

# ESTRATEGIA PARA EL ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES MOLECULARES QUE CAUSAN LA VARIACIÓN SOMACLONAL EN BANANO

Carlos Noceda<sup>\*123</sup>, José Flores<sup>24</sup>, Efrén Santos<sup>23</sup>, Roberto Burbano<sup>35</sup>, Esther Peralta<sup>2</sup>, Daynet Sosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Investigador Prometeo-Senescyt, Ecuador

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Vía Perimetral Km. 30.5, Guayaquil, Ecuador

<sup>3</sup>Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción (FIMCP), ESPOL, Guayaquil, Ecuador

<sup>4</sup>Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales (FIMCBOR), ESPOL, Guayaquil, Ecuador

<sup>5</sup>Sociedad Ecuatoriana de Biotecnología C.A. (SEBIOCA), ESPOL, Guayaquil, Ecuador

Autor principal/Corresponding author, e-mail: [cnoceda@espol.edu.ec](mailto:cnoceda@espol.edu.ec)

## Resumen largo

La variación somaclonal es frecuente en cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, especialmente cuando se trata de métodos indirectos, como la embriogénesis somática vía callo. Tales variaciones pueden observarse a nivel fenotípico, pero son causadas por cambios genéticos y epigenéticos que generalmente ocurren por el proceso de micropropagación. A veces estas alteraciones son estocásticas, aunque el aumento de su frecuencia pueda deberse al proceso en sí, y su ocurrencia pueda estar más restringida a sitios más susceptibles del "(epi)genoma" (Oh et al 2007). En otras ocasiones los cambios están regulados por el organismo como respuesta a las condiciones del proceso al que se ve sometido. Ambos tipos de cambios, estocásticos y no estocásticos ("dirigidos"), pueden permanecer a lo largo de varias generaciones celulares e incluso de individuos. Sin embargo, y en especial muchos de los cambios dirigidos, revierten una vez desaparecen las condiciones que los originan. Otras veces permanecen, dando lugar a somaclones que, en ocasiones, son de interés económico.

La detección temprana de variantes somaclonales permite agilizar programas de producción y mejora, mediante descarte de variantes indeseables o explotación de variantes de interés, respectivamente, pudiendo permitir además modular la metodología de cultivo en función de los objetivos. Por tanto, un protocolo óptimo de estudio de variabilidad (epi)genética debería ser rápido, sencillo y repetible. Un valor añadido sería que aportase información sobre el tipo de cambios moleculares que ocurren en las diferentes fases del proceso, en cuanto a su localización genómica, funcionalidad y transitoriedad, que podrían orientar la optimización de protocolos de micropropagación.

El banano (*Musa* spp.) abarca cultivos económicamente importantes a nivel mundial, pero presenta diversos problemas agronómicos, tales como complicaciones fitosanitarias, senectud de las plantaciones o escasez de variedades élite (sanas y de alto rendimiento). A pesar de los esfuerzos realizados para incrementar la producción de cultivares comerciales de banano, aún existen inconvenientes con los métodos convencionales de propagación, razón por la cual es indispensable disponer de métodos de propagación eficiente que sean validados (Wendt 2002). En este sentido, la regeneración de plantas por métodos biotecnológicos está brindando herramientas innovadoras para mejorar la productividad en los cultivos. Esto constituye en muchos países un tema de estudio para lograr la estandarización de los protocolos de micropropagación.

El banano constituye un modelo para estudios sobre micropropagación mediante organogénesis adventicia y embriogénesis somática. El banano cv. 'Williams' (*Musa* AAA) presenta tras su micropropagación organogénica variación somaclonal fenotípica observable, en gran parte ya tipificada, desde microplántulas hasta el estado adulto de los regenerantes, ya en campo, en dependencia de la variante en cuestión. Entre éstas, la más

frecuente encontrada tras la multiplicación en biofábricas es una variante enana, que presenta características fenotípicas adicionales como entrenudos cortos. Esta variación puede ser neoformada (mutación o epimutación causada por el manejo micropropagativo) o preexistente (quimerismo genético o epigenético), como se refleja en estudios previos sobre el género (revisión de Nwauzoma y Jaja 2013). Nuestra propia experiencia en plátano *Musa* AAB refleja que, si bien no se detectan variaciones cuantitativas a nivel epigenético (en cuanto a metilación de citosinas) ni cromosómicas (Noceda et al 2012), sí existe cierto grado de variabilidad genética (Hernández et al 2007a), hasta el punto de que hemos encontrado un marcador molecular AFLP para variante enana (Noceda et al 2012) en el sistema micropropagativo que habíamos estandarizado (Roels et al 2005) y optimizado (Roels et al 2006, Aragón et al 2006). Si bien, permanecen las dudas acerca de si este marcador es fruto de una ruptura de quimerismo, aspecto que se pretende abordar en el estudio sobre banano que ahora se plantea

Los estudios básicos sobre variación somaclonal pueden hacerse más eficientes mediante un diseño experimental que permita el control de la genealogía de los regenerantes y de la posición anatómica de los explantos iniciales y en cada subcultivo, así como una selección adecuada de los tejidos que se vayan a someter a análisis molecular. Éste ha de optimizarse en cuanto a información obtenida/coste. Los métodos de detección de polimorfismos mediante técnicas *fingerprinting*, (Noceda et al 2012, Hernández et al 2007a y b), aunque útiles, aportan información muy parcial acerca de la variabilidad genética o epigenética total. La utilización técnicas de secuenciación de nueva generación para la detección de variantes somaclonales que se puedan producir en los mencionados procesos de morfogénesis adventicia inducida permitiría validar y optimizar con menor grado de empirismo protocolos de regeneración de plantas (Solano 2001) y de detección rápida y temprana de variantes somaclonales. Es importante además un seguimiento de la descendencia de los regenerantes. En la exposición se presentará una estrategia para el estudio de la variación somaclonal en banano.

- Aragón C, Escalona M, Capote I, Pina D, Cejas I, Rodríguez R, **Noceda C** et al (2006) *INFOMUSA* 15 (1,2): 32-35
- Hernández R, Ramírez T, Noa-Carranza JC, Rodríguez-Fernández R, Cañal MJ, Flores-Estévez N, Corujo M, **Noceda C**, Ventura J (2007b) Generation of five new *Musa* hybrids with resistance to black Sigatoka and high yield. *Amer J Agric & Biol Sci* 2(2): 43-48. doi 10.3844/ajabssp.2007.43.48
- Hernández R, Rodríguez R, Ramírez T, Cañal MJ, Guillen D, **Noceda C** et al (2007a) Genetic and morphoagronomic characterization of plantain variants of *Musa* AAB clone 'CEMSA 3/4'. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 5(1): 220-223.
- **Noceda C** et al (2012) Field performance and (epi)genetic profile of plantain (*Musa* AAB) clone 'CEMSA 3/4' plants micropropagated by temporary immersion systems. *Sci Hortic* 146: 65-75. doi 10.1016/j.scienta.2012.08.007
- Nwauzoma AB y Jaja ET (2013) A review of somaclonal variation in plantain (*Musa* spp): mechanisms and applications. *Journal of Applied Biosciences*, 67, 5252-5260
- Oh TJ et al (2007). Genomic changes associated with somaclonal variation in banana (*Musa* spp.). *Physiologia plantarum*, 129(4), 766-774
- Roels S, Escalona M, Cejas I, **Noceda C** et al (2005) Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell Tiss Org Cult* 82 (1): 57-66. doi 10.1007/s11240-004-6746-y

- Roels S, **Noceda C** et al (2006) The effect of headspace renewal in a Temporary Immersion Bioreactor on plantain (*Musa AAB*) shoot proliferation and quality. *Plant Cell Tiss Org Cult* 84 (2): 155-163. doi 10.1007/s11240-005-9013-y
- Solano W (2001) Tesis Licenciatura en. Ingenieria en. Agronomia con énfasis en fitotecnia. Turrialba, Costa, Rica., Universidad de Costa Rica. 87p
- Wendt I 2002 Manejo y gestión de la Biotecnología Agrícola apropiada para pequeños productores: estudio de caso Ecuador .REDBIO-FAO. Santiago de Chile. pp 34-35.