

## PROPAGACION *in vitro* DE MUSACEAS



Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias  
**E C U A D O R**

## PROPAGACION "in vitro" DE MUSACEAS



Ing. Fátima Macías P. \*

Ing. Ignacio Sotomayor H. \*\*

### I. ANTECEDENTES

El banano y el plátano (*Musa* spp.), frutos tropicales de gran aceptación en los mercados internacionales, constituyen una importante fuente alimenticia en los países productores y consumidores. Su producción contribuye a la captación de divisas para el país y a la generación de empleo.

Como la mayoría de las variedades comestibles de musáceas, éstas especies no producen semillas, por lo que su propagación es por vía asexual; utilizando los hijuelos o retoños del cormo madre, los mismos que son separados para utilizarlos como material de siembra. Sin embargo, el número de hijuelos que se pueden obtener mediante esta metodología convencional es relativamente reducida, facilitando además la diseminación de plagas y enfermedades.

Ante la necesidad de superar estos problemas y acelerar el mejoramiento de las especies cultivadas, se desarrolló una técnica de cultivo y multiplicación en medio artificial o cultivo *in vitro*.

\* Ing. Agr. Asistente Técnico del Programa de Café, Laboratorio de Cultivo de Tejidos, EET-Pichilingue.

\*\* Ing. Agr. Ms. Sc. Jefe Programa Nacional Cacao-Café INIAP.

El método consiste en lograr el desarrollo de nuevas plantas en un medio artificial aséptico, a partir de partes pequeñas llamadas explantes.

En la actualidad, el cultivo in vitro de ápices de banano constituye un método de propagación asexual eficaz que permite una rápida multiplicación en gran escala a partir de una sola planta. La propagación puede realizarse durante todo el año y ser programada para facilitar la disponibilidad de material de siembra, permitiendo también la conservación y el intercambio internacional de germoplasma.

Las plantas propagadas a través de este método son fuente de material de siembra sano, que están libres de bacterias, hongos y nematodos a diferencia de las plantas multiplicadas con el sistema tradicional.

## II. METODOLOGIA

En el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP se ha adaptado la metodología de multiplicación de musáceas desarrollada en Centros Internacionales de investigación, la misma que comprende el siguiente proceso:

### A. Selección y preparación del material

En el campo se procede a la selección de hijuelos de espada que presenten un buen estado fisiológico y una altura promedio entre 50 y 70 cm. (Foto 1). De los cormos de estos hijuelos, se procede a eliminar las partes externas y vainas foliares hasta obtener secciones de aproximadamente 5 cm de altura y 3 cm de diámetro, que encierran al ápice vegetativo o punto de crecimiento. Este material es sometido posteriormente a un proceso de desinfección con cloro comercial durante 20 minutos. En condiciones asépticas y en el interior de una cámara de flujo laminar, se procede a lavarlo con agua destilada estéril para reducir más su tamaño y efectuar luego una segunda desinfección con cloro diluido al 10<sup>o</sup>/o durante 10 minutos. A continuación se lavan por tres ocasiones con agua destilada estéril y se reduce el tejido a menos de 1 cm (Foto 2), sumergiéndolo finalmente en una solución antioxidante de cisteína estéril por el lapso de 10 minutos.



Foto 1. *Hijuelos de espada, fuente de explantes para el cultivo in vitro.*



Foto 2. *Fragmentos de cormos previo a la desinfección y explantes listos para el establecimiento en medio de iniciación.*

## B. Siembra de ápices o explantes

Los explantes se establecen en el medio de cultivo formulado por Murashige y Skoog en 1962, indicado en el Cuadro 1. Previo a la siembra, el medio de cultivo es ajustado a un pH de 5,6 antes de la adición del agar y luego esterilizado en el autoclave a una temperatura de 121°C por 20 minutos.

Para un mejor aprovechamiento de esta técnica, se han establecido cuatro fases:

### 1. Fase de establecimiento del cultivo aséptico

Para promover el desarrollo de los ápices, éstos se cultivan en el medio de iniciación (M1) durante 30 días (Foto 3). En esta fase se debe tener mucho cuidado en la realización de los cortes, ya que las heridas provocadas con los instrumentos de disección, durante la manipulación del explante, le podrían causar problemas de oxidación y muerte.



Foto 3. Establecimiento aséptico del explante en medio de iniciación.

Cuadro I. Composición de los medios de cultivo de Iniciación (M1), Multiplicación (M2) y Desarrollo (M3) para la micropropagación de Musáceas.

NOMBRE	FORMULA	CANTIDAD (mg/l)
Nitrato de Amonio	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.650
Nitrato de Potasio	KNO <sub>3</sub>	1.900
Cloruro de Calcio	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
Sulfato de Magnesio	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
Fosfato de Potasio	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
Acido Borico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
Sulfato de Manganeso	MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	22,3
Sulfato de Zinc	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
Yoduro de Potasio	KI	0,83
Molibdato de Sodio	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
Sulfato de Cobre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
Cloruro de Cobalto	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
Acido etilendiamina tetracético	Na <sub>2</sub> EDTA	37,3
Sulfato Ferroso	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8
Acido nicotínico		0,5
Tiamina		0,1
Piridoxina		0,5
Glicina		2,0
Myo-Inositol		100
Sacarosa		30.000
Bencil aminopurina (BAP)		*
Agar		7.000

\* M1 = 1 mg/l, M2 = 3 mg/l, M3 = 0 mg/l

## 2. Fase de multiplicación o proliferación de brotes

Luego del periodo de establecimiento aséptico, los explantes son transferidos al medio de multiplicación (M2), en el que se aumenta la concentración de Bencil-aminopurina 3 mg/l (citocinina reguladora del crecimiento), para estimular la formación y multiplicación de brotes laterales (Foto 4). El periodo de formación de brotes es de aproximadamente 45 días. Posteriormente, se pueden establecer ciclos de multiplicación cada 20 ó 22 días.

Los brotes que se obtienen pueden recultivarse según lo indicado anteriormente, para continuar con el proceso de multiplicación o separarlos en forma individual y luego ser llevados a un medio apto para su desarrollo y formación de raíces.

Cabe señalar que la tasa de multiplicación varía de acuerdo al genotipo utilizado.



Foto 4. *Multiplicación in vitro de brotes laterales.*



### 3. Fase de desarrollo

Los brotes que tengan un tamaño aproximado de 2 cm, son separados individualmente y colocados en un medio de desarrollo (M3) que permitirá la obtención de plantas completas. Si estos brotes presentan de dos a tres hojas completamente desarrolladas, es recomendable eliminar dicho follaje. Para esta fase se suprime el BAP en el medio de cultivo y no es necesario inducir el enraizamiento, ya que la emisión radicular es espontánea, obteniéndose una planta completa en un periodo de 25 a 30 días (Foto 5).



*Foto 5.*  
*Plantulas de banana apta*  
*para el trasplante a con-*  
*diciones de invernadero.*

Una vez que ocurre la formación de raíces y la emisión foliar, las plantas están aptas para su transferencia a condiciones de invernadero.

Durante las tres fases mencionadas, los cultivos se mantienen en cuartos de incubación con ambiente controlado a una temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 16 horas diarias de luz y una humedad relativa entre 80 y 90 por ciento (Foto 6).



*Foto 6.  
Mantenimiento de los  
explantes en cuartos de  
incubación.*

#### 4. Aclimatación de las plantitas bajo condiciones de invernadero

Una vez completado el proceso de laboratorio, las plantitas se extraen del frasco de cultivo, para proceder a lavar el residuo de agar adherido a las raíces. Luego se siembran en recipientes plásticos conteniendo un sustrato esterilizado compuesto de suelo más arena (4:1). Durante las tres primeras semanas las plantitas requieren de alta humedad relativa, por lo que deben colocarse en cámara húmeda con un 75% de sombra. Posteriormente, se procede a eliminar gradualmente las condiciones de alta humedad de la cámara y parte de la sombra para dar mayor luz a las plantitas.

Después de 30 días de permanencia en los recipientes plásticos, las plantitas son colocadas en fundas de polietileno de color negro manteniéndose por 30 días bajo condiciones de invernadero (Foto 7). Finalmente, se trasladan a un cobertizo donde permanecerán por el lapso de dos semanas previo a su establecimiento definitivo en el campo.



Foto 7. Plántulas de banano en aclimatación bajo condiciones de invernadero.

### III. LITERATURA CONSULTADA

- ANGARITA, A. y PEREA, M. 1991. Micropropagación de plátanos y bananos. *In* Roca, W. y Mroginski, L. eds. Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. Cali, Colombia. CIAT. p. 495-511.
- KRIKORIAN, A. 1991. Propagación clonal in vitro. *In* Roca, W. y Mroginski, L. eds. Cultivos de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia. CIAT. p. 95-141.
- MURASHIGE, T. y SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant.* 15: 473-479.
- SANDOVAL, J. 1986. Micropopagación de Musáceas. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 15 p.
- , BRENES, G. y SANCHEZ, L. 1991. Micropropagación de plátano y banano (Musa AAB, AAA) en el CATIE. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Informe Técnico No. 186. 22 p.
- VILLALOBOS, V. M. 1985. El Cultivo de Tejidos y su relevancia en la agricultura. *In* Ciclo de Conferencias Cultivo de tejidos y sus Aplicaciones. (1985, México). 1985. (Memorias). Universidad Nacional Autónoma de México. 12 p.



EL INIAP ES LA ENTIDAD OFICIAL DE INVESTIGACION CIENTIFICA AGROPECUARIA, CUYA MISION ES GENERAR Y ADAPTAR TECNOLOGIAS APROPIADAS ENCAMINADAS AL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCTIVIDAD, PROPICIANDO LA PRODUCCION CON SENTIDO ECONOMICO Y LA SOSTENIBILIDAD DE LOS RECURSOS NATURALES.

PRODUCCION:  
SECC. DE COMUNICACION DEL INIAP  
Casilla 17-01-340 Quito - Ecuador  
Boletín Divulgativo No. 245  
Julio-1994  
AdeR,