

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE PROTOPLASTOS EN MARACUYÁ

Isolation and Cultive of Protoplast in Passion Fruit

RICARDO RIVERA RODRÍGUEZ, MARGARITA PEREA DALLOS
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Presentado en febrero 6 de 2004, aceptado en marzo 25 de 2004

RESUMEN

En este trabajo se ajustaron las condiciones para la regeneración de plántulas a partir del cultivo de protoplastos, proceso indispensable para avanzar hacia la obtención de híbridos somáticos. Se realizó el aislamiento de protoplastos a partir de cotiledones y hojas de plántulas *in vitro* de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*; estos explantes fueron sumergidos en solución CPW13M para inducir plasmólisis. Posteriormente se ensayaron tres combinaciones enzimáticas, los mayores rendimientos fueron $6,48 \times 10^6$ y $4,60 \times 10^5$ protoplastos viables /500 mg de tejido, obtenidos respectivamente con la combinación de Celulasa R-10 al 1% y Pectolyasa Y-23 al 0,05% a partir de hojas y la solución enzimática Celulasa al 2% y Macerozima al 0,4% para cotiledones. Las mejores densidades de cultivo para los protoplastos fueron 5×10^4 protoplastos/ml para los obtenidos de cotiledones y $1,5 \times 10^5$ protoplastos/ml para los aislados de hojas, empleando el sistema de cultivo en gotas de medio KM8p solidificadas con agarosa al 0,6% y recubiertas con medio líquido KM8p con 100 g/l de glucosa y cefotaxim 300 µg/ml. Con las primeras divisiones celulares, se empezó a disminuir el nivel osmótico al renovar el medio líquido con la mezcla de medio KM8p:KM8 en proporción 3:1 y se continuó cada siete días en proporciones 2:1, 1:1 y 1:3 hasta la obtención de colonias y callos. Los callos fueron transferidos a medio MS con 2 mg/l de BAP y 1 mg/l de AIB para inducir la regeneración en condiciones de iluminación; después de seis semanas de cultivo se diferenciaron yemas, posteriormente fueron subcultivadas a medio MS sin reguladores de crecimiento para su enraizamiento.

Palabras clave: *Passiflora*, protoplastos, nivel osmótico, cefotaxim, regeneración.