

PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE MUSÁCEAS DEL CHOCÓ A PARTIR DEL CULTIVO DE MERISTEMAS RADICULARES

IN VITRO PROPAGATIONS OF MUSACEAES OF CHOCÓ FROM RADICULARS MERISTEMS CULTURE

NIZA INÉS SEPÚLVEDA ASPRILLA*, MARÍA VICTORIA MURILLO*, MIGUEL ÁNGEL MEDINA RIVAS*

RESUMEN

Se regeneraron brotes adventicios enraizados a partir de meristemas radiculares de *Musa balbisiana*. Se utilizó como medio de cultivo MS/2 suplementado con 6-benciladenina 6BA en concentraciones de 1 a 4 mg/l y ácido indolacético IAA en concentraciones de 1 a 2 mg/l + carbón activo 50 g/l. Los brotes obtenidos fueron inducidos para formar raíz por transferencia a un medio con 6-benciladenina (B A) y ácido naftalen acético (NAA) 0.5 y 1 mg/l respectivamente. Los brotes adventicios se formaron directamente del explante. Las plantas enraizadas se transfirieron al campo de forma exitosa.

Palabras clave: Popocho; Meristemo radicular; Cultivo de tejidos; *Musasp*

ABSTRACT

Adventitious shoots rooted were regenerated from radicular meristems in *Musa balbisiana*. Taken as medium of culture MS/2 supplemented with 6-benciladenina 6BA in 1 to 4 concentrations mg/l and indolacetic acid IAA in 1 to 2 concentrations mg/l + actived charcol of 50 g/l. The obtained shoots were induced to form root by transference to medium with 6-benciladenina (B A) and naftalen acetic acid (NAA) 0.5 and 1 mg/l respectively. The adventitious shoots formed directly from the explants. Rooted plants successful were transferred to the field.

Keywords: Popocho; Radicular meristem; Tissue culture; *Musasp*

INTRODUCCIÓN

El plátano lo usa el hombre como alimento desde hace miles de años. Este cultivo ha incrementado su valor social y económico, lo que ha implicado la necesidad de mejorar el rendimiento y calidad, mediante la introducción de tecnologías de producción eficientes.

Es baja la eficiencia del sistema, expresada a través de la tasa de propagación de hijos, estimándose que la producción de hijos en una hectárea puede proveer «semilla» para sembrar una superficie entre 1000 a 2500 m² (Martínez *et al.* 2000); además, existe el riesgo de diseminación de plagas y enfermedades (Sandoval *et al.* 1991; Tezenas, 1985).

Las técnicas del cultivo de tejidos constituyen una de las aplicaciones prácticas más importantes de la biotecnológica para la obtención de grandes volúmenes de material vegetal de propagación de plátanos y bananos libre de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas, así como la conservación e intercambio de germoplasma constituyen importantes aplicaciones de estas técnicas (Vuylsteke y De Langhe, 1985, Grisales, F. 1994). Además, se podría multiplicar rápidamente genotipos de gran importancia económica en áreas relativamente pequeñas; esto a permitido tener poblaciones uniformes con alto rendimiento por hectárea (Hardy y García 1994). Por tanto, se pretendió desarrollar un método de propagación *in vitro* que permitiera la obtención masiva de clones de este género y libres de

* Grupo de Investigación en Biotecnología y Recursos Fitogenéticos, Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos Vegetales. Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, Quibdó, Colombia.

e-mail: mmedinarivas@gmail.com

Fecha de recibido: Febrero 3, 2008

Fecha de aprobación: Mayo 20, 2008

patógenos para garantizar la permanencia del cultivo en el departamento del Chocó.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron cormos de los hijos de la planta, que se trasladaron al Laboratorio para ser reducidos de tamaño hasta 2,5cm de diámetro y de 4 a 5cm de altura. Luego se lavaron con agua corriente y se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 3% de cloro activo durante 20 minutos. En cámara de flujo laminar se realizó una segunda reducción del ápice hasta llegar a un tamaño de 1,5 cm de diámetro de la base y de 2 a 3 cm de altura.

Fase de establecimiento. Todas estas operaciones de inoculación y transferencias se realizaron en la cámara de flujo laminar. El medio de cultivo basal usado fue el MS/2 con carbón activado (murashige y Skoog, 1962) el cual se esterilizó en autoclaves a 121°C y 1.2 kg/cm² por 20 minutos. El pH de los medios se ajustó a 5.7 antes de esterilizar. El cultivo se realizó en su fase inicial en condiciones de oscuridad total durante 30 días, para luego pasar a fotoperíodo (a 27 ± 1°C durante 15 días; la intensidad luminosa fue de 1500 a 2000 lux fría/suministrada por tubos fluorescentes de 36W, Silvana) equivalente a 34-90 m E/s/m² en una cámara de crecimiento.

PROLIFERACION DE BROTES

Fase de multiplicación. Se tomaron apices bien formados de tamaño uniforme procedentes de la fase de establecimiento, que se subcultivados durante 30 días en un medio de cultivo que contenía sales de Murashige y Skoog (1962) (MS/2), suplementadas con 1 a 4 mg/l de bencilaminopurina (6BA), 0.5 mg.l- de ácido indolacético (AIA), 30% de sacarosa, pH 5.7 en estado semisólido el cual fue gelificado con 7.5 g de agar-agar. Se utilizaron frascos de vidrio compoteros con 20 ml de medio nutritivo.

Enraizamiento y aclimatación *ex vitro*. Se utilizaron plántulas uniformes de 3 a 4 cm procedentes de la fase de multiplicación con raíces diferenciadas, empleando un sustrato de tierra de hormiga y aserrín descompuesto previamente desinfectado.

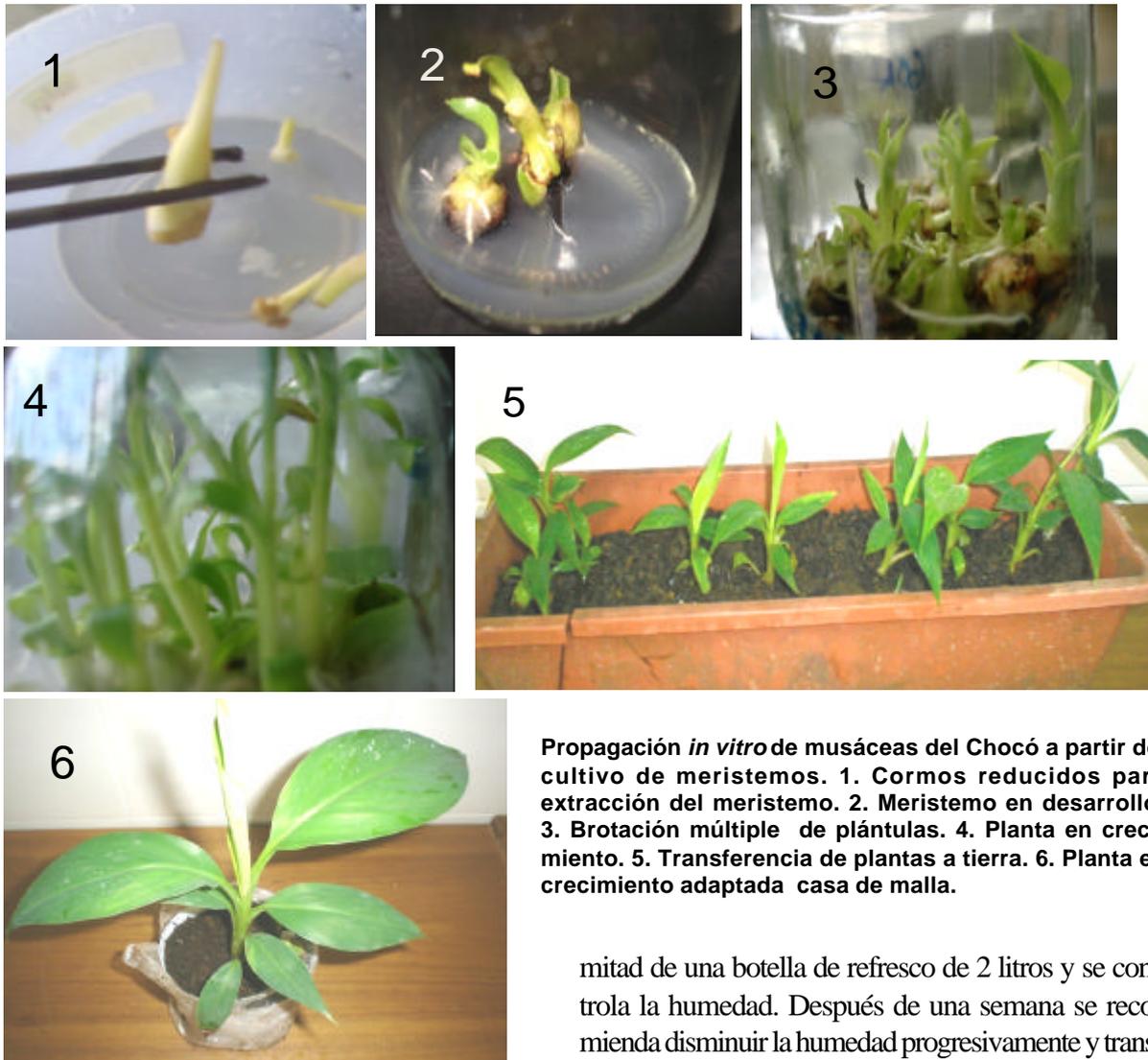
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de establecer un procedimiento *in vitro* para la propagación masiva de especies del género *Musa*, se desarrolló un protocolo de propagación a partir del cultivo de meristemas.

Para la desinfección del material vegetal se utilizaron soluciones al 10% (NaOCl)/20min más 1% Hg₂Cl por 5 min en cabina de flujo laminar. El cultivo de meristemas requiere tiempo para su implantación, por tanto, es necesario tomar todas las precauciones posibles para evitar la contaminación o la muerte del explante.

Se pudo observar que después de 30 días de haber establecido el cultivo en condiciones de oscuridad, se logra obtener ápices viables listos para someterlos a procesos de proliferación masiva. De los ápices viables que se subcultivaron a un medio que contenía sales MS/2 (Murashige y Skoog, 1962) enriquecidos con 2 mg/l de 6BA se obtuvieron entre de 8 y 15 brotes en 30 días; estos nuevos brotes poseen la capacidad de producir de nuevo otra generación si son subcultivados aisladamente en un nuevo medio de cultivo bajo las mismas condiciones.

Los cultivos se pueden mantener indefinidamente transfiriéndose a un medio fresco cada 15 días; los brotes externos se enraízan y preparan para su aclimatación y ser transferidos al campo y los internos pueden continuar con el proceso de proliferación hasta obtener nuevos brotes (Sandoval y Muller, 1985). Esta situación se observó claramente en este trabajo y de un sólo meristema viable se obtuvieron en 90 días, más de 150 plántulas para ser aclimata-



Propagación *in vitro* de musáceas del Chocó a partir del cultivo de meristemos. 1. Cormos reducidos para extracción del meristemo. 2. Meristemo en desarrollo. 3. Brotación múltiple de plántulas. 4. Planta en crecimiento. 5. Transferencia de plantas a tierra. 6. Planta en crecimiento adaptada casa de malla.

das y transferidas al campo. Durante este proceso es necesario eliminar tejidos necróticos externos, hojas marchitas y raíces, porque esto impide la proliferación de nuevos brotes.

Cuando la plántula ha alcanzado entre 6 y 7 cm de longitud y con enraizado de buen aspecto de desarrollo, se transfieren a condiciones del exterior retirando cuidadosamente la plántula del frasco compotero de cultivo, se lavan las raíces con agua destilada hasta eliminar completamente residuos de agar, y se pasan a una maceta que contiene una mezcla de tierra de hormiga y aserrín de madera descompuesto; las plántulas se cubren con una cúpula de plástico obtenida de la

mitad de una botella de refresco de 2 litros y se controla la humedad. Después de una semana se recomienda disminuir la humedad progresivamente y transferir cada plántula a bolsas individuales, manteniéndolas a la sombra en el campo.

Por este método, el género *Musa* puede multiplicarse de manera masiva lo cual es de gran utilidad para la erradicación de agentes patógenos y permite no sólo el intercambio de germoplasma sano sino también la multiplicación comercial.

CONCLUSIONES

Durante la proliferación de brotes se logró la mejor respuesta con el medio de cultivo suplementado con 2 mg/l 6BA con lo cual se obtuvo el mayor número (más de 5 brotes por ápices durante 20 días) y lon-

gitud de brotes con promedios de 0.80 cm.

La oxidación de los explantes y la contaminación en la fase de establecimiento del cultivo son las principales causas de pérdida de material vegetal que se puede controlar con una buena desinfección y reduciendo la oxidación con carbón activado.

La multiplicación *in vitro* acompañada de una buena selección en el campo del material parental, permite disponer de plantas con excelentes condiciones agronómicas y fitosanitaria.

LITERATURA CITADA

- Grisales, F.** 1994. Técnica rápida de multiplicación de plátano en Colombia. *INFOMUSA*. (FR) 3 (2): 7.
- Hardy, I. García, E.** 1994. Micropropagación de bananas (*Musa* AAA) del subgrupo Cavendish. *YTON*. 55: 31-44.
- Martínez, G.** Tremont, O. Pargas, R, Manzanillas, E. 2000. Efecto del humus líquido de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) sobre el crecimiento en cormos de banano «pineo gigante» (*Musa* AAA), resultados preliminares. *INFOMUSA*. (FR) 9 (1): 36.
- Murashige, T.** Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15: 473-97.
- Sandoval J.** Müller, L. 1985. *Influencia del tamaño del explante en la propagación in vitro de cuatro cultivaciones de Musa*. VII Reunión de la ACORBAT. San José, Costa Rica. vol. 21. p. 87-97.
- Tezenas Du Montcel H.** 1985. *Le bananier plantain*. Malsone. Paris: Uve y Larouse; 143 pp.
- Vuylsteke, D.**, De Lange, E. 1988. *Shoot-tip propagation, conservation and distribution of Musa germplasm*. Rome: IBPGR. 55 p.