

Conclusiones

Se estableció un protocolo de embriogénesis somática para la regeneración de plantas de banano Williams a partir de inflorescencias masculinas inmaduras. El desarrollo e implementación de este protocolo, constituye un paso de avance para la aplicación de las nuevas técnicas de mejoramiento genético (NBT-*New Breeding Techniques*, por sus siglas en inglés) como la edición de genomas.

Además, incrementa la posibilidad de mejorar la eficiencia en programas de mejoramiento genético de banano, donde se aplican otras técnicas más antiguas de mejora como la mutagénesis física y química, al facilitar la desagregación de quimeras.

Literatura Consultada

- Aguilar ME., Ortiz JL. Sandoval JA (2008) Embriogénesis Somática en Plátanos y Bananos: Perspectivas y limitaciones. Serie Técnica. Boletín Técnico. N° 27. CATIE.
- Côte F, Folliot M, Domergue R & Dubois C (2000). Field performance of embryogenic cell suspension-derived banana plants (Musa AAA, cv. 'Grande Naine'). *Euphytica*. 112: 245-251.
- Dai XM, Xiao W, Huang X, Zhao JT, Chen YF, Huang XL (2010) Plant regeneration from embryogenic cell suspensions and protoplasts of dessert banana cv. 'Da Jiao' (Musa paradisiacal ABB Linn.) via somatic embryogenesis. *In vitro Cellular & Dev. Biology - Plant* 46 (5): 403-410.
- Escalant JV, Teisson C, Cote F (1994) Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (Musa spp.). *In vitro Cell Dev. Biol* 30: 181-186.
- Merkle S, Parrott W y Flinn B (1995) Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. En: Thorpe, TA (Ed) *In vitro Embryogenesis in Plant*. pp. 155-203. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Raveendar S, Premkumar A, Ignacimuthu S y Agastian P (2008) Effect of sea water on callus induction and regeneration of rice genotypes. *Int. J. Integrative Biol.* 3 (2): 92-95.
- Kosky RG, De Fera M, Posada LP, Gilliard T, Bernal FM, Reyes MV, Chávez MM, Quiala EM (2002) Somatic embryogenesis of the banana hybrid cultivar 'FHIA-18' (AAAB) in liquid medium and scale-up in a bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 21-26.

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

Colaboradores: Juan Fong, Lupercio Beltrán y Mónica Puga.

Como citar esta publicación: Quiala E., Tapay I., Orellana E., Peñafiel R., Velez P., Osorio B., Zambrano C., Ruiz N (2023) Embriogénesis Somática en banano cultivar Williams (Musa spp.). Plegable No. 491.

Agradecimientos al proyecto FIASA-EELS-2022-008 y al Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA)

2024

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



INIAP
1800 247600

ATENCIÓN AL CIUDADANO

Dirección: Km 26 Vía Durán- Tambo, al Oeste de Guayaquil
Cantón Yaguachi
Teléfono: +593-4-2724260/ 2724201
www.iniap.gob.ec

Embriogénesis somática a partir de inflorescencias del banano cultivar Williams (Musa spp.)

El INIAP implementa técnica de regeneración de plantas a partir de las flores del banano, con aplicación en la propagación y el mejoramiento genético de este cultivo

Plegable No. 491

Embriogénesis somática a partir de inflorescencias masculinas del banano

LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA Y EL BANANO

El banano es uno de los cultivos más importante en la agricultura del Ecuador, representa el segundo renglón en ingresos de divisas no petroleras del país, en su importancia socioeconómica genera empleo directo e indirecto para casi el 17% de la población económicamente activa.

El Ecuador es el principal exportador mundial de banano, aportando el 40% de la fruta a nivel mundial. Sin embargo, los cultivares Cavendish, que son los que mayoritariamente se cultivan en el país, son susceptibles a enfermedades como Sigatoka negra, el Moko y FocR4T, causadas por *Mycrosphaerella fijiensis*, *Ralstonia solanacearum* y *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* Raza 4 Tropical, respectivamente.

El INIAP debe implementar tecnologías de mejoramiento genético de banano que amplíen las posibilidades de selección de materiales que toleren condiciones climáticas adversas, así como plagas y enfermedades. En este tema la biotecnología con sus diversas técnicas constituye una herramienta muy útil para lograr estos objetivos (Raveendar et al., 2008).

La dificultad para realizar el mejoramiento convencional del banano debido a impedimentos genéticos y morfológicos, hace que la alternativa de generar mutaciones por medios físicos, químicos o la manipulación génica (edición génica) sean una de las vías alternativas más utilizadas en la actualidad para alcanzar materiales con las características deseadas. Sin embargo, para que estas técnicas sean viables y prácticas, se requiere desarrollar protocolos de cultivo in vitro que permitan regenerar individuos no quiméricos a partir de una o pocas células.

La embriogénesis somática (ES) constituye la técnica de cultivo ideal para los fines antes mencionados, ya que permite formar embriones a partir de una o pocas células no gaméticas (Merkle et al., 1995). Esta técnica, aplicada al banano para regenerar plantas a partir de flores masculinas inmaduras es muy eficiente. Fue obtenida inicialmente por Ma (1991) y mejorada por Escalant et al., (1994), Côte et al., (1996) y Grapin et al., (1996), Gómez et al., 2002), mediante el establecimiento de suspensiones celulares embriogénicas (SCE). La metodología de ES descrita en este tríptico, establecida en el laboratorio del INIAP tuvo como base la guía técnica publicada por el CATIE en el 2008, lo cual incluye los procedimientos descritos como los medios de cultivos (Aguilar ME., Ortiz JL. Sandoval JA. 2008).

Objetivo

Estandarizar una metodología de regeneración de plantas vía embriogénesis somática a partir de inflorescencias masculinas inmaduras de banano Williams, de utilidad para la propagación de plantas y el mejoramiento genético.

METODOLOGÍA

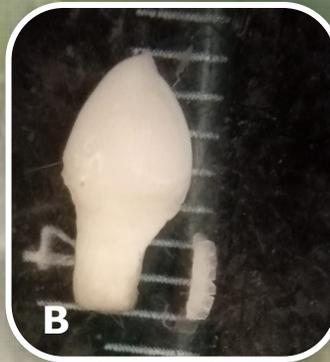
Selección de plantas donadoras

Se identifican plantas sanas de Bancos de Germoplasma o plantaciones comerciales y mediante descriptores morfológicos y pruebas serológicas se procede a certificar las características distintivas de la variedad y a descartar la presencia de virus.

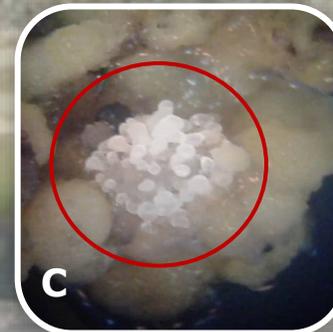


El brote floral masculino conocido como pámpana, bellota o chira, es extraído de las plantas negativas a virus, con la ayuda de un cuchillo. El corte se realiza entre los 5.0 a 10.0 cm después de la última flor femenina (mano) y se traslada al laboratorio, donde se reduce el tamaño de la chira a 2-3 cm (Fotos A y B).

Formación de callos embriogénicos

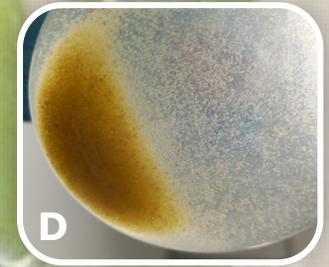


Después de 4 meses sobre los callos formados, comienzan aparecer estructuras embriogénicas (Foto C), pero las más útiles son los considerados callos ideales (círculo rojo), los cuales están compuestos por miles de células totipotentes con un alto potencial embriogénico, a partir de los cuales se establecen las suspensiones celulares embriogénicas (SCE), este callo ideal aparece en apenas el 8% de los explantes.



Cultivo de suspensiones celulares embriogénicas

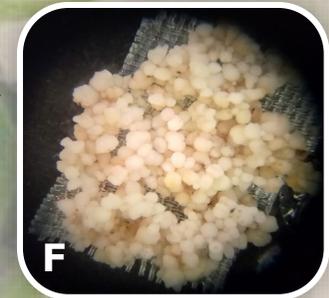
Las SCE se mantienen en oscuridad y movimiento constante en agitadores orbitales a 100 rpm (Foto D). A los 45 días se transfieren a erlenmeyers de mayor capacidad (Foto D).



Cada 30 días las SCE se pueden subcultivar a nuevos erlenmeyers para la multiplicación. Durante este tiempo se monitorea la vitalidad celular mediante prueba de fluorescencia y el análisis morfométrico de las células.

Formación y maduración de embriones somáticos

Se plaquean 250 μ L de suspensión celular sobre mallas de poliestireno estériles en frascos que contienen 30 mL de medio de cultivo (para la formación de embriones (M3) en condiciones de luz. A los 30 días se observa la formación de los embriones somáticos (ES)(Foto F). Por cada 1mL de suspensión celular se pueden formar entre 100 000 a 300 000 ES.



Germinación de embriones somáticos



Los ES formados se transfieren a medio de cultivo de germinación (MG) por 30 días. Después de dos subcultivos en MG se observa la formación de las plántulas (Foto G). Por lo general se puede lograr entre un 60 - 80% de germinación. El 95% de estas plántulas sobrevive a la transferencia ex vitro. En esta última fase se encuentra el protocolo del INIAP.