

CONCLUSIONES

Se logró estandarizar en el laboratorio de biotecnología de la Estación Experimental Litoral Sur del INIAP, un protocolo para la inducción de yemas adventicias o multiyemas de banano Williams de utilidad para los proyectos de mejoramiento genético de este cultivo.

Este protocolo que combina el uso de medios de cultivos semisólidos con sistemas semiautomatizados de cultivo como son los biorreactores de inmersión temporal, lo convierten en una metodología novedosa que mejora la eficiencia de los protocolos de inducción de multiyemas en banano descritos hasta el presente en la literatura internacional. El coeficiente de regeneración de plantas que se logra es de 150 a 200 brotes por cada explante con multiyemas inoculado en los biorreactores.

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que el INIAP se encuentra en capacidad para implementar una metodología de inducción de mutaciones con agente físico o químico, más eficientes que la descrita con anterioridad en el instituto, ya que su aplicación incrementaría la probabilidad de mejorar la eficiencia en la desagregación de quimeras en los genotipos mutantes. Por otra parte, al incluir el uso de biorreactores permite aprovechar las ventajas de los medios de cultivo líquidos, disminuyendo los costos unitarios de producción de la planta regenerada por el concepto de ahorro al disminuir el uso de agentes gelificantes.

LITERATURA CITADA

- Bermúdez-Carabaloso I, Rodríguez M, Jiménez A (2017) Efecto del uso combinado de citoquininas en la formación de yemas adventicias en banano cv. 'Gros Michel' (Musa AAA). Biotecnología Vegetal Vol. 17, No. 1: 51 - 56, enero - marzo, 2017.
- García LR, Pérez JP, Bermúdez-Carabaloso I, Orellana P, Veitia N, García L, Padrón Y, Romero C (2006) Nuevo protocolo para la rápida inducción de yemas adventicias y la regeneración de plantas en banano cv. 'Grande naine' (Musa AAA). Biotecnología Vegetal 6(1): 15-21
- Murashige T, Skoog R (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15:473-497
- Lee K, Zapata-Arias F, Brunner H, Afza R (1997) Histology of somatic embryo initiation and organogenesis from rhizome explants of Musa sp. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 51: 1-8.
- Novak F, Afza R, Van Duren M, Omar MS (1989) Mutation induction by gamma irradiation of in vitro cultured shoot-tips of banana and plantain (Musa cvs). Trop Agric (Trinidad) 67:21-28

Autores: Inés Tapay, Elisa Quiala, Eloy Orellana, Raphael Peñafiel, Paul Velez, Bertin Osorio, Cristian Zambrano, Gerardo Martínez, Noely Ruiz y Nathaly Romero.

Colaboradores: Juan Fong, Lupercio Beltrán y Mónica Puga.

Como citar esta publicación: Tapay I., Quiala E., Orellana E., Peñafiel R., Velez P., Osorio B., Zambrano C., Ruiz N., Romero N (2023) Estandarización de una metodología de propagación de plantas vía yemas adventicias de banano cv Williams (Musa spp.). Plegable No. 492.

2023

Todos los derechos reservados sobre las imágenes de este documento, las cuales constituyen propiedad del INIAP

INIAP
1800 247600

ATENCIÓN AL CIUDADANO

Estandarización de una metodología de propagación de plantas vía yemas adventicias de banano cv Williams (Musa



Plegable No. 492

Estandarización de una metodología de propagación de plantas vía yemas adventicias de banano cv Williams

INTRODUCCIÓN

La obtención de cultivares de banano resistentes a las principales enfermedades que lo afectan, como es el caso de Moko, Sigatoka y Fusarium, constituye una necesidad urgente en el país y forma parte de las estrategias de investigación del INIAP.

El instituto desarrolla en el país un Proyecto Internacional financiado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) en conjunto con otros países de la región, para generar materiales de banano resistentes a enfermedades, mediante la mutagénesis física. Sin embargo, para lograr este objetivo es necesario contar con un sistema de regeneración de plantas eficiente, que garantice una baja frecuencia de formación de individuos quimeras (individuos compuesto por células con al menos dos tipos de ADN diferentes).

Se ha descrito que la mutagénesis aplicada a tejidos *in vitro* tiene como uno de los inconvenientes, que al tratar explantes multicelulares se genera un alto grado de quimeras (Novak, 1989; Roux et al., 2009). Es en este sentido donde técnicas como la inducción de yemas adventicias o multiyemas (Vuylsteke et al., 1997) y la embriogénesis somática ofrecen las mayores ventajas tanto en banano (Lee et al., 1997; Roux et al., 2009) como en plátanos (López et al., 2017; Roux et al., 2009). El origen morfogénico de las estructuras que se forman en estos procesos, tienen un origen unicelular o de muy pocas células, incrementando la probabilidad de obtener individuos no quiméricos en menos ciclos de multiplicación (García et al., 2006; Bermúdez et al., 2017).

Objetivo

Estandarizar una metodología de regeneración de plantas vía yemas adventicias de banano Williams para asistir la inducción de mutaciones en programas de mejoramiento genético.

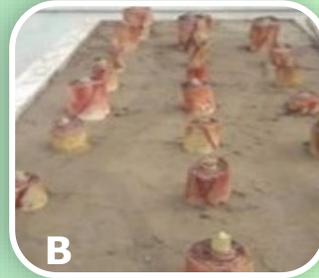
METODOLOGÍA

Selección de plantas donadoras

Se identifican plantas visualmente sanas en Bancos de Germoplasma o plantaciones comerciales en producción y mediante descriptores morfológicos se certifica las características distintivas de la variedad. Posteriormente, se extraen hijos espadas de 0,5 m de altura, aproximadamente (Foto A, flecha roja).



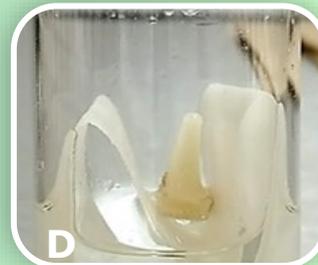
Cuarentena en invernadero



Los colinos obtenidos de los hijos espadas, reciben un tratamiento similar al descrito para el manejo de material de siembra de especies propagadas vegetativamente (FAO, 2013) y se siembran en camas con sustrato en el invernadero con iluminación reducida al 50% y 80% de humedad relativa por 40 días (Foto B).

Establecimiento *in vitro*

Finalizada la cuarentena, mediante pruebas serológicas se descartan los hijos con presencia de virus, se extraen las plantas sanas de las camas (Foto C), se trasladan al laboratorio. Con ayuda de un cuchillo se reduce el tamaño del colino a 3 cm de base x 5 cm de altura y con una doble desinfección con hipoclorito de sodio al 1% por 40 y 20 min, respectivamente y en condiciones de asepsia se reducen hasta obtener ápices de 1cm x 1.5 cm (Foto D).



Los ápices se mantienen en cámaras de crecimiento con de 16h luz/8h de oscuridad y temperatura 26±2°C (Foto E).



Los ápices se cultivan durante 35 días en tubos de ensayo con medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) que contiene auxinas y citoquininas en igual proporción.



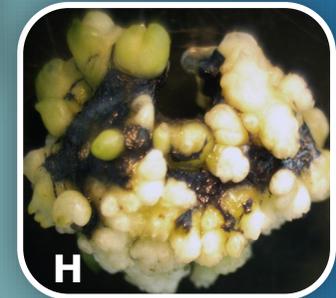
Antes de formar las multiyemas es necesario realizar de 4 a 5 subcultivos para aumentar el volumen de plantas. A partir de estas vitroplantas se extraen ápices de 0,5 cm de longitud (Foto F) y se siembran en medio de cultivo con elevada dosis de citoquinina para la formación de las multiyemas.

Formación de yemas adventicias o multiyemas



La formación de brotes verdes disminuye hasta su limitación total y el número de estructuras blancas compactas formadas (yemas adventicias) se incrementa del 1ro (Foto G) al 3er subcultivo (Foto H).

Cada 45 días los explantes se subcultivan durante tres subcultivos, a medio fresco MS que contiene una elevada concentración de citoquinina.



Regeneración de multiyemas en Biorreactores de inmersión temporal (BIT)



Se inoculan 5 explantes con multiyemas en biorreactores de inmersión temporal de dos frascos de 2L (Escalona et al., 1999) de capacidad. Cada 30 días se renueva el medio de cultivo durante 90 días. A los 30 días se observa la elongación de las multiyemas (Foto I) y al os 90 días vaso del biorreactor se llena de plantas verdes (Foto J).

La tasa de regeneración de plantas después de cosechados y evaluados los BIT oscila entre 150 y 200 brotes por cada explante con multiyema inoculado en los Biorreactores (Foto K).



Los brotes se individualizan y se transfieren a un medio de cultivo MS con auxinas para el enraizamiento, 25 días después las plantas enraizadas se transfieren al invernadero.