

DETERMINACIÓN del EFECTO del ÁCIDO 2,4 DICLOROFENOCIACÉTICO en la GERMINACIÓN *in vitro* de SEMILLAS de *PROSOPIS ALBA*

Área del Conocimiento: Cs. Agropecuarias

Becario/a: MALUK, María Eugenia

Director/a: LUNA, Claudia Verónica

Facultad: Facultad De Cs. Agrarias

E-mail: eugeniamaluk@gmail.com

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del ácido 2,4 diclorofenociacético en la germinación *in vitro* de semillas de *Prosopis alba*.

La propagación y conservación de especies vegetales es una herramienta transcendental para la preservación de la flora tanto de especies silvestres como de especies con potencial agrícola. Sin embargo, actualmente la agricultura industrializada está afectando directamente los bienes ecológicos comunitarios con la pérdida de diversidad genética de especies y del conocimiento ancestral de los sistemas de producción; juega un papel importante en rescatar técnicas tradicionales de propagación, conservación y uso de las especies vegetales, además de aportar las bases de una producción ambientalmente amigable y sostenible (1).

En tal contexto, el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales ofrece una variedad de técnicas que podrían implementarse en un proceso de mejoramiento genético, y que han sido utilizadas en la propagación de numerosas especies forestales. Aunque existen algunos reportes que demuestran la posibilidad de propagar *Prosopis*, los resultados califican al género con alto grado de recalcitrancia que afecta su capacidad morfogénica (2). Si bien, se obtuvieron plantas por germinación *in vitro* de semillas y micropropagación a partir de *seedlings* (3,4,5) y plantas adultas (6,3), aún no se cuenta con un procedimiento que admita la regeneración de plantas a través de un proceso organogénico directo que permitirá a su vez, implementar técnicas de criopreservación del germoplasma, de vital importancia en los programas de mejoramiento.

Materiales y Métodos

Se trabajó con semillas de *P. alba* procedencia identificada como "Salta Norte" cuya ubicación es 22°12'1"S, 63°40'33"O. Se ubica en el extremo Norte de la provincia de Salta. La temperatura media anual es de 21.9 °C y la precipitación media anual de 1054 mm. Se establecieron cultivos de semillas que fueron sometidas a desinfección superficial con alcohol etílico 70% durante 1 min y luego con solución acuosa de NaOCl al 5 %, por 30 minutos; previa escarificación mecánica mediante lijado manual seguido de imbibición en agua a temperatura ambiente por 24 hs. Una vez finalizado el tratamiento de desinfección, las semillas fueron enjuagadas tres veces con agua destilada estéril.

Posteriormente fueron cultivadas en el medio nutritivo de Murashige y Skoog (MS) con 30 g.L⁻¹ de sacarosa, 6,5 g.L⁻¹ de agar y diferentes concentraciones de ácido 2,4 diclorofenociacético (2,4-D): 0,05- 0,1- 0,5- 1 y 1,5 mg. L⁻¹. La incubación de semillas se realizó en cuarto de cultivo con una intensidad de luz de 36 μ mol/m² ^{seg}, un fotoperíodo de 16 horas luz y una temperatura de 27±2°C.

Parámetros evaluados: Despues de 30 días de cultivo; se determinó el porcentaje de emergencia total (% E), tiempo para iniciar la emergencia (TI), tiempo para alcanzar el 50 % de la emergencia total (TE 50) y lapso entre la ocurrencia del 10 y 90 % de la emergencia total (TE 10-90), todos con base en los valores promedios (7). El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno. La emergencia o germinación se consideró como el surgimiento y desarrollo de la plántula a una etapa en la que el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no es capaz de desarrollarse en una planta satisfactoria en condiciones favorables en el campo (8). Los conteos se realizaron cada dos días luego de iniciado el proceso de emergencia y se mantuvieron hasta que los valores permanecieron constantes por 10 días.

Resultados y Discusión

Sobre el porcentaje final (% E) no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos; aunque el tratamiento con 2,4D 1 mg. L⁻¹ presentó el mayor valor registrado. En cuanto al inicio de la emergencia (TI) se vio favorecido por la menor concentración de auxina a los 11±1 días, mientras que el tiempo requerido para alcanzar el 50 % de la emergencia total (E50), el tratamiento con 2,4D 0,1 mg. L⁻¹ fue el más favorecedor (12,33±1,15 días), en coincidencia con el lapso entre la ocurrencia del 10 y 90 % de la emergencia de las plántulas (E10-90) (tabla 1; figura 1).

Si bien no existen antecedentes del uso de esta auxina en la germinación *in vitro* de la especie; es conocido que las auxinas exógenas son necesarias para inducir divisiones mitóticas y alargamiento celular (9); y ha posibilitado la obtención de las plántulas que se consideraron normales puesto que poseían estructuras adecuadas de raíces y brotes, esenciales para su desarrollo posterior (10). En trabajos realizados en diversas especies de algarrobo como en *P. alba*, las semillas fueron escarificadas con un proceso similar al utilizado en esta experiencia antes del cultivo *in vitro* (3) y en *Prosopis glandulosa*, las semillas fueron germinadas después de un tratamiento de escarificación con ácido sulfúrico concentrado (11); no se reportó el porcentaje de germinación ni el tiempo de inicio. Las auxinas, generalmente, producen elongación y a bajas concentraciones predomina la formación de raíces adventicias; mientras que, con altas concentraciones no se producen raíces y tiene lugar, en cambio, la formación de callos (12). Cuando el nivel de auxinas en el medio de cultivo baja más de cierto umbral, las células embrionáreas comienzan un proceso de histodiferenciación (13).

Si bien son necesarios mayores estudios para poder determinar el efecto del ácido 2,4 diclorofenociacético en la germinación *in vitro* de semillas de *P. alba*, los resultados presentados, aunque preliminares, demuestran que el uso de esta auxina como suplemento en el medio de cultivo, es viable en la obtención de plantas enteras como fuente de explantes para desarrollar metodologías que provean una propagación eficiente para la especie.

Tabla 1: Parámetros evaluados en la germinación *in vitro* de *P. alba*.

Tratamiento	(% E)	TI (días)	TE 50% (días)	TE 10-90 (días)
mg. L⁻¹				
2,4D 0,05	25±1 a	11±1 c	-	-
2,4D 0,1	35±2 a	11,67±1,53 c	12,33±1,15 b	12±1 a
2,4D 0,5	42±2 a	16,67±1,53 d	19,67±0,58 d	-
2,4D 1	46±1 a	16,33±0,58 d	18±1 c	-
2,4D 1,5	-	-	-	-

Figura 1: Germinación *in vitro* de semillas de *P. alba*.

Bibliografía:

1. Altieri, M. y C. I. Nicholls (2000) [AGRO1 \(unc.edu.ar\)](http://unc.edu.ar)
2. Ramawat, K.G. y D. Nandwani (1991). Annal Arid Zone 30: 247–258.
3. Castillo de Meier, G. y O. A. Bovo (2000). Biocell 24: 89-95.
4. Minchala-Patiño, J., V. Eras-Guamán, L. Muñoz-Chamba, M. Yaguana-Arévalo, R. Poma-Angamarca y G. Delgado-Paredes (2013). Revista del Centro de Estudios y Desarrollo de la Amazonía CEDAMAZ, Vol 3 (No.1); 5-17.
5. Coronel, C.; Alzugaray, C.; Bueno, M. (2017). <http://hdl.handle.net/11185/2015>.
6. Tabone, T.J., P. Felker, R.L. Bingham, I. Reyes y S. Loughery (1986). Forest Ecology and Management, 16, 191-200.
7. Porger, R. y C. Luna (2018). Foresta Veracruzana 20(1):23-30.
8. ISTA (2016) [ISTA Rules 2016 Spanish.pdf\(umayor.cl\)](http://www.ista.org/ISTA_Rules_2016_Spanish.pdf)
9. Alvez, B. y M. Oropeza (2015). Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XVII No.2. 85-94.
10. AOSA. Association of Official Seed Analysts. (2005). <http://www.aosassd.com>.
11. Rublio, A. E. Arriaga y I. Brunner. (2002). Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Botánica 75: 83-87.
12. Margara, J. (1988). Preparación y composición de los medios nutritivos. Multiplicación Vegetativa y Cultivo *in vitro*. Los Meristemos y la Organogénesis, pp. 49-115, INRA, Madrid.
13. Parrot, W. (2002). VI Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biotecnología de Las Plantas. Villa Clara, Cuba. Pp. 7-17.

