

Cultivo *in vitro* para la propagación y conservación de germoplasma de *Musa*

Dávila I.*, Pastora R.** y Dens K.***

Resumen.- El laboratorio de Cultivo de Tejidos de la UNAN-León realiza la clonación de 15 variedades de Musáceas mejoradas genéticamente, proporcionadas por la Universidad Católica de Leuven (KULeuven), que muestran resistencia a la Sigatoka negra, una de las principales plagas que afectan el cultivo de banano y plátano. Para la micropropagación de las variedades se utiliza un medio Murashige y Skoog suplementado con 10^{-2} mM de BAP y 10^{-3} mM de AIA para multiplicación y 10^{-3} mM de BAP y 10^{-3} mM de AIA para regeneración. Se estableció una colección *in vitro* a mediano plazo de germoplasma de *Musa* para conservar la variabilidad genética indispensable para iniciar programas de mejoramiento genético y seguridad alimentaria.

Introducción

La Universidad de León (UNAN León) con la finalidad de fortalecer la docencia, investigación y servicio en 1996, construye con el apoyo de Gobierno de Austria en el marco del proyecto BIOMASA el Laboratorio Cultivo de Tejido, ubicado camino a Abangasca y en 1997 inicia trabajos de cultivos *in vitro* en *Musáceas* con la colaboración con la Asociación Flamenca de Asistencia Técnica, Bélgica (VVOB), la Universidad Católica de Lovaina (KUL), el Centro de Transito de Germoplasma de INIBAP (ITC) y BANANIC; a través del Proyecto Musaceae.

Debido a que Nicaragua tiene condiciones climáticas y suelos ideales para el cultivo de *Musaceae*, es un rubro importante de exportación y consumo

interno, sin embargo, la oferta nacional ha disminuido, por enfermedades y plagas. Existen pocos productores con acceso a material mejorado, por lo que disponer de un Laboratorio que proporcione este tipo de material, contribuye con la producción y seguridad alimentaria.

El cultivo de tejido se utiliza en la obtención de plantas libres de hongos, bacteria y otros patógenos; micropropagación, conservación e intercambio de germoplasma y mejoramiento genético.

Esta técnica utiliza explantes que puedan diferenciarse en condiciones determinadas de nutrición, reguladores de crecimiento y asepsia. La estimulación de múltiples brotes o formación de yemas se logra cultivando los explantes en medio MS con alto

* Coordinadora del Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN - León.

** Directora del Departamento de Biología UNAN - León.

*** Cooperante de la VVOB para la UNAN - León.

niveles de citocinina, la reduce la dominancia apical del meristemo con la formación de yemas axilares o adventicias a partir del explante. En la propagación *in vitro* se obtienen clones, es decir plantas genéticamente idénticas a la planta madre e idénticas entre si.

La producción de plantas *in vitro* precisa de tres etapas: etapa I. La iniciación de un cultivo aséptico; etapa II. La multiplicación de propágulos y etapa III. La regeneración de plantas para su transferencia al suelo. Esto tres estados se distinguen en el cultivo de ápice de *Musa* (VUYLSTEKE, 1989: 54).

La conservación de germoplasma puede realizarse *in situ*, esto implica que el sitio debe mantenerse en su estado natural evitando la interferencia del hombre y de los animales domésticos. En la mayoría de las especies cultivadas resulta muy difícil y costoso mantener los ambientes naturales como fuentes de germoplasma. (CATIE/GTZ, 1979: 30)

Las colecciones en el campo representan otra forma de conservación, sin embargo presenta los inconvenientes de estar expuestos a enfermedades, plagas, desastres naturales, problemas edáficos, climáticos y de espacio, además de los altos costos de mantenimiento (Sandoval, 1989: 4).

El uso de cultivo *in vitro* como técnica para mantener una colección tiene la ventaja de requerir poco espacio, facilita el intercambio internacional libre de enfermedades, facilita una rápida multiplicación cuando es necesario. Mediante la conservación *in*

vitro se limita la tasa de crecimiento vegetativo con la finalidad de extender el lapso entre los subcultivos (Dávila, 1991: 61) disminuyendo el riesgo de la contaminación y facilitando el manejo de la colección.

Un aspecto importante del cultivo *in vitro* para la propagación clonal y la conservación de germoplasma es el mantenimiento de la estabilidad genética.

Objetivos

- Introducir y multiplicar *in vitro* variedades mejoradas de *Musa sp.*
- Conservar germoplasma de *Musa sp.* mediante el establecimiento de una colección *in vitro*
- Contribuir a la seguridad alimentaria proporcionando material mejorado a productores

Materiales y métodos

En el Laboratorio de Cultivos de Tejidos (LCT) de la UNAN - León se multiplican 15 variedades de *Musaceae* obtenidas del Centro Internacional de Tránsito de Germoplasma del INIBAP (ITC).

También se introduce ápices vegetativos del banco de germoplasma de la UNAN - León. Este material pasa por un proceso de desinfección con alcohol (95%) y cloro (2%) para luego colocarlo en un medio de iniciación.

Después de dos meses se obtienen brotes en proliferación. En esta fase se estimula la formación y multiplicación de brotes (ilustración 1). El medio que

se utiliza es de Murashige y Skoog (MS) con una concentración de Benzylamino purina (BAP) de 10^{-2} mM y de Acido Indol Acético (AIA) de 10^{-3} mM. El pH se ajusta a 5,8.

En la fase de regeneración (ilustración 2) se utiliza el mismo medio MS con una concentración de BAP de 10^{-3} mM y de AIA de 10^{-3} mM, lo cual promueve una prolongación del tallo y la formación de raíces. Esta etapa comprende un período de dos meses.

Las plantas de 7 cm, con raíces bien formadas y tres hojas verdes, se transfieren al invernadero para aclimatarlas. Las primeras semanas se colocan las plantas en una "cámara húmeda" que se mantiene a 90% de humedad. Con buenas condiciones de temperatura y fertilización, las plantas

están listas para sembrar en el campo después de 2 meses (ilustración 3).

Para la conservación *in vitro* a mediano plazo los brotes proliferados de *Musáceas*, son incubados a 15°C y foto-período de 16/8, subcultivados cada 10 meses. Manteniéndose el crecimiento lento mediante la utilización de baja temperatura (ilustración 4).

Resultados y discusión

En el laboratorio de Cultivo de Tejido se han micropropagado 15 variedades de *Musáceas* (ilustración 5) proporcionadas por el Centro Tránsito de Germoplasma del INIBAP (ITC), entre los que se encuentran bananos, guineos y plátanos que a continuación se detallan.

Cuadro 1
ACCESIONES DE MUSÁCEAS MICROPROPAGADAS EN EL
LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDO DE LA UNAN LEÓN

ITC	Varietad	Tipo	Genotipo	Brotos proliferados Junio 99 / Enero 00
0712	cv Rose	Banano	AA	1008
0504	FHIA-1	Banano	AAAB	1064
0505	FHIA-2	Banano-Guineo	AAAB	96
0506	FHIA-3	Guineo	AABB	4432
0395	Lidi	Banano	AA	162
0396	Pelipita	Guineo	ABB	1379
0650	Pisang Ceylan	Banano	AAB	967
0653	Pisang Mas	Banano	AA	228
1296	TMBx 1378	Guineo	ABBB	792
1297	TMBx 5295	Plátano	AABB	760
1205	TMPx 1621	Plátano	AAAB	19
1293	TMPx 4479	Plátano	AAAB	1707
1272	TMPx 7002	Plátano	AAAB	25
1294	TMPx 7152	Plátano	AAAB	264
1123	Yangambi km5	Banano	AAA	408

El cuadro 1 reporta 15 variedades de *Musáceas* que se multiplican en el Laboratorio de Cultivo de Tejido permitiendo así poner a disposición de los productores materiales con características genéticas resistentes a Sigatoka negra, una de las principales plagas que afectan este cultivo lográndose así un incremento en la productividad de las mismas. La distribución de estos materiales debe basarse en resultados de estudios de comportamiento de estas variedades en nuestras condiciones y el grado de aceptación entre la población.

El Laboratorio de Cultivo de Tejido en 1996 realizó aclimatación de plantas *in vitro* provenientes de la Universidad Católica de Bélgica (KUL), iniciando en 1997 la clonación de variedades mejoradas. Durante los años 1998 y 1999 tuvo una producción de 8,000 *in vitro* plantas y para el año 2000 se planifica una producción de 21,000 plantas, en la tabla 1 se muestra el avance en número de brotes proliferados por variedad. Las plantas producidas en el laboratorio pasan a una

fase de aclimatación que dura de dos a tres meses en los invernaderos de la finca experimental en alta humedad y baja intensidad de luz las que se disminuyen y aumentan respectivamente hasta su transferencia a condiciones naturales. En esta fase se realiza un plan de fertilización foliar.

En la colección *in vitro* de *Musáceas* se conservan 20 brotes proliferados de cada una de las variedades mejoradas y materiales locales en tubos individuales donde se mantienen en crecimiento lento, disponibles para iniciar un programa de micropropagación cuando sea requerida (cuadro 2).

Con esta colección se pretende mantener la diversidad genética de *Musáceas* disponible en nuestro país lo que es vital para la seguridad alimentaria. Debido a que la introducción de materiales mejorados puede desplazar a los locales es importante su conservación como fuentes de genes a ser utilizados en programas mejora genético por fitomejoradores.

Cuadro 2
VARIETADES QUE FORMAN LA COLECCIÓN *IN - VITRO* DE
***MUSÁCEAS* DE LA UNAN - LEÓN**

Código UNAN	Variedad	Procedencia	Fecha / Introd.	Ubicación
007	AAcv Rosc	ITC.0712	1 Ago. 99	Cámara 15 ° C
111	FHIA-01	ITC.0504/Ojoche	21 Oct. 99	Cámara 15 ° C
012	FHIA-02	ITC.0505	Ago. 99	Cámara 15 ° C
013	FHIA-03	ITC.0506	3 Oct. 98	Cámara 15 ° C
009	Lidi	ITC.0395	Ago. 99	Cámara 15 ° C
008	Pelipita	ITC 0396	1 Ago. 99	Cámara 15 ° C
108	Pelipita	ITC.0504/Ojoche	May. 99	Cámara 15 ° C
014	Pisang Mas	ITC 0653	1 Ago. 99	Cámara 15 ° C

110	TMBx 1378	ITC.1296/Ojoche	28 May. 99	Cámara 15 ° C
106	TMBx 5295 - 1	ITC.1297/Ojoche	5 May. 99	Cámara 15 ° C
105	TMPx 4479 - 1	ITC.1293/Ojoche	28 Abr. 99	Cámara 15 ° C
101	Yangambi Km5	ITC.1123/Ojoche	5 May. 99	Cámara 15 ° C
317	FHIA - 23	CATIE	13 Dic. 99	Cuarto de crecimiento
102	Pisang Ceylan	ITC.0650/Ojoche	13 Dic. 99	Cámara 15 ° C
115	TMPx 1621 - 1	ITC.1205/Ojoche	13 Dic. 99	Cuarto de crecimiento
104	TMPx 7002 - 1	ITC.1272/Ojoche	13 Dic. 99	Cuarto de crecimiento
116	TMPx 7152 - 2	ITC.1294/Ojoche	5 May. 99	Cámara 15 ° C
118	Bluggoe	Ojoche	23 Sep. 99	Cuarto de crecimiento
119	Silk	Ojoche	7 Oct. 99	Cuarto de crecimiento
120	False Horn	Ojoche	3 Jun. 99	Cuarto de crecimiento
121	Gros Michel	Ojoche	14 Oct. 99	Cuarto de crecimiento
123	Red	Ojoche	14 Oct. 99	Cuarto de crecimiento
124	Gran Enano	Ojoche	16 Sep. 99	Cuarto de crecimiento
125	Dwarf French P	Ojoche	23 Sep. 99	Cuarto de crecimiento

ITC : Centro de Transito del INIBAP

Ojoche : Finca Experimental de la UNAN - León

ITC/Ojoche : Plantas sembradas en el Ojoche provenientes del ITC

Conclusiones

- Se esta realizando la clonación de 15 variedades mejoradas de *Musáceas* en el Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN León.
- Se ha puesto a disposición de productores variedades mejoradas de *Musáceas*.
- Se ha establecido una Colección *in vitro* de germoplasma de *Musa*.

Bibliografía

- CATIE / GTZ. (1979). *Programa de recursos genéticos de las plantas cultivadas de América Central*. Costa Rica.
- DÁVILA P, M.I. (1991). Criopreservación de callos de *Musa* Gran Enano (AAA) y *Musa acuminata ssp. Malaccensis*. Tesis Mg. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.
- SANDOVAL, J. y MULLER, L. (1989). "Consideraciones sobre la conservación *in vitro* de Musáceas; posibilidades y limitaciones", en *Revista de la Asociación Bananera Nacional (ASBANA)*. 13
- VUYLSTEKE, D. (1989). *Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of Musa germplasm*. International Institute of Tropical Agriculture. Nigeria.

Anexo



Ilustración 1. Brotes en proliferación en el Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN León 1999.

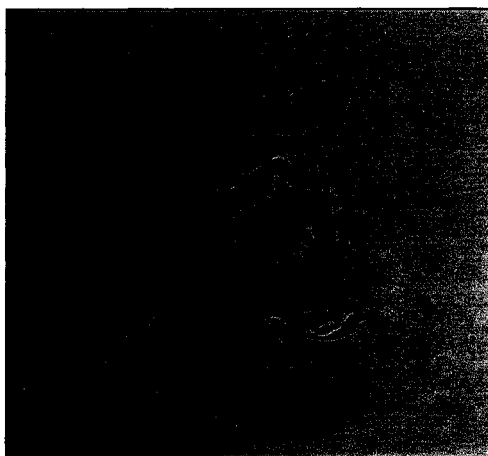


Ilustración 2. Obtención de plantas regeneradas *in vitro* en el Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN León 1999.





Ilustración 4. Colección *in vitro* de germoplasma de *Musa*. UNAN León 1999.



Ilustración 5. Cuarto de crecimientos con brotes en proliferación y regeneración de *Musáceas*. UNAN León 1999.



Guía Agropecuaria, S.A. TODO SOBRE EL CAMPO

Guía Agropecuaria

TODO SOBRE EL CAMPO

OFRECE:

- El más completo directorio de empresas e instituciones agropecuarias
- Información sobre temas del avance tecnológico, comportamiento del mercado y cifras estadísticas

ANÚNCIESE AHORA EN NUESTRAS PÁGINAS

Rotonda Metrocentro 150 mts. abajo. (Complejo CIPRES)

Telefax: 2787046 Tels.: 2787384 - 2782156 E-mail: lmorales@ibw.com.ni

Almanaque 2000



Una legendaria tradición para un público amplio, por su contenido interesante y útil.

RESERVE YA SUS EJEMPLARES

ESTARÁ A LA VENTA TODO EL AÑO 2000

Almanaque 2000 es un producto de Guía Agropecuaria

Rotonda Metrocentro 150 mts. abajo. (Complejo CIPRES)

Telefax: 2787046 Tels.: 2787384 - 2782156 E-mail: lmorales@ibw.com.ni