reproducción citando la
fuente original y los
autores.

Palabras clave: bananos y plátanos, mutante enano, largo del peciolo, variaciones fenotípicas

Morphological markers in FHIA-21 (*Musa AAAB*) for early selection to plant height traits in greenhouse

ABSTRACT

The use of mutation induction in genetic improvement programs assisted by Biotechnology requires the evaluation of large plant populations. Therefore, having an early selection system would allow the improvement schemes to be shortened and the size of the population to be evaluated in the field phase would be significantly reduced. The present investigation was carried out with the objective this research was to determine morphological markers in FHIA-21 (*Musa AAAB*) for arly selection of plant height traits under greenhouse conditions.

GA₃ dissolved in distilled water was applied at doses of 0, 50, 100 and 150 mg l⁻¹ at 15 and 21 days after transplantation. In the control plants, only distilled water was applied. The following variables were evaluated: plant height (cm), number of leaves, length and width of the second emitted leaf (cm), length of the petiole of the second emitted leaf (cm). As results, an increase was obtained in all the variables evaluated regardless of the concentration of GA₃ applied, in relation to the time and number of applications, showing in all cases the highest value at 21 days (two applications) with significant differences with compared to 15 days (one application). Of the morphological characters evaluated, those that allowed us to distinguish between short plants in decreasing order at 21 days were: the length of the petiole, the height of the plants and the length of the second leaf emitted. With the application of GA₃, the plant height trait can be used to select FHIA-21 (*Musa* AAAB) plants with phenotypic variations in populations with radiation-induced variability at the greenhouse level.

Keywords: bananas and plantains, dwarf mutant, phenotypic variations, length of the petiole

INTRODUCCIÓN

En Cuba la disponibilidad de cultivares de porte bajo en plátanos y bananos reviste gran importancia, debido principalmente a las afectaciones por fuertes lluvias y huracanes. Adicionalmente, las plantas de porte alto dificultan la cosecha, requieren de tutores para su soporte después de la emisión del racimo, lo que incrementa los costos por mayores insumos y necesidad de mano de obra en las diferentes labores (Vargas y Guzmán, 2004).

La altura de la planta es el principal determinante de la arquitectura vegetal y un rasgo agronómico y hortícola importante. Está limitado por el alargamiento del tallo y juega un papel decisivo en el rendimiento de los cultivos (Zhang *et al.*, 2008). El enanismo es uno de los rasgos más valiosos en el mejoramiento de plátanos y bananos (Chen *et al.*, 2016).

Las hormonas vegetales son uno de los principales factores que afectan la altura de las plantas y se han descubierto las funciones de las giberelinas (GA) para esta característica (Hedden y Sponsel, 2015; Wang *et al.*, 2017; Hedden, 2020; Shani *et al.*, 2024). Las giberelinas en la agricultura y la horticultura han tenido importantes aplicaciones que han incluido la germinación de semillas, desarrollo floral, diferenciación de las fibras del xilema en arboles maderables, así como en la elongación de los tallos (Shani *et al.*, 2024).

Varios estudios revelan que la deficiencia hormonal en mutantes enanos, pueden restaurarse mediante la aplicación exógena de giberelinas debido a la inhibición o bloqueo de la vía de biosíntesis de las hormonas activas (Sakamoto *et al.*, 2004). Si bien los mutantes enanos pueden convertirse en insensibles a las hormonas debido a problemas de absorción, de señales, transferencia o regulación metabólica de los genes que intervienen en las vías de señalización; estos logran recuperar dicha capacidad después de la aplicación del correspondiente activo exógeno. En estudios desarrollados por Chen *et al.* (2016) en un mutante enano del cultivar William (8818-1), estos autores lograron

restaurar la altura de las plantas mediante la aplicación de la giberelina activa GA_3 en concentraciones desde 50 hasta 200 mg l⁻¹ y concluyeron que este mutante enano era deficiente en giberelinas.

Algunos estudios realizados por Israeli *et al.* (1991), Côte *et al.* (1993) y Daniels *et al.* (1999), indicaron la posibilidad de emplear algunos caracteres morfológicos que se manifiestan desde una fase temprana como indicadores de variaciones en la altura de las plantas adultas de *Musa*. Los tipos definidos como plantas "enanos normales" han sido clasificados en la fase juvenil a los 60 días de cultivo, especialmente en plantas propagadas *in vitro* de cultivares del subgrupo Cavendish.

La concentración y la respuesta al tratamiento con determinadas concentraciones de giberelinas también se ha señalado como una característica bioquímica que permite diferenciar las plantas de porte elevado con las plantas enanas en los cultivares William (*Musa* AAA) y Grande naine (*Musa* AAA), respectivamente (Sandoval *et al.*, 1994; García *et al.*, 2004).

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado este trabajo tuvo como objetivo determinar marcadores morfológicos en FHIA-21 (*Musa* AAAB) para la selección temprana al carácter altura de la planta, en condiciones de casa de cultivo. Para ello se empleó un mutante de porte bajo obtenido en el IBP (Bermúdez-Carabaloso *et al.*, 2010) y la aplicación de ácido giberélico (GA_3) en plantas aclimatizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon plantas *in vitro* de un mutante del cultivar FHIA-21 (*Musa* AAAB) de porte bajo (IBP 14-23) obtenido a partir de la inducción de mutaciones en yemas múltiples (Bermúdez-Carabaloso *et al.*, 2010) aclimatizadas.

Condiciones de cultivo

Se plantaron 150 plantas en cajas de polietileno con una mezcla de compost y zeolita como sustrato en una proporción 80:20. A los 21 días posteriores a la plantación, se seleccionaron 20 plantas al azar para cada tratamiento, que presentaban cuatro hojas totalmente desarrolladas y fueron trasplantadas en macetas de 14.0 cm de diámetro, 9.0 cm de altura, 1 litro de volumen y 700 g de capacidad con el mismo sustrato.

Las plantas para su crecimiento se cultivaron en casa de cultivo, con una temperatura media durante el día de $30 \pm 2^\circ C$ y una humedad relativa de 70-75%. La intensidad lumínica osciló entre 224 y 457 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$, la cual se midió con un Luxómetro Extech 401025 (Extech Instruments, EUA) bajo condiciones de casa de cultivo cubierto con plástico transparente que deja pasar 70% transmisión de la intensidad luminosa. Se aplicaron tres riegos por día durante 6 minutos por microaspersión.

Efecto del ácido giberélico en plantas del mutante de bajo porte IBP 14-23 en condiciones de casa de cultivo

Con el objetivo de evaluar el efecto del GA₃ en el mutante de bajo porte de FHIA-21 (*Musa AAAB*) en condiciones de casa de cultivo, para utilizarlo como posible marcador en la selección temprana a este carácter, se aplicó GA₃ disuelto en agua destilada, en concentraciones de 50, 100 y 150 mg l⁻¹ a los 15 (una aplicación) y 21 días (dos aplicaciones) después del trasplante. Se empleó un control sin GA₃.

Las aplicaciones se realizaron antes de las 11:00 am de forma manual con una mota de algodón que se embebió en cada tratamiento de forma independiente y se aplicó sobre el haz y el envés de las hojas, así como en el pseudotallo. En las plantas control sólo se aplicó agua destilada.

La unidad experimental fue una maceta con una planta y se establecieron veinte repeticiones por tratamiento. Se determinó como finalizado el experimento cuando las nuevas hojas emitidas se tornaron de una coloración verde clara traslúcida, así como el tejido del pseudotallo y peciolo, respectivamente.

Evaluación de caracteres morfológicos

Se evaluaron a los 15 y 21 días del trasplante con dos aplicaciones con GA₃ las siguientes variables: altura de la planta (cm) (medida desde la base del pseudotallo a nivel del sustrato hasta la base de la primera hoja completamente expandida), número de hojas, largo de la segunda hoja emitida (cm), ancho de la segunda hoja emitida (cm), largo del peciolo de la segunda hoja emitida (cm). Se realizó una descripción de los caracteres fenotípicos: coloración de las hojas del peciolo y del pseudotallo.

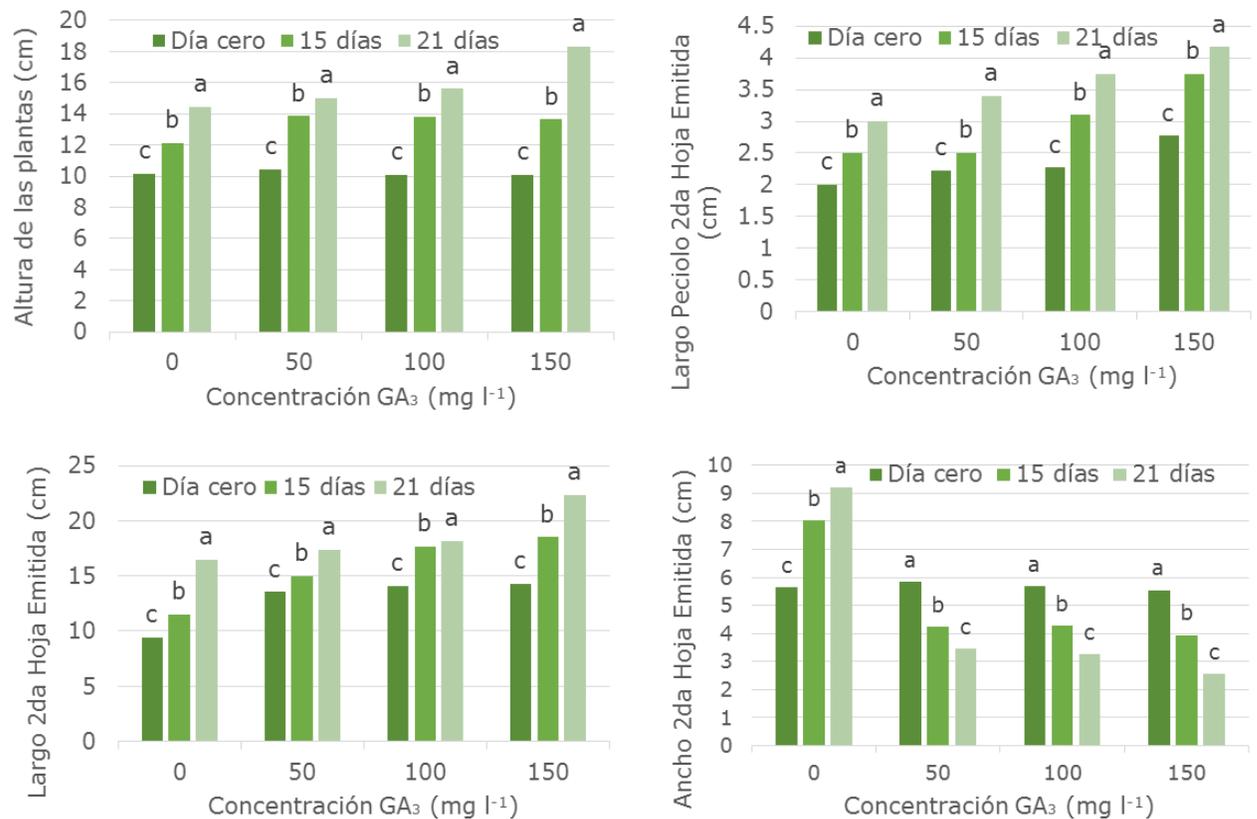
Análisis estadístico

Se utilizó el software SPSS versión 23.0. En todos los casos las diferencias significativas fueron establecidas para $p < 0.05$. Para el análisis de la normalidad de cada variable analizada se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y para la comprobación de la homogeneidad de varianza la prueba de Levene. Para la comparación entre las medias se aplicó la prueba de H de Kruskal-Wallis y para la comparación entre parejas de grupos se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del ácido giberélico en el mutante de bajo porte IBP 14-23 en condiciones de casa de cultivo

Se observó un incremento de todas las variables evaluadas independientemente de la concentración de GA₃ aplicada, en relación con el tiempo y el número de aplicaciones. Para todos los casos el mayor valor se observó a los 21 días (dos aplicaciones) con diferencias significativas con respecto a los 15 días (una aplicación) (Figura 1).



Medias con letras no comunes en cada barra para cada día de aplicación, difieren significativamente según prueba de Kruskal-Wallis para $p < 0.05$ ($n = 20$)

Figura 1. Efecto de la frecuencia de aplicación de GA₃ en el mutante FHIA-21 (*Musa AAAB*) de bajo porte IBP 14-23 en condiciones de casa de cultivo sobre caracteres morfológicos.

Al analizar los valores alcanzados en la evaluación realizada a los 15 días, se observaron diferencias entre altura, largo y ancho de la segunda hoja emitida y el largo del pecíolo. Sin embargo, estas diferencias no fueron tan marcadas como cuando se realizó la evaluación a los 21 días donde se logró una mayor diferenciación entre los tratamientos y específicamente en cuanto al carácter largo del pecíolo de la segunda hoja emitida, donde se encontró que con las concentraciones de 100 y 150 mg l⁻¹ de GA₃ se obtuvieron los mayores valores con diferencias significativas con respecto al control (Figura 3).

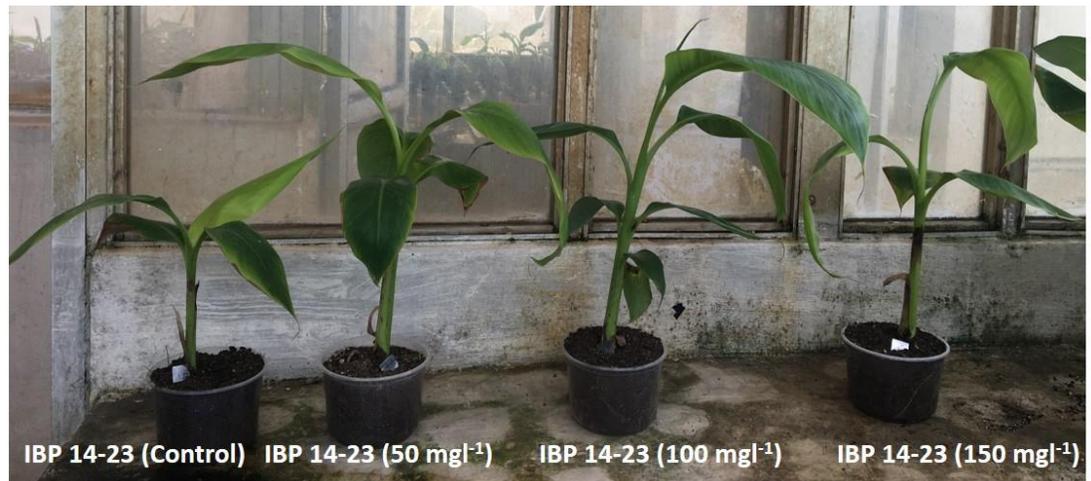
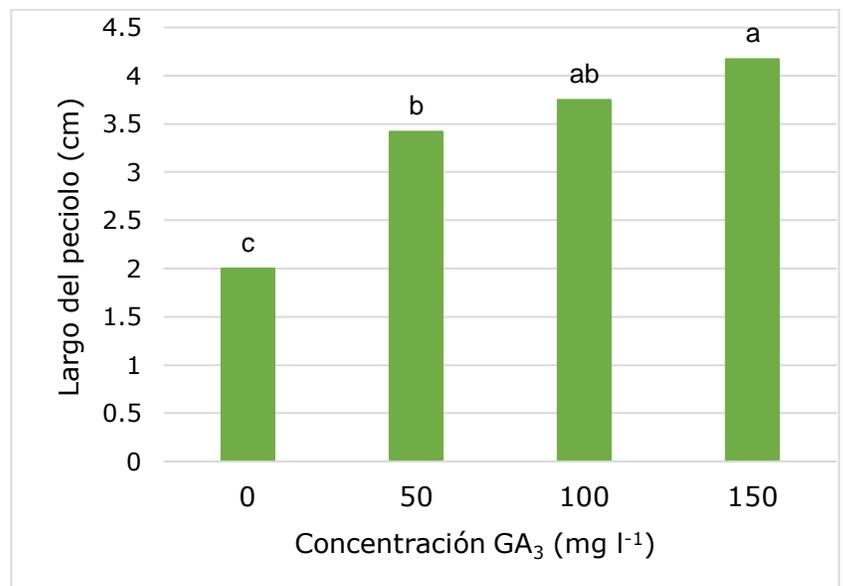


Figura 2. Efecto de la concentración de GA₃ en el mutante FHIA-21 (*Musa* AAAB) de bajo porte IBP14-23 a los 21 días en condiciones de casa de cultivo.



Medias con letras no comunes en cada barra difieren significativamente según prueba de U de Mann-Whitney para $p < 0.05$ ($n = 20$)

Figura 3. Largo del peciolo de la segunda hoja emitida en plantas del mutante FHIA-21 (*Musa* AAAB) de bajo porte IBP 14-23 tratados con diferentes concentraciones de GA₃ a los 21 días en condiciones de casa de cultivo.

De acuerdo con Smith y Hamil (1993) a las siete semanas de plantadas en la fase de aclimatización pueden ser detectadas las variantes enanas en plantas y se pueden identificar estas diferencias entre largo y ancho de la hoja y largo del peciolo. En el presente trabajo el largo del peciolo de la segunda hoja emitida fue un carácter que permitió diferenciar tempranamente entre los tratamientos.

La aplicación exógena de GA₃ (50, 100 y 150 mg l⁻¹) ejerció un efecto dependiente de la dosis sobre el mutante de FHIA-21 (IBP 14-23) a medida que aumentaban las concentraciones fue mayor la altura de las plantas. Con 100 y 150 mg l⁻¹ se obtuvieron los mayores valores con diferencias significativas con el control y con 50 mg l⁻¹ (Figura 4).

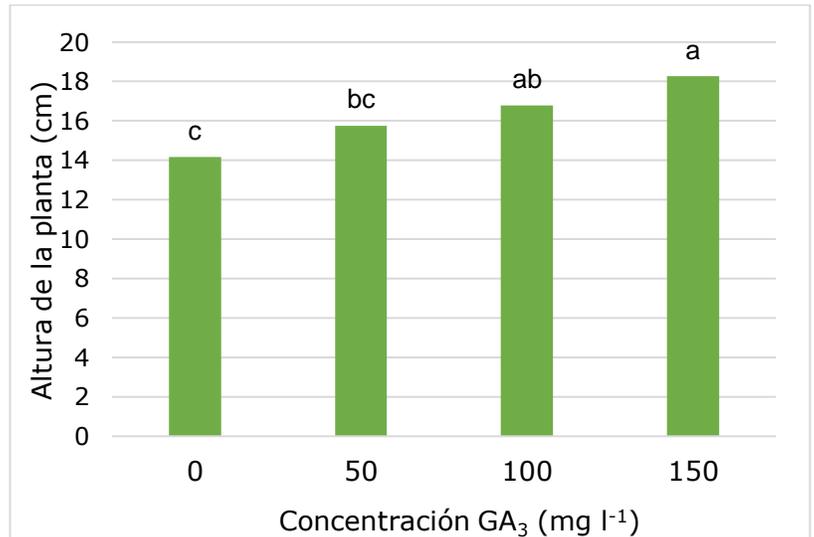


Figura 4. Altura de la planta del mutante de FHIA-21 (*Musa AAAB*) IBP 14-23 tratados con diferentes concentraciones de GA₃, a los 21 días en condiciones de casa de cultivo.

Resultados similares obtuvieron Chen *et al.* (2016) con la aplicación exógena de GA₃ (50, 100 y 200 mg l⁻¹) en el mutante enano 8818-1 del cultivar de banano Williams (*Musa AAA*); los resultados sugirieron que el tratamiento con las tres concentraciones podrían restaurar la altura de la planta a niveles incluso superiores. El GA₃ ejerció un efecto dependiente de la dosis sobre 8818-1; a medida que se incrementó la dosis más rápidamente se elongaban los pseudotallos de las plantas. Estos autores consideraron que el contenido de los giberelinas y la recuperación de la altura de la planta, en el mutante 8818-1 podría deberse a la reducción del contenido de giberelinas.

Según, Zhu *et al.* (2022) la arquitectura vegetal es el resultado de la división continua o periódica del meristemo. En las especies dicotiledóneas, la altura de la planta es promovida principalmente por el meristemo apical del tallo (Wang *et al.*, 2018). Los estudios también han demostrado que la altura de la planta y el diámetro del tallo están correlacionados positivamente. La altura de la planta exhibe plasticidad, que depende de la regulación coordinada de las señales ambientales y de las hormonas vegetales, y regulan principalmente el alargamiento del tallo al promover el alargamiento celular y aumentar el número de células (Bai *et al.*, 2012; Oh *et al.*, 2014). De las hormonas vegetales el ácido giberélico (GA₃), es una de las más importantes que regulan la altura de las plantas (Hao *et al.*, 2019).

Los caracteres morfológicos largo y ancho de la segunda hoja emitida arrojaron resultados interesantes. Con el tratamiento control 0 mg l⁻¹ y 50 mg l⁻¹ se alcanzaron los mayores valores en cuanto al ancho de la segunda hoja emitida con diferencias significativas con respecto a las concentraciones de 100 y 150 mg l⁻¹. Sin embargo, esta relación fue a la inversa en cuanto a los resultados alcanzados en el largo de la segunda hoja emitida, donde los mayores valores se obtuvieron con la concentración más alta de GA₃ de 150 mg l⁻¹ con diferencias significativas con las demás concentraciones y el control (Figura 5).

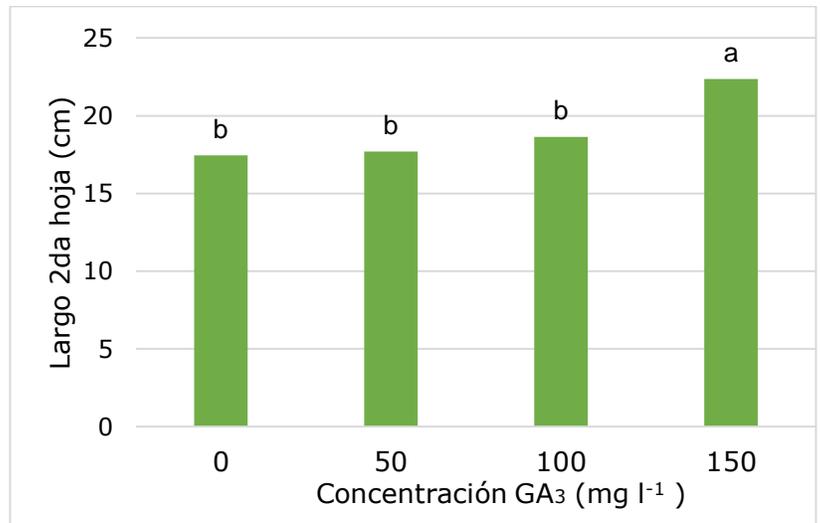


Figura 5. Largo de la segunda hoja emitida en plantas del mutante FHIA-21 (*Musa* AAAB) de bajo porte IBP-1423 tratados con diferentes concentraciones de GA₃, a los 21 días en condiciones de casa de cultivo.

Similarmente, estas características han sido descritas en plantas enanas que presentan un nivel endógeno reducido de GA₃ y una rápida respuesta de elongación del tallo y una tendencia morfológica lanceolada en comparación con sus controles, luego de una aplicación exógena de dicho regulador del crecimiento (Sandoval *et al.*, 1994).

De forma general, dentro de los caracteres morfológicos evaluados los que permitieron distinguir entre plantas de porte bajo en orden decreciente a los 21 días fueron: el largo del pecíolo, la altura de las plantas y el largo de la segunda hoja emitida; siendo el primero el que más tempranamente los diferenció.

CONCLUSIONES

La determinación de los marcadores morfológicos como: el largo del pecíolo, altura de las plantas y el largo de la segunda hoja emitida permiten diferenciar las plantas de porte bajo en FHIA-21 (*Musa* AAAB) a los 21 días en condiciones de casa de cultivo, independientemente de la concentración de GA₃ aplicada.

REFERENCIAS

- Bai MY, Shang JX, Oh E, Fan M, Bai Y, Zentella R, Sun TP, Wang Z-Y (2012) Brassinosteroid, gibberellin, and phytochrome signalling pathways impinge on a common transcription module in *Arabidopsis*. *Nat Cell Biol* 14(8): 810-817; doi: 10.1038/ncb2546
- Bermúdez-Carabaloso I, García LR, Veitía N, Padrón Y, Romero C, Orellana P (2010) Mutant plantains (*Musa* spp.) with height reduction obtained by *in vitro* mutagenesis. *Euphytica* 176: 105-112
- Chen J, Xie J, Duan Y, Hu H, Hu Y, Li W (2016) Genome-wide identification and expression profiling reveal tissue-specific expression and differentially regulated genes involved in gibberellin metabolism between Williams banana and its dwarf mutant. *BMC Plant Biology* 16: 1-18
- Cote F, Sandoval J, Marie PH, Auboiron E (1993) Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. *Fruits* 48(1): 11-20
- Daniel DD (1999) Micropropagación del Clon de Plátano, Híbrido FHIA-21 (AAAB) y sus somaclones. Tesis presentada en opción del Grado Académico Master en Biotecnología Vegetal. IBP, UCLV, Santa Clara, Cuba
- García LR, Orellana PP, Padrón JM, Bermúdez-Carabaloso I, Veitía NR, Torres R, Romero CQ (2004) Evaluación de indicadores para la selección temprana del carácter altura en *Musa* spp. *Biotecnología vegetal* 4(4): 207-212
- Hao S, Lu Y, Liu J, Bu Y, Chen Q, Ma, N (2019) GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 plays an important role in the growth regulation of dwarf apple rootstocks. *HortScience* 54(3): 416-422
- Hedden P (2020) The current status of research on gibberellin biosynthesis. *Plant Cell Physiol* 61(11): 1832-1849; doi: 10.1093/pcp/pcaa092
- Hedden P, Sponsel V (2015) A century of gibberellin research. *J Plant Growth Regul* 2015: 34(4): 740-760; doi: 10.1007/s00344-015- 9546-1
- Israeli Y, Reuveni O, Lahav E (1991) Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. *Scientia Horticulturae* 48: 71-88
- Oh E, Zhu JY, Bai MY, Arenhart RA, Sun Y, Wang ZY (2014) Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis* hypocotyl. *Elife* 3: e03031; doi: 10.7554/eLife.03031
- Sakamoto T, Miura K, Itoh H, Tatsumi T, Ueguchi-Tanaka M (2004) An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice. *Plant Physiol* 34: 1642-53
- Smith MK, Hamill SD (1993) Early detection of dwarf off-types from micropropagated Cavendish bananas. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33(5): 639-644

Sandoval J, Doumas P, Teisson C, Cote F (1994) Identificación y cuantificación de giberelinas en plantas variantes somaclonales y normales de *Musa* (cv. Grande Naine AAA) mediante HPLC y espectrometría de masa. ACORBAT, San José

Shani E, Hedden P, Sun TP (2024) Highlights in gibberellin research: a tale of the dwarf and the slender. *Plant Physiology* 195(1): 111

Vargas, A, Guzmán M (2004) Efecto del deshije sobre la resistencia de FHIA-23 y SH-3436-9 a enfermedades y plagas. *INFOMUSA* 13(1): 20-24

Wang JJ, Wang HB, Ding L, Song AP, Shen F, Jiang JF (2017) Transcriptomic and hormone analyses reveal mechanisms underlying petal elongation in *Chrysanthemum morifolium* 'Jinba'. *Plant Mol Biol* 93(6): 593-606

Wang CC, Wang XY, Wang KX, Hu JJ, Tang MX, He W, Vander Zaag P (2018) Manipulating aeroponically grown potatoes with gibberellins and calcium nitrate. *American Journal of Potato Research* 95: 351-361

Zhang Y, Zhu Y, Peng Y, Yan D, Li Q, Wang J, He Z (2008) Gibberellin homeostasis and plant height control by EUI and a role for gibberellin in root gravity responses in rice. *Cell Research* 18(3): 412-421

Zhu L, Jiang B, Zhu J, Xiao G (2022) Auxin promotes fiber elongation by enhancing gibberellic acid biosynthesis in cotton. *Plant Biotechnology Journal* 20(3): 423

AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo que con su apoyo, colaboración y dedicación constante han permitido el desarrollo de esta investigación.

Financiamiento: Este trabajo forma parte del proyecto nacional: Propuesta de cultivares de *Musa* spp. tolerantes a factores bióticos y abióticos obtenidos por nuevos métodos biotecnológicos para el desarrollo agrícola local. Código: P131LH001.52. Los autores agradecen la contribución financiera del programa Nacional de Producción de Alimentos y su Agroindustria en la realización de esta investigación. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos. La decisión de publicar o la preparación del manuscrito, es de la institución y el colectivo de autores del proyecto.

Conflicto de interés: Los autores no declaran conflictos de intereses.

Contribución de los autores: Conceptualización IBC, DLAV; Análisis formal IBC, DLAV; Investigación IBC, DLAV, MRV, MRU, LRQ; Metodología IBC, DLAV; Escritura: Primera redacción IBC, DLAV; Escritura; Revisión y Edición IBC.

Disponibilidad de datos: Los datos del estudio se presentan en el artículo. Para otras consultas dirigirse a la autora para correspondencia.

Idalmis Bermúdez-Carabaloso, <https://orcid.org/0000-0002-6991-480X>

Delia Luisa Álvarez-Vázquez, <https://orcid.org/0000-0002-8186-9001>

Maritza Reyes-Vega, <https://orcid.org/0000-0003-0622-8922>

Mayelin Rodríguez, <https://orcid.org/0000-0003-0088-8305>

Leonardo Rivero, <https://orcid.org/0000-0003-3627-9421>

Claudia Beatriz Rodríguez Sierra, <https://orcid.org/0000-0003-0316-8311>

Cómo citar:

Bermúdez-Caraballosa I, Álvarez-Vázquez DL, Reyes M, Rodríguez M, Rivero L. Marcadores morfológicos en FHIA-21 (*Musa* AAAB) para la selección temprana al carácter altura de la planta en casa de cultivo. *Biotecnología Vegetal* 24: 240311