

Estudios sobre rizogénesis en 'Guayabo del país'

Participantes

Facultad de Agronomía

Ing. Agr. Mag. Beatriz Vignale
(EEFAS)

Ing. Agr. Evelin Pechi Midón

Bach. José Pedro Scaltritti

Lic. Mag. Susana Rodriguez

Dra. Gabriela Speroni

Ing. Agr. PhD. Pablo Speranza

Ing. Agr. Mag. Silvia Ross

INIA – “Las Brujas”

Ing. Agr. MSc. Danilo Cabrera

Ing. Agr. Dra. Alicia Castillo

Objetivo general

Ajustar metodologías de propagación vegetativa para 'Guayabo del país', a partir del estudio de las bases anatómicas y fisiológicas del proceso de diferenciación de raíces adventicias en esta especie, identificando marcadores de enraizamiento que permitan desarrollar un protocolo eficiente

Objetivos específicos

- ✓ Evaluar la capacidad de enraizamiento de los materiales preseleccionados
- ✓ Identificar las fases del proceso, reconociendo factores promotores o inhibidores y en que fase actúan.
- ✓ Desarrollar un protocolo para propagar vegetativamente esta especie de manera eficiente

Evaluación de la capacidad de enraizamiento de los materiales preseleccionados

Factorial 9 x 2

9 genotipos

2 tratamientos:

2500 ppm AIB

Sin hormonas

Condiciones

HR: 90%

T basal: 25°C



Resultados del ensayo (Anava efecto clon)

Enraizadas(%)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Enraizadas(%)	96	0,52	0,47	84,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19193,45	9	2132,61	10,19	<0,0001
CLON	19155,95	8	2394,49	11,45	<0,0001
TRATAM	37,50	1	37,50	0,18	0,6731
Error	17989,88	86	209,18		
Total	37183,33	95			

Test :LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=13,47287

Error: 209,1847 gl: 86

CLON	Medias	n	E.E.	
ClonTF	2,86	14	3,87	A
Clon27-1	3,33	12	4,18	A
Clon154	9,17	12	4,18	A B
Clon118	12,50	4	7,23	A B
Clon20-2	13,33	12	4,18	A B
Clon117	18,33	12	4,18	B
Clon82-1	19,17	12	4,18	B
ClonQ92	41,67	6	5,90	C
ClonC74	45,00	12	4,18	C

Menor enraizamiento

Mayor enraizamiento

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test :LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=5,86896

Error: 209,1847 gl: 86

TRATAM	Medias	n	E.E.	
C/AUX	17,75	48	2,18	A
S/H	19,00	48	2,18	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ensayo estaquillado con genotipos contrastantes

Temperatura basal: 25°C

HR: 90%

Sustrato: perlita

2500 ppm AIB

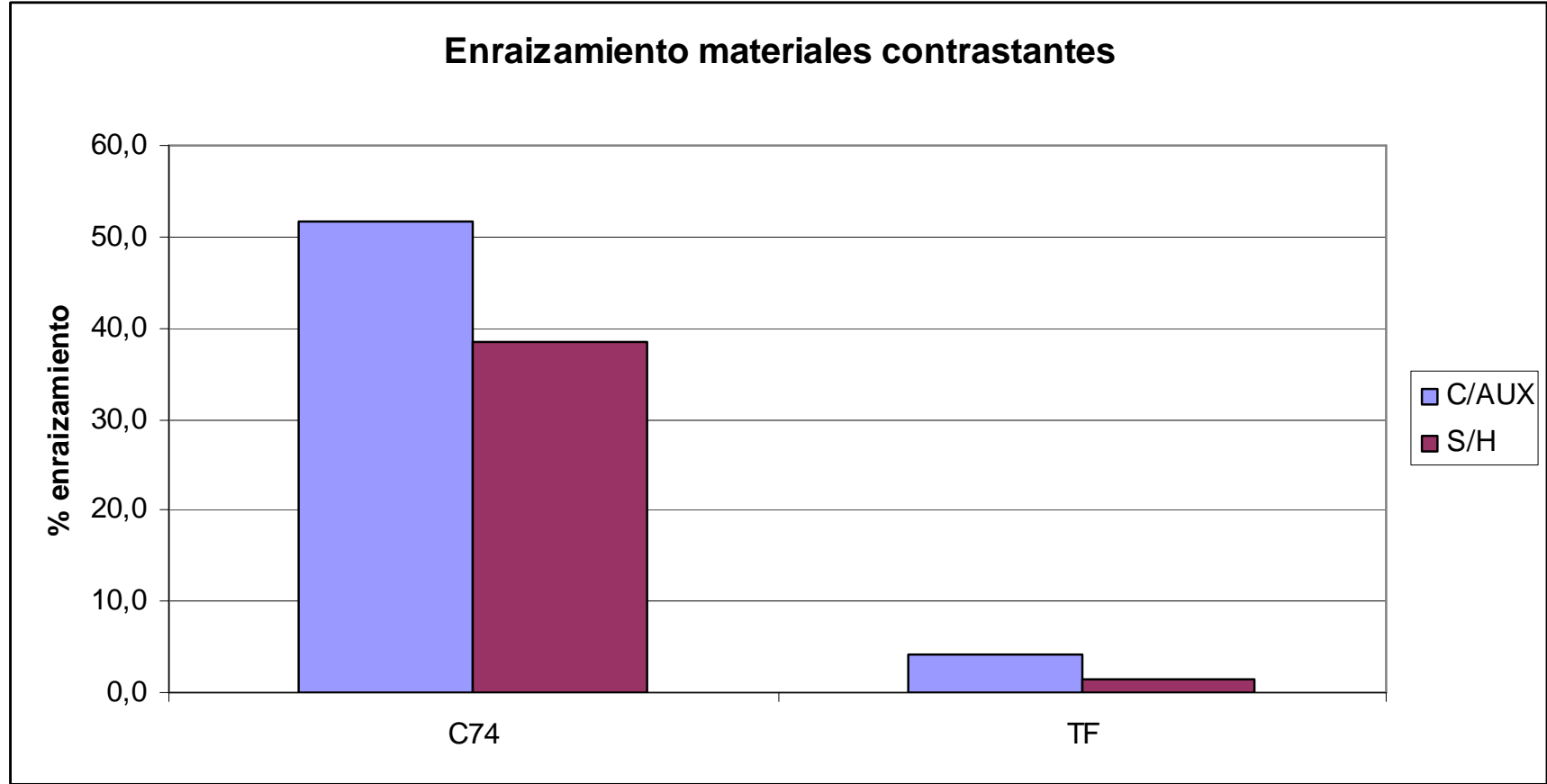
Muestreos:

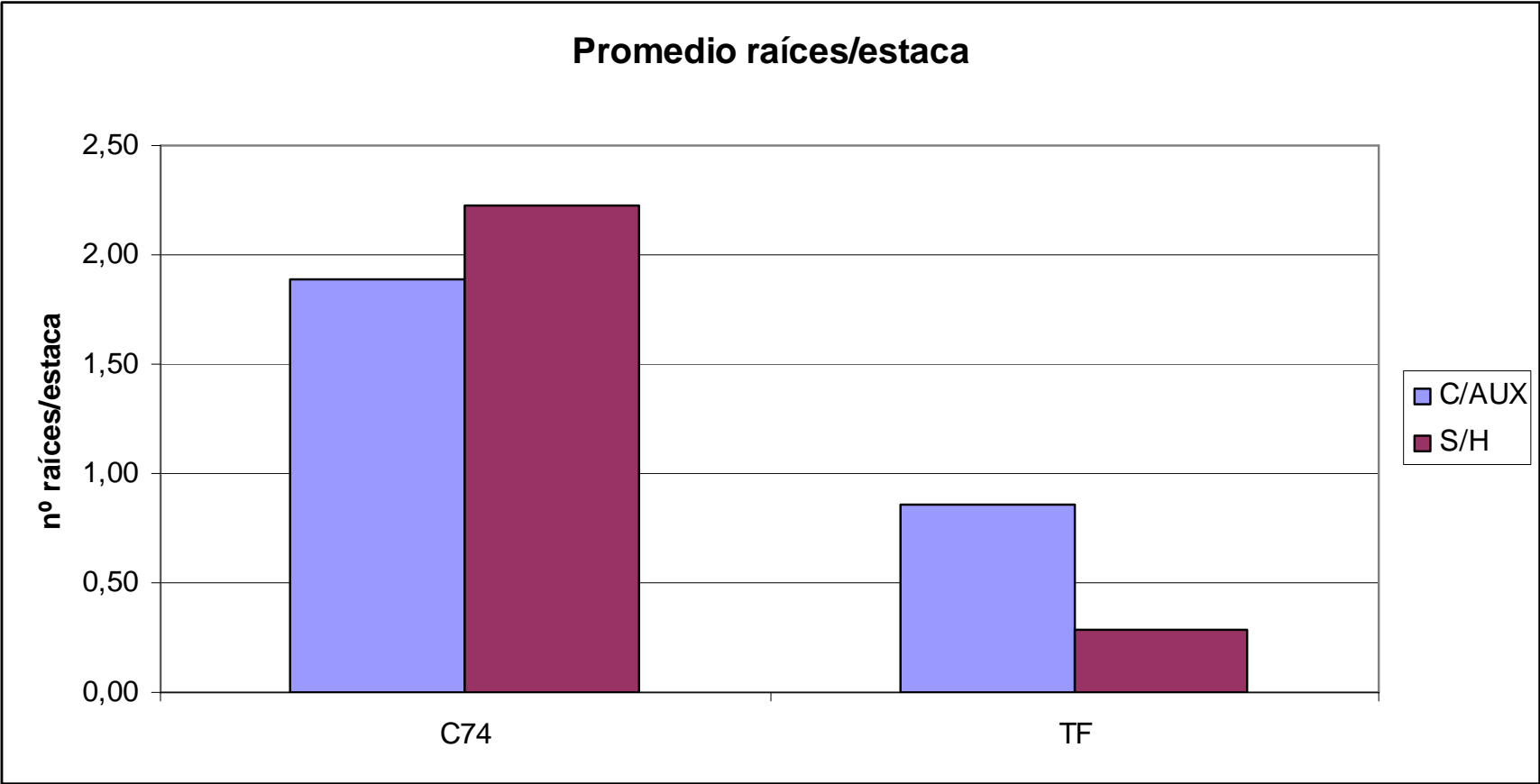
- Cortes anatómicos
- Determinaciones enzimáticas

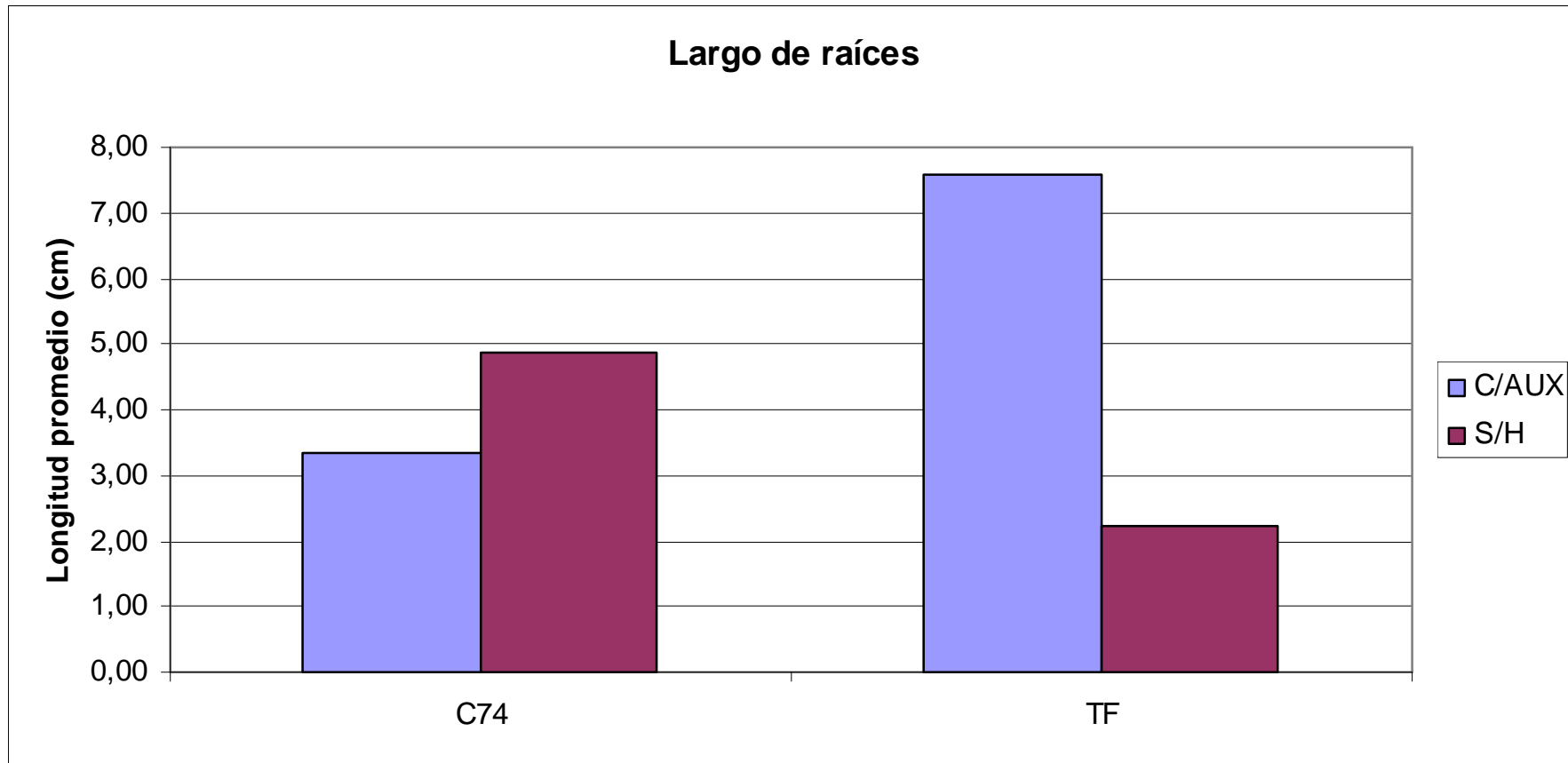
Genotipos contrastantes (TF y C-74)

Factorial: 2 x 2











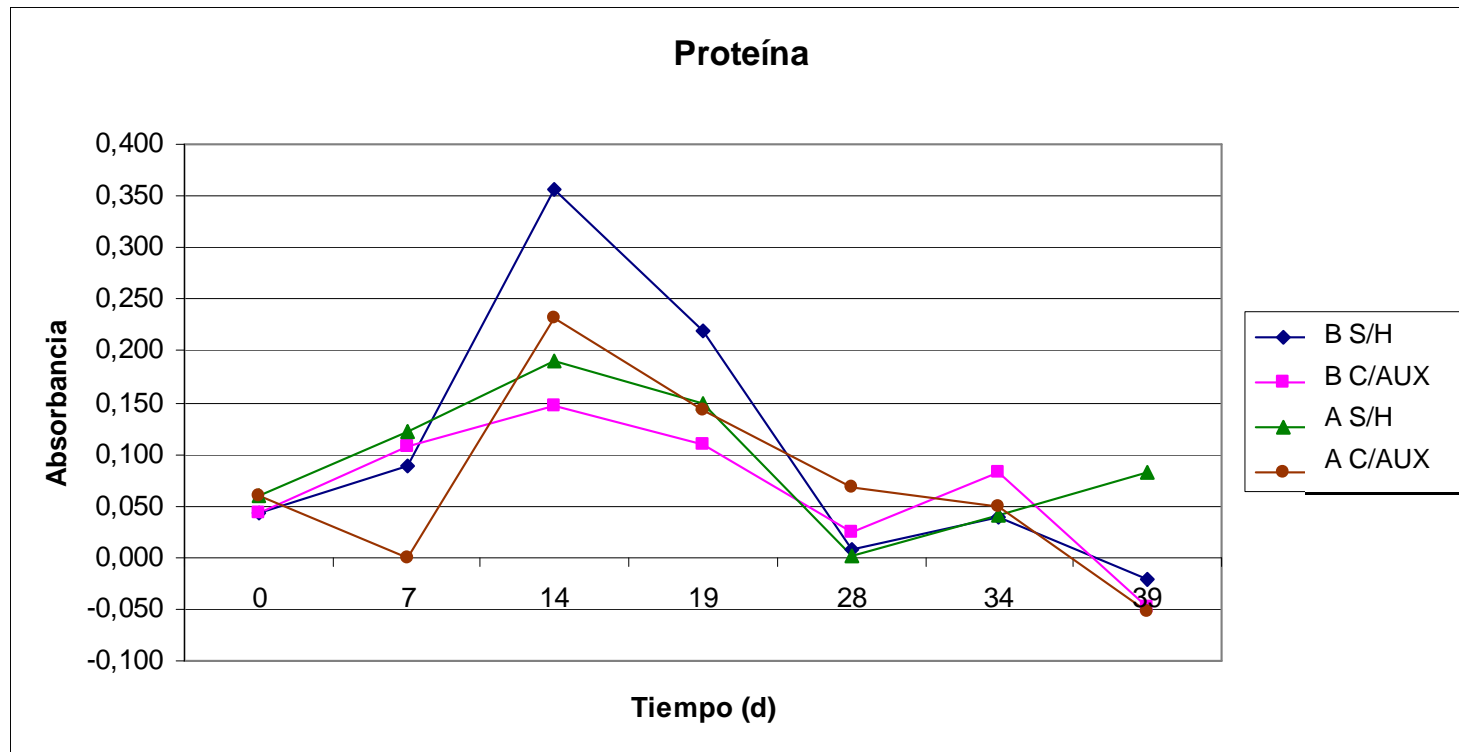


Estaca enraizada y aclimatada



Planta de estaca con flor, al año

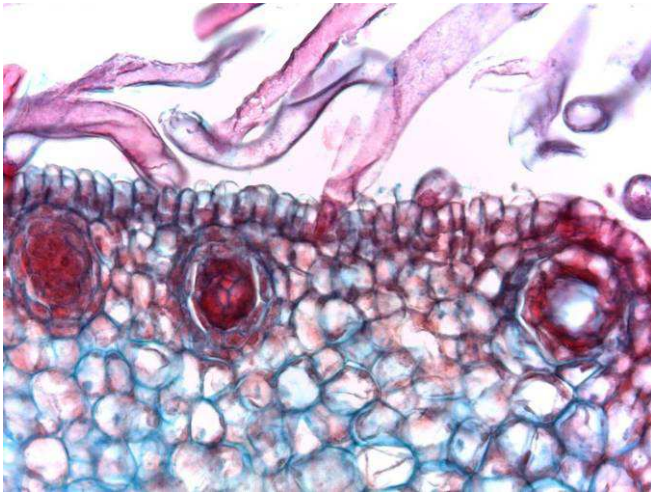
Cuantificación de proteínas totales.



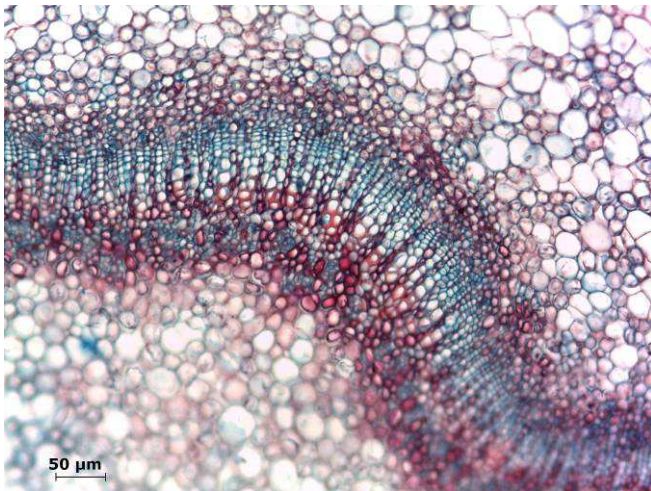
A = TF (no enraiza)

B = C-74 (enraiza)

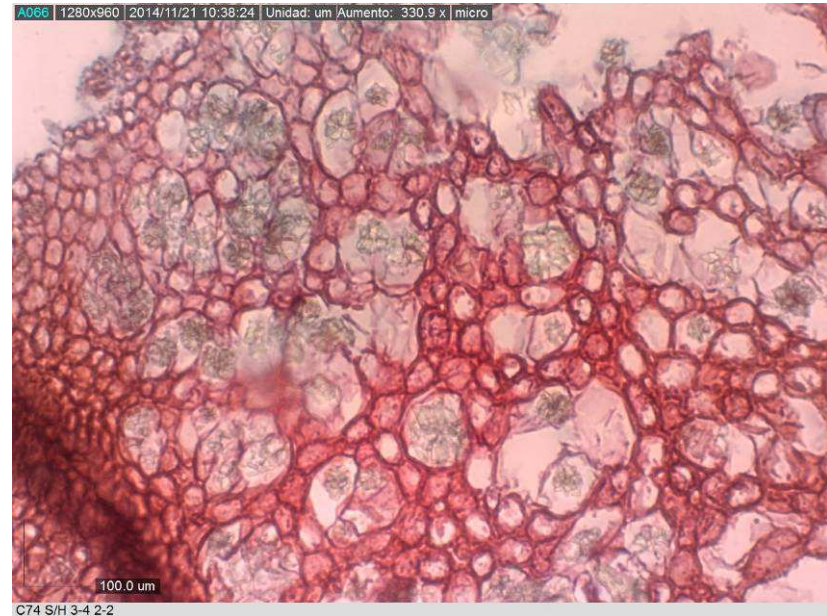
Caracterización anatómica



Formación de canales secretores



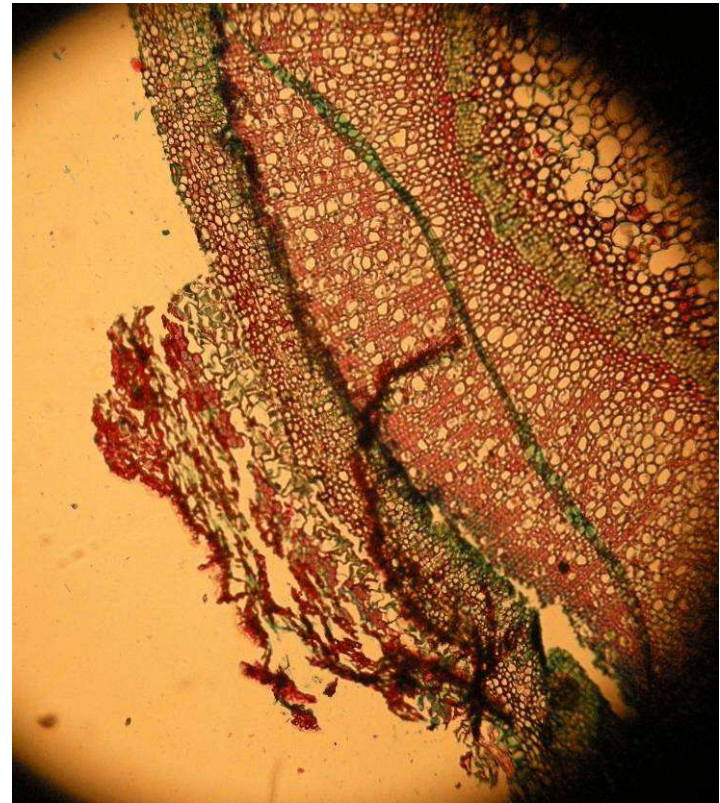
Zona cambial, xilema, floema y floema interno



Presencia de drusas



Presencia de esclerénquima TF

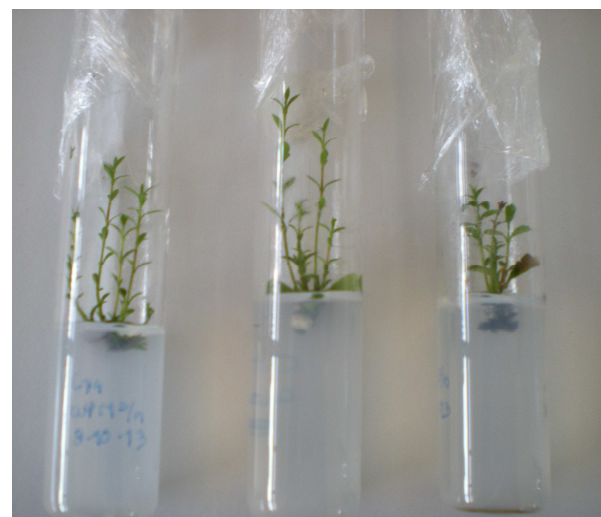


Presencia de esclerénquima (27-1)

Evaluación de multiplicación y enraizamiento *in vitro*.



Introducción
Medio WPM + PVP



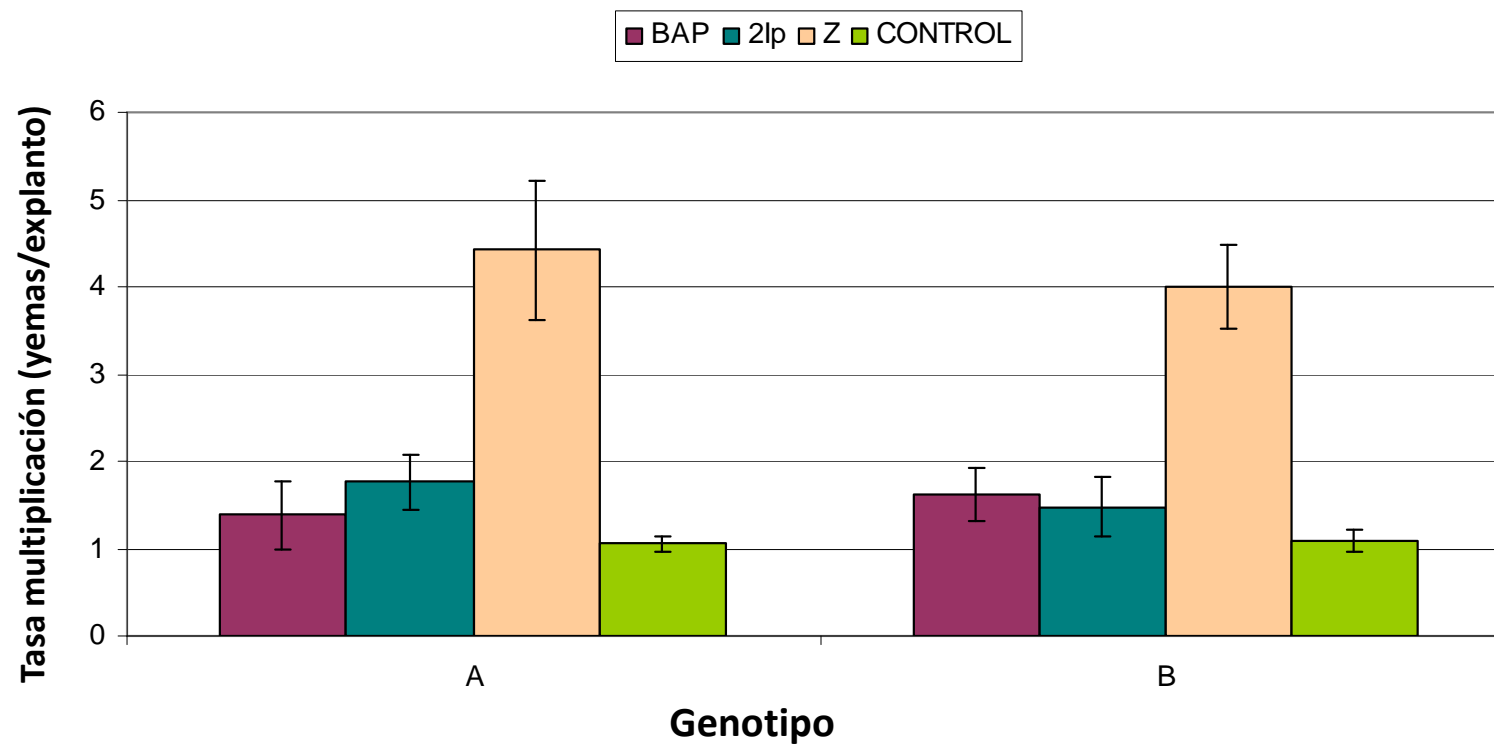
Multiplicación
Medio WPM + CK



Enraizamiento

IBA+PG IBA PG SNP CONTROL

Efecto de las citoquininas en la proliferación de yemas

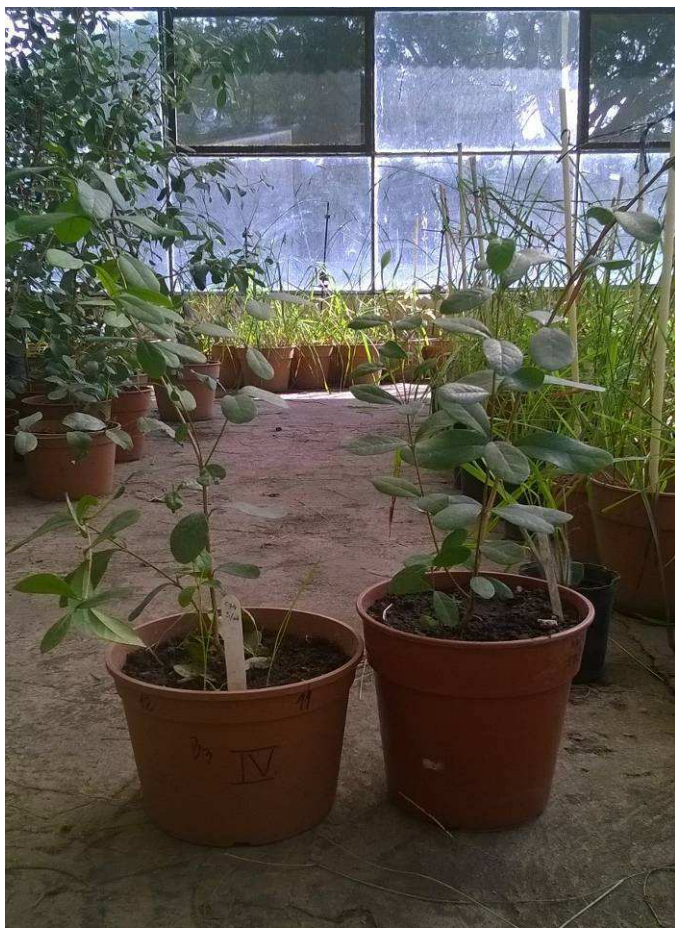


A = C-74

B = 27-1

Resultados de enraizamiento in vitro

<i>Tratamiento de enraizamiento</i>	<i>% Enraizamiento</i>		Número de raíces/microestaca	
	A	B	A	B
Control	69 ± 19.49 a	15.00 ± 7.07 a	2.17 ± 0.70 a	2.00 ± 0.00 b
PG	60 ± 33.17 a	0 ± 0.00 a	1.68 ± 0.58 a	0 ± 0.00 a
AIB	58 ± 34.21 a	62.50 ± 3.54 b	1.85 ± 0.74 a	1.00 ± 1.41 ab
SNP	60 ± 23.45 a	5.00 ± 7.07 a	2.24 ± 0.78 a	0.50 ± 0.71 a
AIB + PG	68 ± 23.87 a	20.00 ± 28.25 a	2.02 ± 0.26 a	1.00 ± 1.41 ab

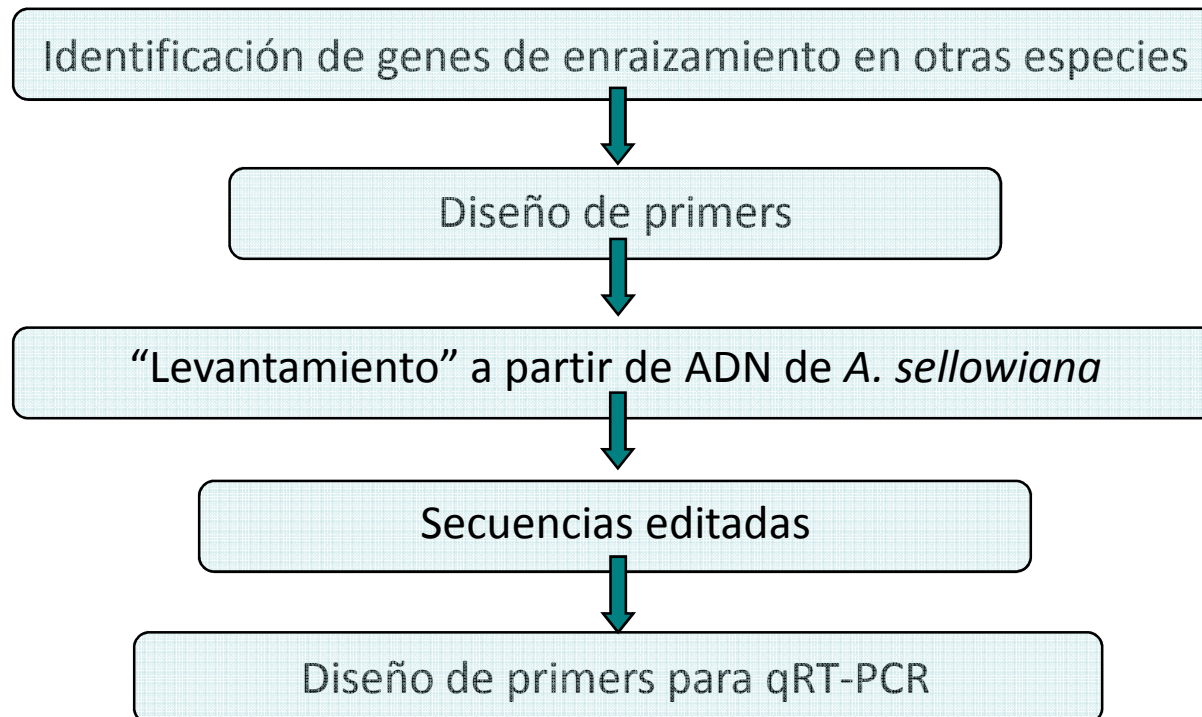


Plantas de 2 años



Planta de 1 año

Búsqueda de genes asociados a enraizamiento



Análisis de la expresión de genes en materiales contrastantes

Genes que se estudiaron

TIR	ACT2
PIN	EF2
SHR	UBI
SCR	TUA
NIA	H2B

A partir de secuencias conocidas
(*Arabidopsis*; *Eucalyptus*).

Genes que amplificaron bien y quedaron seleccionados

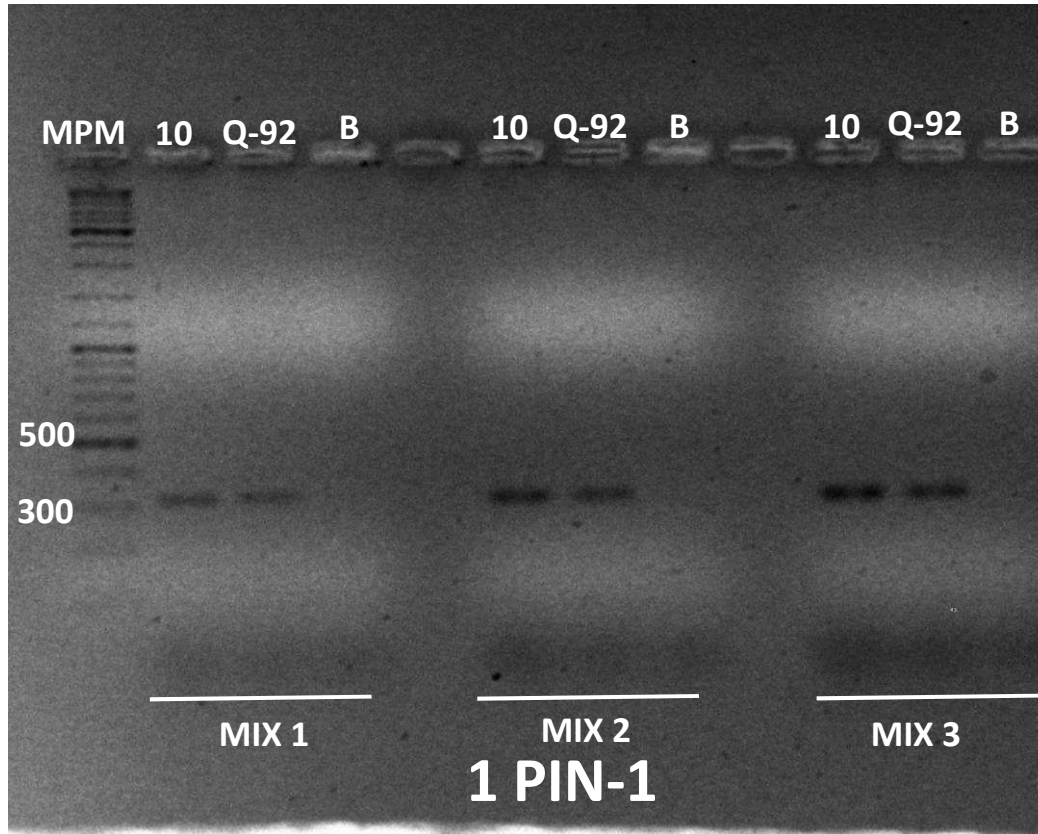
Enraizamiento

PIN (1,2)
SHR (2)
TIR (2)

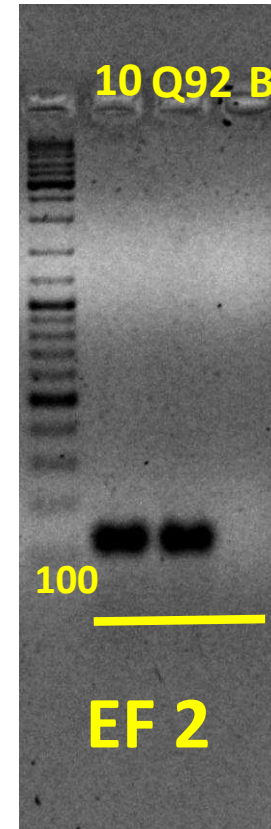
Constitutivos

H2B
EF2
UBI

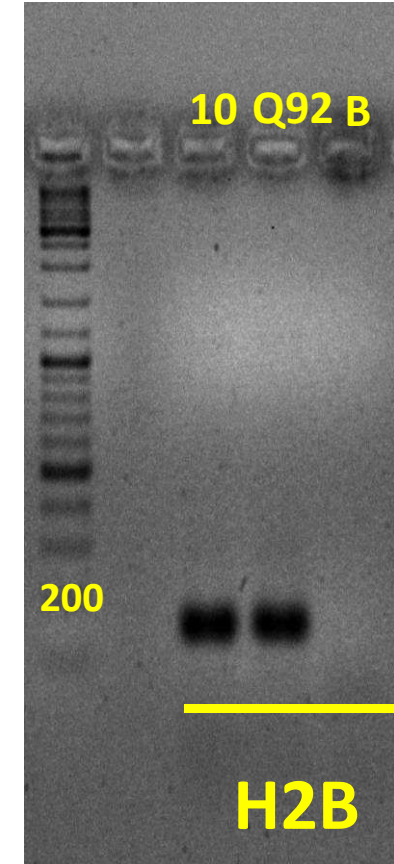
PRUEBAS EN *A. sellowiana*



3 Repeticiones para cada primer y ADN.

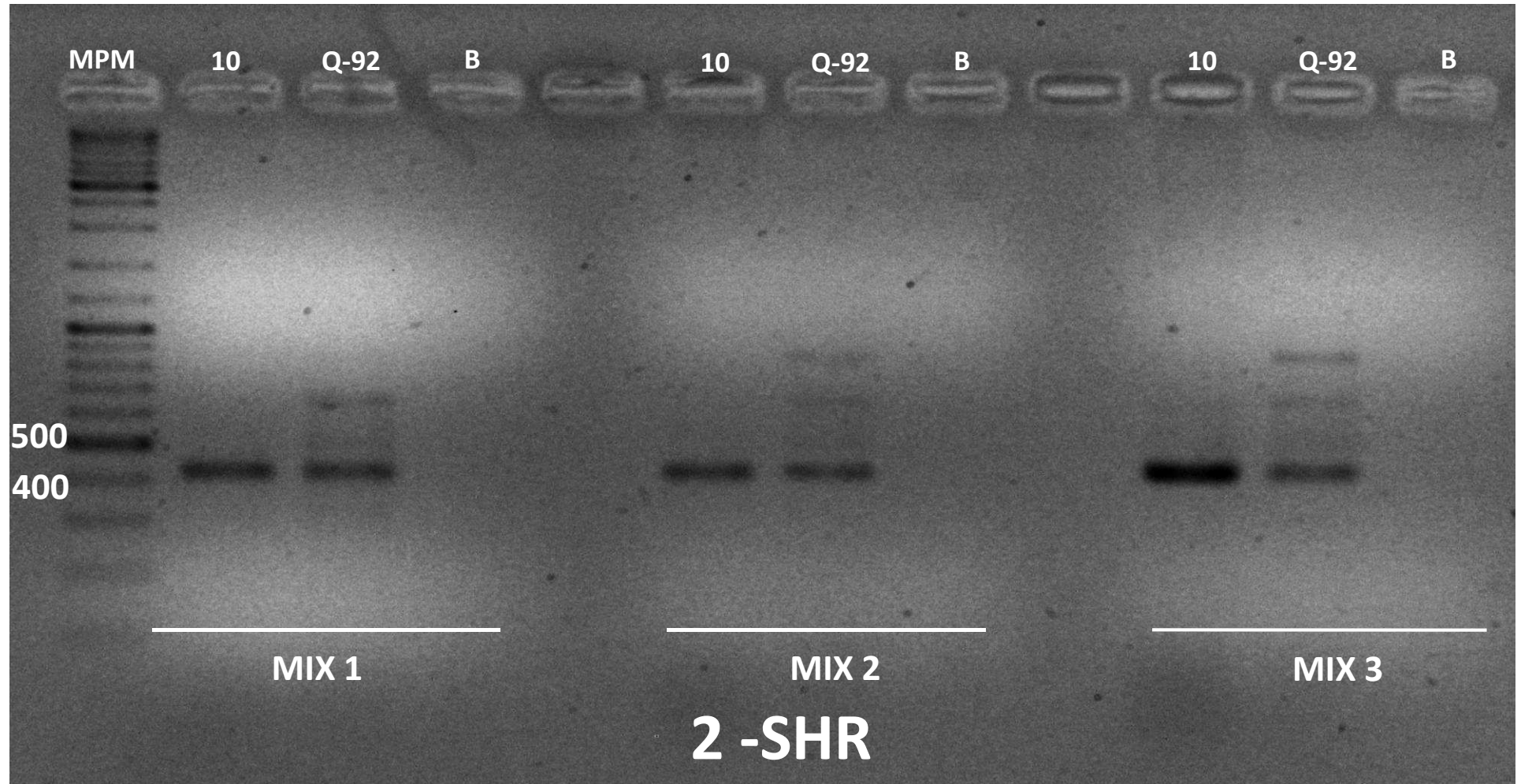


Tamaño Esperado
102 pb



Tamaño Esperado
145pb

PRUEBAS EN *A. sellowiana*



Conclusiones

El genotipo es la principal determinante de la capacidad de enraizamiento

El único tratamiento de enraizamiento que tuvo un efecto positivo in vitro fue el agregado de auxina (AIB)

No se encontró el efecto esperado con el agregado de floriglucinol o de nitroprusiato de sodio en los clones evaluados

Se identificó en *A. sellowiana* la presencia de genes que en otras especies están asociados a la diferenciación de raíces adventicias. Actualmente se estudian los niveles de expresión de estos genes en materiales contrastantes.

Muchas gracias