

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SALES EN EL MEDIO DE CULTIVO PARA CONSERVACIÓN *IN VITRO* DE PLÁTANOS (*Musa* spp.)

Aymé Rayas Cabrera*, Jorge López Torres, Milagros Basail Pérez, Arletys Santos Pino.
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.

*Autora para la correspondencia: conserv.biotec@inivit.cu.

Recibido: 3 de mayo de 2022; Aceptado: 15 de junio de 2022

RESUMEN

La conservación de la biodiversidad es estratégica para satisfacer las demandas crecientes actuales y futuras de la población mundial, de ahí que los bancos de recursos genéticos surjan como una respuesta a la necesidad de conservar el patrimonio genético vegetal, por lo que constituyen la base para una agricultura dinámica, diversificada y sostenida. Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales en musáceas, constituye una de las prácticas más importantes de la biotecnología tanto para la obtención de grandes volúmenes de plantas de plátanos y bananos libre de plagas y enfermedades como en la conservación e intercambio de germoplasma. De entre la gran diversidad de medios de cultivo utilizados en el cultivo de tejidos vegetales, el recomendado por Murashige y Skoog (1962) (MS) es el más conocido. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la concentración mínima de sales minerales a utilizar en la conservación *in vitro* del plátano. Se estudiaron cuatro concentraciones de las sales MS (25, 50, 75 y 100 %). Se utilizaron los cultivares de plátano 'INIVIT PB 2012' (tipo burro) e 'INIVIT PV 06-30' (tipo vianda). Con la disminución de la concentración de sales se observó un incremento en la oxidación fenólica y disminución de la altura, número de hojas y coeficiente de multiplicación, siendo estas diferencias más marcadas en el cultivar 'INIVIT PV 06-30'.

Palabras clave: conservación *in vitro*, medios de cultivo, *Musa*, recursos genéticos.

EFFECT OF SALT CONCENTRATION IN CULTURE MEDIUM FOR *IN VITRO* CONSERVATION OF PLANTAINS (*Musa* spp.)

ABSTRACT

The conservation of biodiversity is strategic to meet the current and future growing demands of the world population, hence the germplasm banks arise as a response to the need to conserve the plant genetic heritage, which is why they constitute the basis for sustainable agriculture. dynamic, diversified and sustained. Plant tissue culture techniques in *Musaceae* constitute one of the most important practices in biotechnology, both for obtaining large volumes of banana and plantain plants free of pests and diseases, as well as for the conservation and exchange of germplasm. Among the great diversity of culture media used in plant tissue culture, the one recommended by

Murashige and Skoog (1962) (MS) is the best known. The present work was carried out with the objective of determining the minimum concentration of mineral salts to be used in the *in vitro* conservation of bananas. Four concentrations of MS salts (25, 50, 75 and 100 %) were studied. The plantain cultivars 'INIVIT PB 2012 (burro type) and 'INIVIT PV 06-30 (vianda type) were used. An increase in phenolic oxidation was observed with a decrease in the concentration of salts, greater in the cultivar 'INIVIT PV 06-30' and a decrease in the rest of the parameters evaluated.

Keywords: *in vitro* conservation, genetic resources, *Musa*, culture media.

INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa* spp.) es una planta de gran importancia alimenticia, económica y sociocultural, del género *Musa* perteneciente a la familia de las musáceas, ampliamente cultivada en las regiones tropicales del mundo, ocupa el cuarto lugar en los alimentos después del arroz, el trigo y el maíz (Lassoudiere, 2007).

En muchos países, es importante fuente de crecimiento económico e ingresos para muchas zonas rurales, al generar empleos y divisas (FAO y CELAP, 2020). En la actualidad los bananos son las frutas más consumidas en el mundo, considerados como cultivos estratégicos en la seguridad alimentaria de muchos países (Martínez-Solórzano y Rey-Brina, 2021).

La conservación de la biodiversidad es estratégica para satisfacer las demandas crecientes actuales y futuras de la población mundial, de ahí que los bancos de germoplasma surjan como una respuesta a la necesidad de conservar el patrimonio genético vegetal, por lo que constituyen la base para una agricultura dinámica, diversificada y sostenida (Hidalgo, 2003; Milián, 2018).

Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales en musáceas mediante yemas apicales de hijuelos, constituyen una de las prácticas más importantes de la biotecnológica para la obtención de grandes volúmenes de plantas de plátanos y bananos libres de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas (Castro *et al.*, 2002) así como para la propagación clonal de plantas sanas, por su estabilidad genética y en la conservación e intercambio de germoplasma (Hoyos *et al.*, 2008; Ramírez *et al.*, 2008).

De entre la gran diversidad de medios de cultivo utilizados en el cultivo de tejidos vegetales, el recomendado por Murashige y Skoog (1962) (MS) es el más conocido. Se elaboró tomando el cultivo *in vitro* de tabaco como modelo y siguiendo un procedimiento cuantitativo se determinaron las concentraciones más adecuadas de todos los nutrientes. El medio de cultivo MS es apto para la mayoría de las especies y se caracteriza por tener una elevada concentración salina, por lo que se puede utilizar diluido.

Partiendo de esta composición basal de sales en la formulación MS, muchos laboratorios incorporan pequeñas modificaciones basadas en mejoras empíricas adaptadas a requerimientos nutricionales específicos, como pueden ser una mayor necesidad en fósforo y potasio (Galán *et al.*, 2018).

El éxito de los cultivos de células y órganos depende del origen del explante y del medio de cultivo (Gamborg *et al.*, 1976), en el cual a su vez influyen los ingredientes básicos: nutrientes, azúcar, hormonas, así como los agentes gelificantes, utilizados en

la preparación de medios sólidos o semisólidos (Szabados *et al.*, 1991; Capote *et al.*, 2002, Rodríguez *et al.*, 2004).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la concentración mínima de sales minerales a utilizar en la conservación *in vitro* de dos cultivares de plátano ('INIVIT PV 06-30', tipo vianda e 'INIVIT PB 2012', tipo burro).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

Procedimientos generales

Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121 °C de temperatura y una presión de 1,2 Kg.cm⁻²; el tiempo de esterilización varió en dependencia del volumen de medio de cultivo. El instrumental (pinzas, espátulas y bisturí) se desinfectó en un esterilizador eléctrico (DENT-EQ) que permaneció dentro del flujo laminar horizontal. Las condiciones de cultivo fueron: temperatura 27 ± 2 °C y régimen de 16 horas de luz (DFFF de 62-68 µmol m⁻²s⁻¹) y ocho de oscuridad.

El manejo de los materiales biológicos, se realizó en condiciones de esterilidad en una cámara de flujo laminar horizontal. En la totalidad de los experimentos se aplicó un diseño completamente aleatorizado por entender homogéneas las condiciones de cultivo dentro de las cámaras y considerar como única fuente de variación los tratamientos.

Con el objetivo de determinar cuánto se puede disminuir la concentración de las sales en la conservación *in vitro* del plátano se estudiaron cuatro tratamientos con concentraciones de 100 %, 75 %, 50 % y 25 % de las sales inorgánicas recomendadas por Murashige y Skoog (1962) (MS).

Se utilizaron dos cultivares:

- 'INIVIT PV 06-30', tipo vianda
- 'INIVIT PB 2012', tipo burro

Se evaluó a los 100 días de cultivado

- Supervivencia
- Grado de oxidación según escala siguiente (Figura 1)
 - Grado 1: Incipiente oxidación sin llegar a la necrosis del tejido.
 - Grado 2: Tejido necrótico en la base del explante.
 - Grado 3: Tejido necrótico en la base del explante con penetración.
 - Grado 4: 100 % de tejido necrótico en la base del explante con penetración.



Figura 1. Grados de oxidación del material vegetal. De izquierda a derecha: Grados 1, 2, 3 y 4.

- Altura de los brotes de yemas axilares (cm). Se realizó con una regla graduada y se midió desde la base del pseudotallo hasta la inserción de la primera hoja.
- Número de hojas de los brotes de yemas axilares (unidades). Se contaron las hojas que estaban abiertas.
- Coeficiente de multiplicación (unidades). Se determinó por el número de brotes finales con respecto al número de brotes iniciales.

Se comprobó el ajuste a la distribución normal de los datos de cada tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las varianzas (Levene). Puesto que se encontró normalidad y homogeneidad de varianzas, con un nivel de significación de $p < 0,05$, los datos se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple y la comparación múltiple de medias se realizó según la prueba de Bonferroni por ser n diferente para los tratamientos. Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS ver 25.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el material vegetal obtenido a los 100 días se pudo apreciar que en todos los tratamientos sobrevive más del 50 % de los explantes con buena vitalidad, no obstante, se aprecia que en el cultivar 'INIVIT PB 2012' los mejores resultados se observan en el tratamiento donde se utiliza 100 % de las sales MS (93,93 %), aunque con el 75 % de esta se observa 89,47 % de supervivencia, aceptable para la conservación. En el cultivar 'INIVIT PV 06-30' el porcentaje de supervivencia es menor, resultado que

coincide con los observados en la propagación de los cultivares a nivel comercial (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la concentración de sales minerales (MS) sobre el porcentaje de supervivencia en los cultivares de plátano ‘INIVIT PB 2012’ e ‘INIVIT PV 06-30’.

Tratamiento	Cultivar ‘INIVIT PB 2012’	Cultivar ‘INIVIT PV 06-30’
I. 100 %	93,93	81,81
II. 75 %	89,47	89,65
III. 50 %	81,81	75,00
IV. 25 %	68,75	50,00

Resultados similares obtuvieron Espinosa *et al.* (2020) en el cultivar de plátano ‘INIVIT PV 06-30’, quienes observaron que las plantas producidas *in vitro* cultivadas en el 50 % de las sales mostraron un color amarillento, hojas poco desarrolladas, algunas de ellas con manchas oscuras y necrosamiento en las puntas, su crecimiento fue lento, síntomas claros de deficiencia de nutrientes, independientemente del estado físico del medio de cultivo.

Por otra parte, a partir de la segunda semana se observó ligera oxidación de la base de los explantes, la que fue incrementándose con el paso de las semanas y en mayor medida cuando disminuye la concentración de sales MS en ambos cultivares, siendo mayor para el cultivar ‘INIVIT PV 06-30’, donde se observó prevalencia de los grados III y IV (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la concentración de sales minerales (MS) en los cultivares de plátano ‘INIVIT PB 2012’ e ‘INIVIT PV 06-30’.

Cultivar ‘INIVIT PB 2012’				
Tratamiento	Grado de Oxidación	Altura (cm)	No. Hojas	Coefficiente multiplicación
I. 100 %	1,78 a	13,92 b	5,10 a	1,71
II. 75 %	2,79 b	22,24 a	4,79 a	1,58
III. 50 %	3,69 bc	11,53 c	3,15 b	1,46
IV. 25 %	3,86 bc	7,36 c	1,86 c	1,59
ns				
Cultivar ‘INIVIT PV 06-30’				
Tratamiento	Grado de Oxidación	Altura (cm)	No. Hojas	Coefficiente multiplicación
I. 100 %	3,11 a	11,81 a	4,62 a	1,66 ab
II. 75 %	3,69 b	8,23 ab	2,50 c	1,88 a
III. 50 %	4,00 c	6,50 ab	3,46 b	1,38 b
IV. 25 %	4,00 c	2,40 b	1,25 d	1,05 c

Letras desiguales representan diferencias entre los tratamientos para $p \leq 0,05$.

La oxidación se asoció al tipo fenólico, la que provoca un fenómeno de ennegrecimiento que ocurre por acción de enzimas tipo polifenoloxidasas y tirosinasas que se liberan o sintetizan cuando los tejidos sufren heridas tales como las que se ocasionan al realizar cortes para extraer los explantes (Anderson e Ievinsh, 2002). Estas enzimas, contenidas en el citoplasma y las vacuolas, actúan sobre los polifenoles y la tirosina, oxidándolos a quinonas que son fitotóxicas, sustancias que a su vez pueden polimerizarse y afectar a las proteínas e inhibir el crecimiento y la viabilidad de los explantes (Villegas *et al.*, 2008).

Numerosos autores señalan una alta oxidación en los explantes de plátano, podríamos citar en el cultivo de ápices de plátano 'Hartón' y 'Hartón Doble Tallo' (Uzcátegui *et al.*, 2010), en la embriogénesis somática a partir de manos florales masculinas (Albarrán *et al.*, 2009), en el cultivo *in vitro* de yemas del cultivar 'Cambur Manzano' (Rios *et al.*, 2013).

En cuanto a la altura y número de hojas del explante (tabla2) se apreció disminución con la concentración de sales MS, con tendencias similares a las observadas por Espinosa *et al.* (2020) para el cv. 'INIVIT PV 06-30', o sea, disminuyen los valores de las variables evaluadas a medida que disminuye la concentración de macroelementos del medio de cultivo. Sin embargo, en el cultivar 'INIVIT PB 2012', los mayores valores se observaron cuando se utilizaron las sales MS al 75 %, aunque no provocaron incremento del coeficiente de multiplicación que no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos, mientras que en el cultivar 'INIVIT PV 06-30' sí se aprecian diferencias y mayor oxidación. Los resultados evidencian que existe diferencia entre los grupos genómicos del género *Musa*, lo que coincide con lo encontrados por Colmenares y Giménez (2003), quienes al estudiar la propagación de seis especies o cultivares de plátano de diferentes grupos genómicos aseguran que el desarrollo vegetativo de los explantes es dependiente del grupo genómico y manejo del explante.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos evidencian que es posible utilizar el 75 % de las sales propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS) para la conservación *in vitro* de cultivares tipo burro y 100 % de las sales para el cultivar 'INIVIT PV 06-30' tipo vianda.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBARRÁN, J.; A. GONZÁLEZ; O. GONZÁLEZ; E. SALAZAR; I. TRUJILLO; M. FUCHS y M. TORREALBA. 2009. Embriogénesis somática a partir de flores masculinas de 'Pineo gigante' y 'Cambur manzano'. *Agronomía Tropical*, 59(4): 363-371.
- ANDERSON, U. y G. IEVINSH. 2002. Changes of morphogenic competence in mature *Pinus sylvestris* L. buds *in vitro*. *Annals of Botany*, 90:293-298.
- CAPOTE, A.; F. ÁLVAREZ; Z. FUNDORA; Y. RODRÍGUEZ; O. PÉREZ y D. FONSECA. 2002. Evaluación de un agente gelificante cubano, Natugel, en el cultivo *in vitro* de plántulas de tomate. *Biotecnología Aplicada* 19(1-2): 1-4.

- CASTRO D.; J. DÍAS y N. MONTOYA. 2002. Propagación clonal de bananos en biorreactores de inmersión temporal. In: Acorbat. Memorias XV reunión realizada en Cartagena de Indias, Colombia, 27 de octubre al 2 de noviembre de 2002. Medellín, Colombia. Asociación Colombiana de Bananeros (AUGURA); p 44-8.
- COLMENARES, M. y C. GIMÉNEZ. 2003. Multiplicación *in vitro* *Musa* spp. mediante sistema de inmersión temporal. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 20(4):25-31.
- ESPINOSA, A.L.; J.J. SILVA y M. CAISE. 2020. Multiplicación *in vitro* del clon de plátano 'INIVIT PV 06-30' (*Musa* spp.) en condiciones de biofábricas. *REDEL. Revista científico-educacional de la provincia Granma*, 16: 181-190.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) y CELAC. 2020. Seguridad Alimentaria bajo la Pandemia de COVID-19. Santiago, FAO. DOI: [10.4060/ca8873es](https://doi.org/10.4060/ca8873es). Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca8873es/CA8873ES.pdf>.
- GALÁN, V.; A. RANGEL; J. LÓPEZ; J.B. PÉREZ; J. SANDOVAL; H. SOUZA. 2018. Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal* 40(4): (e-574). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018574>.
- GAMBORG, O.L.; T. MURASHIGE; T.A. THORPE y I.K. VASIL. 1976. Plant tissue culture media. *In vitro* 12(7): 473-477. DOI: [10.1007/BF02796489](https://doi.org/10.1007/BF02796489).
- HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. En: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos (Franco, TL e Hidalgo, R., Eds.). Boletín técnico. Cali, Colombia: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI); p. 2-26.
- HOYOS, J.; R. PEREA y R. VELASCO. 2008. Evolución del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación de plátano Dominico hartón (*Musa* AAB, Simmonds). *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 6(2): 7-18.
- LASSOUDIERE, A. 2007. Le Bananier et sa Culture. Collection Savoir Aire, ditions Quae: Versailles, France. p. 384.
- MARTÍNEZ-SOLÓRZANO, G.E. y J.C. REY-BRINA. 2021. Bananos (*Musa* AAA): Importancia, producción y comercio en tiempos de Covid-19. *Agronomía Mesoamericana*, 32(3):1034-1046. DOI:[10.15517/am.v32i3.43610](https://doi.org/10.15517/am.v32i3.43610).
- MILIÁN, M.D. 2018. Recursos genéticos de la malanga del género *Xanthosoma* Schott en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 39(2): 112-126.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473- 497.
- RAMÍREZ, M.; H. LINDORF y E. GARCÍA. 2008. Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano 'Williams' (AAA, *Musa* sp.) bajo distintas concentraciones de N6-benciladenina. *The Journal of agriculture of tech University of Puerto Rico* 92(1-2): 53-73.
- RIOS, G.; N. AÑEZ; M. RAMÍREZ; B. BRACHO; D. ARAUJO; H. SUÁREZ y J. NAVA. 2013. Cultivo *in vitro* de yemas, tratadas con benciladenina, provenientes de cormos enteros o seccionados de plátano 'Cambur manzano'. *Bioagro*, 25(2): 137-142.

- RODRÍGUEZ, A.J.; A. RODRÍGUEZ; S. QUINTERO; M.A. TORRES y Z. FUNDORA. 2004. Influencia de los medios de cultivo en la micropropagación de plátano (*Musa* spp.) y malanga (*Xanthosoma sagittifolium* Schott.) *Cultivos Tropicales*, 25(1):23-26.
- SZABADOS, L.; V.M. NÚÑEZ; L.M. TELLO; G. MAFLA; J.C. ROA; W.M. ROCA. 1991. Agentes gelatinizadores en el cultivo de tejidos. In: Roca, William M.; Mroginski, Luis A. (eds.). Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. Publicación CIAT No. 151: 79-93.
- Uzcátegui, J.P.; Y. HERNÁNDEZ; D. OSORIO y M. RIVAS. 2010. Evaluación del comportamiento *in vitro* de ápices de plátano *Musa* AAB cv. 'Hartón' y 'Hartón Doble Tallo'. *Producción Agropecuaria Biotecnología*, 3(1): 7-12.
- VILLEGAS, Z.; C. GIMÉNEZ; J. VÍLCHEZ, M. MORENO; L. SANDOVAL y M. COLMENARES. 2008. Oxidación en la inducción de la embriogénesis somática a partir de flores masculinas inmaduras de Gran Enano (*Musa* AAA). *Revista de la Facultad de Agronomía de Caracas* 25(3): 25-29.