

Propagación *in vitro* de Musáceas

Zuleima Piñero*
Rossmory Castañeda
Norkys Meza
Hector Carrera

Profesionales de Investigación. INIA.
Instituto nacional de investigaciones agrícolas del estado Lara. El Cují.
*Correo electrónico: zule65@yahoo.com

Los países tropicales deben establecer un modelo de producción agrícola que contribuya a garantizar la alimentación de sus pueblos, generar ingresos para los habitantes de las zonas rurales y preservar la diversidad de plantas comestibles. En Venezuela, la producción de musáceas es de gran importancia económica, debido a que es un alimento de gran valor nutritivo y de frecuente consumo fresco en todo el territorio nacional. Sus productos son comercializados en todo el país y exportados fuera de sus fronteras.

Las variedades de musáceas de mayor uso comercial, corresponden a cultivares triploides estériles. La reproducción de los plátanos y bananos se ha realizado a partir de las yemas que se forman en el cormo. Con el empleo de diversos procedimientos, se logra que las yemas una vez separadas, crezcan y se desarrollen. Debido a que es un sistema de reproducción asexual, el uso de yemas, hijuelos o secciones del cormo como material de reproducción, representa un riesgo de diseminar patógenos y enfermedades presentes en el suelo y en la planta (Ríos *et al.*, 2013).

Una de las técnicas que se usa para tratar de minimizar los riesgos antes mencionado es el cultivo *in vitro*, sin embargo, se han presentado altas tasas de variantes somaclonales. A través de las investigaciones se han logrado resolver estos problemas, existiendo en la actualidad protocolos muy eficientes que garantizan bajas tasas de variación *in vitro* y la posibilidad de selección de la mayoría de las variantes en fases temprana de desarrollo del cultivo (Ramírez *et al.*, 2011).

Millones de plantas de bananos y plátanos, obtenidas desde ápices o meristemos se han producido en varios países (Medina *et al.*, 2015). De los problemas iniciales de la aplicación de esta técnica: aparición de altas tasas de variantes somaclonales,

bajos coeficientes de proliferación y altos costos de producción, los dos primeros han sido resueltos por los investigadores, y en la actualidad existen protocolos muy eficientes que garantizan bajas tasas de variación *in vitro* y la posibilidad de selección de la mayoría de las variantes en fases temprana de desarrollo (Ortega *et al.*, 2011).

Con el uso de técnicas de cultivo *in vitro* aplicada en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara (INIA-Lara), se han logrado combinar técnicas de multiplicación y establecer un protocolo para la propagación masiva de plátanos y bananos. El resultado ha consistido en una notable reducción de los costos de producción, bajas tasas de variabilidad genética y una alta calidad de las vitroplantas de musáceas. El protocolo se describe a continuación:

Fases de la micropropagación *in vitro*

Fase 0. Preparativa

La micropropagación de musáceas requiere selección previa del germoplasma, adecuado manejo agronómico de la planta madre, con énfasis en la protección fitosanitaria del material en campo. La planta madre debe proceder directamente del campo; ser una planta joven vigorosa, sin enfermedades y ser seleccionada previamente (aproximadamente con dos meses de anticipación). Es importante someter a las plantas a estrés por déficit hídrico, al menos cinco días antes de extraer la sección de vegetal que se va usar como explante. Con la intención de garantizar la pureza genética, es deseable disponer de un banco de germoplasma con material previamente seleccionado por fitomejoradores del cultivo (Figura 1).



Figura 1. Selección de hijos Fase 0



Figura 2. Limpieza del material vegetal.

Fase I. Iniciación o establecimiento

El objetivo de esta etapa es lograr el establecimiento de los cultivos libres de enfermedades y fisiológicamente vigorosos con los cuales iniciar el proceso de propagación. El tamaño del explante en esta etapa es un factor muy influyente ya que mientras más pequeño es el explante menor es el riesgo de contaminación.

Procedimiento de desinfección del material vegetal

Se corta con mucho cuidado la parte apical, dejando 5 centímetros de pseudotallo, se retiran las raíces y se deja el cormo con un mínimo 2,5 centímetros de base (Figura 2). Se procede a lavar con agua y jabón, luego se coloca el material vegetal en un vaso precipitado, con agua destilada y jabón azul por 10 minutos en agitación (Figura 3). El material se lava tres veces con agua destilada estéril; se sumerge en una solución de hipoclorito de sodio (cloro comercial) al 3 % por 20 minutos y luego se vuelve a lavar tres veces con agua estéril.

Se procede a cortar el explante hasta dejarlo con una altura de 3 centímetros de tallo y 1,5 de base para las yemas apicales. Se vuelve a sumergir en hipoclorito de sodio al 3 % por 20 minutos. Luego es llevado a la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada, y se vuelve a lavar tres veces con agua destilada estéril. Se sumerge en un envase con una solución de cloro tapado para su iniciación (Figura 4).



Figura 3. Desinfección del material vegetal en jabón azul.



Figura 4. Material vegetal sumergido en solución de cloro al 3%.

Siembra

Se realiza en cámara de flujo laminar previamente desinfectada, con material estéril y un mechero cercano. Se trabaja sobre un vidrio estéril, con uso de bisturí y pinzas previamente sumergidos en alcohol al 70% y pasados por la flama del mechero (flameado) para su desinfección.



Figura 5. Extracción de ápices meristemáticos

Se extraen los ápices con una medida de 1 centímetros de altura y 0,5 de base (Figura 5). Se coloca un explante por tubo de ensayo, contenido de medio de cultivo estéril Murashige y Sckoog iniciación modificado para plátano. Se utiliza tapón de gasa, flameando la boca del tubo de ensayo antes y después de realizada la siembra (Figura 6). Se identifica el tubo con los datos del material y la fecha, y se coloca en cuartos de crecimiento por un tiempo aproximado de 21 días., donde se le suministra luz artificial con fotoperiodo de 16 horas.

Fase II. Multiplicación

Es la fase más importante y determinante en todo programa de propagación *in vitro*. El objetivo de esta fase es la producción del mayor número posible de propágulos (vitroplantas) a partir de explantes (meristemos apicales o axilares, yemas axilares o adventicias), ya establecidos *in vitro*.



Foto 6. Ápices con el desarrollo adecuado para iniciar la Fase de Multiplicación.

Procedimiento

Dentro de la cámara de flujo laminar previamente desinfectada, se extraen cada uno de los explantes del tubo, se cortan en secciones de 1 centímetros y se decapitan a una altura mínima de 0,4 milímetro. Luego se introducen cuatro vitroplantas en frascos con medio de cultivo Murashige y Sckoog de multiplicación modificado para plátano y se tapa el frasco con papel de aluminio (Figura 7). Se coloca en cuarto de crecimiento con condiciones controladas durante 30 días.



Figura 7. Explantes durante el desarrollo.

Fase III. Enraizamiento

Durante esta fase, cada brote, esqueje o yema es cultivada para que desarrolle raíces, a la vez que desarrolla un pseudotallo con hojas. Las raíces le permitirán a la vitroplanta aclimatizada, comenzar la absorción de nutrientes al trasplantarse sobre un sustrato y posteriormente llevarse al campo.

En cámara de flujo laminar, se extraen cada uno de los explantes del frasco. Se cortan en secciones de 1,5 centímetros y se siembran en medio de cultivo Murashige y Sckoog de enraizamiento modificado para plátano. Se tapan los frascos con papel de aluminio y se colocan en el cuarto de crecimiento en condiciones de luz y temperatura controladas, por un intervalo de tiempo entre 21 y 30 días (Figura 8).

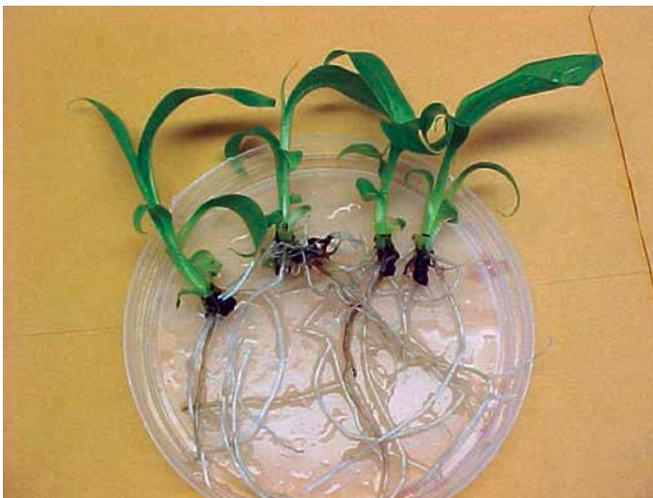


Figura 8. Vitroplantas enraizadas listas para pasar a la Fase de Aclimatización

Fase IV. Aclimatización

Durante el cultivo *in vitro* las plantas crecen bajo condiciones controladas, lo que hace necesario aplicar técnicas de aclimatización que garanticen su adaptación a las condiciones *ex vitro*. Esta etapa determina la calidad final de las plantas y la eficiencia total del proceso y es de gran importancia en los sistemas de propagación comercial. La fase de aclimatización es la etapa final del proceso de la micropropagación y su éxito dependerá en gran medida, de las condiciones adecuadas de asepsia que fueron logradas durante el proceso de multiplicación (Figura 9).



Figura 9. Plantas creciendo en fase de aclimatización.

Consideraciones finales

Las técnicas de multiplicación *in vitro* de musáceas validadas y aplicadas en el laboratorio de biotecnología vegetal del INIA Lara, han permitido la producción de vitroplantas con calidad genética, fisiológica y fitosanitaria. Las plantas sanas de musáceas obtenidas han sido sembradas en campos de productores del estado Yaracuy y se ha reportado que presentan buen crecimiento y desarrollo fenológico.

Bibliografía consultada

- Medina M, Medina C. y Medina, K. 2015 Propagación *in vitro* de *Musa acuminata* (Simmonds) plátano bocadillo del Chocó, Colombia, a partir del cultivo de meristemos apicales. Rev. Biodivers. Neotrop.; 5 (1): 47-53
- Ortega DF, Tamayo AC, Calderón J, Galván R. 2011. Establecimiento aséptico en la micropropagación *in vitro* de banano Williams AAA subgrupo Cavendish. Tierra Tropical. 7 (2): 205-20.
- Ramírez M., Lindorf H y García E. 2011. Cambios morfoanatómicos del apice del vástago de banano CIEN BTA-03 y su parental Williams bajo condiciones *in vitro*. Revista de la Facultad de Agronomía de LUZ 28 (Supl.1) 62-72
- Ríos G, Añez M, Ramírez M, Bracho M, Araújo D, Suárez H. 2013. Cultivo *in vitro* de yemas tratadas con benciladenina proveniente de cormos enteros o seccionados de plátano «Cambur Manzano». Bioagro. 25 (2): 137-42.