

Artículo original

Efecto de Reguladores Osmóticos en la Conservación *In Vitro* de Plátanos y Bananos (*Musa* spp.)

Effect of Osmotic Regulators on In Vitro Preservation of Bananas and Plantains (*Musa* spp.)

<https://orcid.org/0000-0003-2671-2607>

Aymé Rayas Cabrera, Arletys Santos Pino*, Jorge López Torres, Milagros Basail Pérez, Víctor R. Medero Vega, Yoel Beovides García, Marilyn Martínez Pérez.

Instituto de
Investigaciones de
Viandas Tropicales
(INIVIT).
Apartado 6, Santo
Domingo, CP: 53 000,
Villa Clara, Cuba.

RESUMEN

Los plátanos y bananos (*Musa* spp.) son el cuarto cultivo más importante a nivel mundial. La conservación de su biodiversidad es clave para responder a las crecientes demandas alimentarias, y los bancos de germoplasma permiten resguardar y multiplicar el patrimonio genético vegetal, lo que constituye la base de una agricultura diversificada y sostenible. La conservación *in vitro* es especialmente útil para especies de difícil propagación, ya que facilita su resguardo y rápida multiplicación. El Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT) mantiene más de 300 accesiones de plátanos y bananos, incluyendo especies silvestres y cultivares de distintos grupos genómicos, por lo que contar con duplicados *in vitro* es fundamental para su protección y disponibilidad futura. Con el objetivo de determinar el medio de cultivo para conservar dicha colección en condiciones de crecimiento mínimo se estudiaron combinaciones de dos reguladores osmóticos en el medio de cultivo (sacarosa y manitol). Se aplicó un diseño completamente aleatorizado. Se seleccionaron los cultivares representativos de cada grupo genómico y se define que el medio de cultivo que contiene sales propuestas por Murashige y Skoog suplementado con 3% de sacarosa y 3% de Manitol es efectivo para el cultivo en crecimiento mínimo de *Musa* spp. Los cultivares de los grupos genómicos AA, BB, AAB y AAAB exhiben los mayores porcentajes de supervivencias en el ciclo de cultivo (superior al 70%) y los del grupo ABB los porcentajes más bajos (53,3%). Se establece un protocolo para la conservación *in vitro* de los recursos genéticos de *Musa*.

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

Palabras clave: crecimiento mínimo, manitol, sacarosa

ABSTRACT

Bananas and plantains (*Musa* spp.) are the fourth most important crop worldwide. Preserving their biodiversity is key to meeting growing food demands, and germplasm banks enable the protection and multiplication of plant genetic resources, which form the basis of diversified and sustainable agriculture. *In vitro* conservation is especially useful for

species that are difficult to propagate, as it facilitates their preservation and rapid multiplication. The Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT) maintains more than 300 accessions of plantains and bananas, including wild species and cultivars from different genomic groups, so having *in vitro* duplicates is essential for their protection and future availability. In order

to determine the culture medium for conserving this collection under minimal growth conditions, combinations of two osmotic regulators in the culture medium (sucrose and mannitol) were studied. A completely randomized design was applied. Representative cultivars from each genomic group were selected, and it was determined that the culture medium containing salts proposed by Murashige and Skoog supplemented with 3% sucrose and 3% mannitol is effective for the minimal growth culture of *Musa* spp. The cultivars of the AA, BB, AAB, and AAAB genomic groups exhibited the highest survival rates in the cultivation cycle (above 70%), and those of the ABB group exhibited the lowest rates (53.3%). A protocol for the *in vitro* conservation of *Musa* genetic resources was established.
Keywords: minimal growth, mannitol, sucrose.

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos (*Musa* spp.) constituyen un alimento fundamental para más de 400 millones de personas alrededor de todo el mundo, donde ocupan el cuarto lugar dentro de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial, solo superado por el trigo, el arroz y el maíz (Rustagi *et al.*, 2019). 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). Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales en musáceas mediante yemas apicales de hijuelos, constituyen una de las prácticas más importantes de la

biotecnología para la obtención de grandes volúmenes de plantas de plátanos y bananos libres de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas, así como para la propagación clonal de plantas sanas, por su estabilidad genética y en la conservación e intercambio de germoplasma (Ramírez *et al.*, 2008).

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 (Milián, 2018).

Los bancos de germoplasma vienen a constituir una alternativa viable que nos permitirá conservar especies elites y a la vez multiplicar en el momento que se requiera para suplir las necesidades del sector agrícola del país. La propagación *in vitro* concede a los bancos de germoplasma la habilidad de multiplicar plantas en grandes cantidades cuando sea necesario. La conservación *in vitro* ha proporcionado resultados satisfactorios y ventajas para especies recalcitrantes o de propagación vegetativa que los bancos de campo no ofrecen (Reyes, 2016). En las últimas décadas, las metodologías para especies tropicales incluyendo a las del género *Musa*, van en aumento, y las tasas de multiplicación son excepcionales (Basail *et al.*, 2015; Galán *et al.*, 2018; Espinosa *et al.*, 2020).

En la conservación *in vitro*, el crecimiento del explante puede ser retardado reduciendo la temperatura y luminosidad, aplicando al medio retardantes químicos o reduciendo el nivel de oxígeno presente. Bajo estas condiciones, los intervalos de repique, pueden ser extendidos hasta un

año o más (León-Lobos *et al.*, 2010, Cisneros-Marrero *et al.*, 2024).

La presente investigación se desarrolló con el objetivo de determinar las concentraciones de osmoreguladores en el medio de cultivo para la conservación *in vitro* de la Colección Cubana de Recursos Genéticos de *Musa*, conservada en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), y así facilitar su uso e intercambio con otras colecciones del mundo.

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.

Se utilizó el cultivar de plátano 'Burro enano' (ABB), procedente de la Colección Cubana de Recursos Genéticos de *Musa*, mantenida en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT).

Para disponer de la cantidad necesaria de explantes para el montaje del experimento se multiplicó el cultivar objeto de estudio por organogénesis. El

establecimiento *in vitro* de los ápices se realizó según López (1999). Las condiciones de cultivo fueron: temperatura 27 ± 2 °C y régimen de 16 horas de luz (DFFF de $62-68 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y ocho de oscuridad.

Una vez establecidos los ápices meristemáticos, se realizaron cuatro subcultivos con intervalos de 21 días. Se utilizó el medio de cultivo P5, constituido por las sales y vitaminas propuestas por Murashige y Skoog (MS) (1962), suplementadas con sacarosa (30 g L^{-1}), mioinositol (100 mg L^{-1}), ácido ascórbico (10 mg L^{-1}), ácido indolacético (AIA) ($0,18 \text{ mg L}^{-1}$) y 6-Bencilaminopurina (6-BAP) ($2,25 \text{ mg L}^{-1}$), el mismo fue gelificado con 6 g L^{-1} de agar (Biocen) y ajustado a pH de 5,8 según López (2006). Las condiciones de cultivo fueron las mismas descritas para el establecimiento *in vitro* de los ápices.

Se utilizó como control el medio de cultivo de multiplicación del plátano (P5) (López, 2006) y los tratamientos consistieron en tres concentraciones de sacarosa y tres de manitol combinadas como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Combinaciones de sacarosa y manitol utilizadas en el experimento para la conservación *in vitro* de *Musa*.

| Tratamiento (g.L ⁻¹) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Sacarosa | P5 | 30 | 45 | 60 | 30 | 45 | 60 | 30 | 45 | 60 |
| Manitol | 0 | 20 | 20 | 20 | 30 | 30 | 30 | 40 | 40 | 40 |

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. Para el análisis estadístico de los datos experimentales se empleó el Programa SPSS (*Statistical Package for Social*

Sciences) ver. 25.0 para *Windows*. Se comprobó el ajuste a la distribución normal de los datos de cada tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las varianzas (Levene). Siempre 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.

Posteriormente, los cultivares seleccionados por grupos genómicos fueron colocados en el medio de cultivo determinado para la conservación *in vitro* y evaluados.

Para valorar la supervivencia y el desarrollo de los explantes ante las concentraciones de sacarosa y manitol se realizó una primera evaluación a los 35 días de incubados los explantes y posteriormente a los 126, 236 y 336 días de incubados los explantes en el medio de cultivo. Se evaluó:

- Porcentaje de supervivencia
- Grado de oxidación según escala descrita por Rayas *et al.* (2022).
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.
- Altura de los brotes de yemas axilares (cm).
- Coeficiente de multiplicación (unidades).
- Grosor de la planta (mm)
- Número de Raíces (u)
- Longitud de la Raíz (mm)
- Número de Hojas (u)
- Largo Hoja (mm)
- Ancho Hoja (mm)
- Área Foliar (mm^2), se empleó la ecuación propuesta por Obiefuna y Ndubizu (1979) para *Musa spp.* que establece que Área Foliar = 0.8 (largo x ancho)

Para evaluar la capacidad de recuperación del material conservado y

su estabilidad genética mediante descriptores morfológicos, se subcultivaron los explantes conservados durante 11 meses a medio de cultivo de multiplicación (P5), seguidamente a medio de cultivo de enraizamiento y a los 30 días las plantas enraizadas, se transfirieron al ambiente *ex vitro*. En la fase de aclimatización, se utilizó como sustrato suelo y materia orgánica a base de cachaza en una proporción 3:1, en charolas de polipropileno de 70 alveolos. La siembra se realizó a 1 cm de profundidad, según la metodología propuesta por Pérez *et al.* (1999) en una casa de cultivo cubierta por una malla plástica (zarán), que permitía el paso de una densidad de FFF de $600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (70%). El riego se realizó por microaspersión. Se garantizó una humedad relativa del 85-90%.

A los 21 días de la plantación se evaluó la supervivencia y a los 45 días la altura de la planta, número de hojas activas y la presencia de plantas con cambios fenotípicos, según la metodología propuesta por Sandoval *et al.* (1997) para el género *Musa*.

El procesamiento estadístico de los datos experimentales se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA). Para la comparación múltiple de medias se aplicó la prueba T de *Student* con un nivel de significación de $p \leq 0,05$. Se evaluó en fase de aclimatización la ocurrencia de variaciones fenotípicas en las plantas obtenidas según López *et al.* (2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar la supervivencia y el desarrollo de los explantes ante las concentraciones de sacarosa y manitol se pudo apreciar que altas concentraciones de sacarosa disminuyen la supervivencia del explante (Figura 1). Cuando se combina sacarosa con 20 g L^{-1} de Manitol la disminución es

considerable, mientras que al combinarla con 30 g L⁻¹ de Manitol disminuye la supervivencia con el aumento de la

concentración de sacarosa, pero en menor medida.

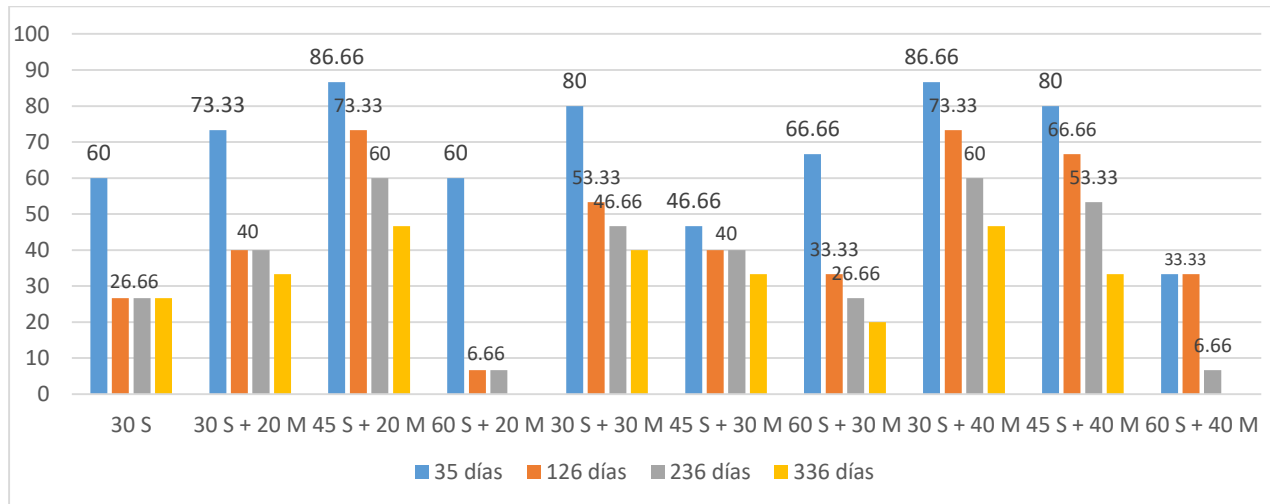


Figura 1. Efecto de los tratamientos de sacarosa y manitol sobre la supervivencia de los explantes a los 35, 126, 236 y 336 días en el cv. 'Burro enano'.

De igual forma las altas concentraciones de sacarosa (60 g L⁻¹) incrementan el grado de oxidación fenólica del explante, mientras que al utilizar 30 g L⁻¹ de manitol se aprecia menor grado de afectación, en

los tratamientos 4 (60 g L⁻¹ de Sacarosa + 20 g L⁻¹ de Manitol) y 10 (60 g L⁻¹ de Sacarosa + 40 g L⁻¹ de Manitol) los explantes no sobrevivieron a 100 días (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos de sacarosa y manitol sobre el grado de oxidación de los explantes a los 35, 126, 236 y 336 días del cv. de plátano 'Burro enano'.

| Tratamientos | Grado de oxidación | | | |
|-----------------|--------------------|----------|----------|----------|
| | 35 días | 126 días | 236 días | 336 días |
| 1. P5 | 1,44 a | 2,00 b | 2,00 a | 1,00 a |
| 2. 30 S + 20 M | 1,55 a | 2,16 b | 3,00 cd | 2,50 b |
| 3. 45 S + 20 M | 1,92 ab | 3,00 ab | 3,44 cd | 2,85 b |
| 4. 60 S + 20 M | 2,89 bcd | - | - | - |
| 5. 30 S + 30 M | 2,00 ab | 2,60 ab | 2,71 b | 2,66 b |
| 6. 45 S + 30 M | 1,86 ab | 2,50 ab | 2,66 b | 2,20 b |
| 7. 60 S + 30 M | 3,30 cd | 3,60 a | 3,75 d | 4,00 c |
| 8. 30 S + 40 M | 2,15 abc | 2,27 b | 3,00 cd | 4,00 c |
| 9. 45 S + 40 M | 2,17 abc | 2,20 b | 3,75 d | 3,80 c |
| 10. 60 S + 40 M | 3,60 d | - | - | - |

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

Al evaluar las variables morfológicas grosor del pseudotallo, altura del explante

y número de brotes se observa que los tratamientos estudiados de sacarosa y

manitol en todos los casos disminuye el crecimiento con diferencias estadísticas

con el testigo, que crece libremente en un medio de crecimiento (Tabla 3).

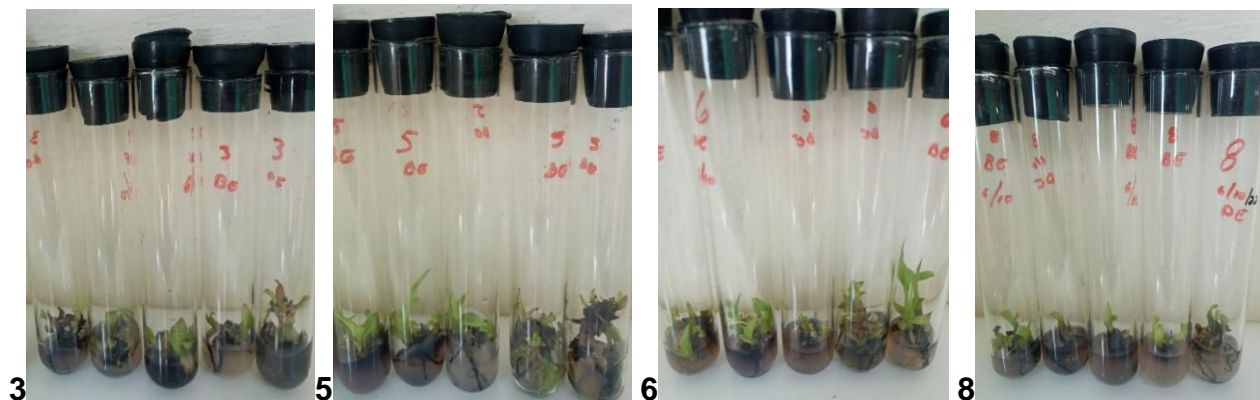
Tabla 3. Efecto de la concentración de sacarosa y manitol en la reducción del crecimiento de plátano cv. 'Burro enano'.

| Tratamiento | Altura de la plántula (mm) | | | Grosor del pseudotallo (mm) | | Número de brotes (u) | | |
|-----------------|----------------------------|----------|----------|-----------------------------|----------|----------------------|----------|----------|
| | 35 días | 126 días | 236 días | 126 días | 236 días | 35 días | 126 días | 236 días |
| 1. P5 | 1,88 a | 19,75 a | 31,75 a | 7,25 a | 7,50 a | 1,75 bc | 1,78 b | 1,50 c |
| 2. 30 S + 20 M | 0,37 b | 9,66 b | 18,83 b | 5,00 ab | 5,50 b | 2,33 abc | 2,36 b | 2,33 c |
| 3. 45 S + 20 M | 0,39 b | 7,54 bc | 7,33 d | 4,63 bc | 5,44 b | 2,45 abc | 2,46 b | 2,66 bc |
| 4. 60 S + 20 M | 0,12 c | - | - | - | - | 1,33 c | - | - |
| 5. 30 S + 30 M | 0,30 bc | 7,75 bc | 14,00 bc | 3,75 bc | 5,14 bc | 3,67 a | 4,40 a | 4,42 ab |
| 6. 45 S + 30 M | 0,40 b | 8,83 bc | 11,66 cd | 4,00 bc | 4,66 bcd | 3,29 ab | 4,33 ab | 5,50 a |
| 7. 60 S + 30 M | 0,25 bc | 4,40 c | 6,25 d | 3,40 bc | 3,00 d | 1,50 c | 2,20 b | 2,25 c |
| 8. 30 S + 40 M | 0,31 bc | 5,45 bc | 6,44 d | 3,63 bc | 4,11 bcd | 1,62 c | 2,36 b | 2,55 bc |
| 9. 45 S + 40 M | 0,26 bc | 3,50 c | 7,12 d | 3,00 c | 3,37 cd | 1,58 c | 1,60 b | 1,75 c |
| 10. 60 S + 40 M | 0,18 bc | - | - | - | - | 1,40 c | - | - |

Leyenda: S. Sacarosa, M. Manitol

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

En los tratamientos 5 (30 g L⁻¹ de Sacarosa + 30 g L⁻¹ de Manitol) y 6 (45 g L⁻¹ de Sacarosa + 30 g L⁻¹ de Manitol) se aprecian los valores medios de altura, número de brotes y grosor del pseudotallo, con coloración verde intensa del explante y vitalidad que denota poder vivir en este medio de cultivo aun por más tiempo (Figura 2).



Leyenda: 3. 45 g L⁻¹ de Sacarosa + 20 g L⁻¹ de Manitol, 5. 30 g L⁻¹ de Sacarosa + 30 g L⁻¹ de Manitol, 6. 45 g L⁻¹ de Sacarosa + 30 g L⁻¹ de Manitol y 8. 30 g L⁻¹ de Sacarosa + 40 g L⁻¹ de Manitol.

Figura 2. Efecto de la sacarosa y el manitol a los 236 días de incubación en el cultivar de plátano 'Burro enano'.

Hasta la evaluación realizada a los 236 días, los tratamientos 3, 5, 6 y 8 mostraron las mejores características morfológicas del explante.

Al evaluar el experimento a los 336 días se pudo corroborar que en el tratamiento 5, con 30 g L⁻¹ de Sacarosa y 30 g L⁻¹ de

Manitol, se apreciaron las mejores características morfológicas del explante (tabla 4), y mejor recuperación de los mismos al subcultivarlos a un medio de cultivo de multiplicación, además un alto coeficiente de multiplicación.

Tabla 4. Efecto de la concentración de sacarosa y manitol en la reducción del crecimiento de plátano cv. 'Burro enano', a los 336 días.

| Tratamiento | Grosor del pseudo-tallo (mm) | Altura del explante (mm) | Número de Raíces (u) | Longitud de la Raíz (mm) | Número de Hojas (u) | Largo Hoja (mm) | Ancho Hoja (mm) | Área Foliar (mm ²) | Coeficiente de Multiplicación | Recuperación (%) |
|----------------|------------------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|
| 1. P5 | 11,25 ab | 41,75 a | 8,50 a | 85,00 a | 10,25 a | 42,50 a | 17,50 a | 610,00 a | 1,50 b | 50,0 |
| 2. 30 S + 20 M | 10,33 ab | 25,00 b | 5,50 ab | 47,50 b | 7,16 abc | 22,50 b | 10,16 ab | 190,66 b | 2,16 ab | 100 |
| 3. 45 S + 20 M | 10,85 ab | 21,42 bc | 1,71 bc | 18,57 bc | 4,57 bcde | 13,42 bc | 8,14 bc | 119,42 b | 2,42 ab | 100 |
| 5. 30 S + 30 M | 15,16 a | 17,16 bc | 3,16 bc | 35,83 bc | 6,16 abcd | 16,16 bc | 6,33 bc | 115,33 b | 3,33 a | 100 |
| 6. 45 S + 30 M | 14,20 ab | 22,00 bc | 4,40 bc | 40,00 bc | 8,60 ab | 14,60 bc | 7,00 bc | 212,80 b | 3,40 a | 82,3 |
| 7. 60 S + 30 M | 7,66 bc | 11,66 c | 0,66 c | 6,66 c | 1,00 e | 3,33 c | 2,00 c | 16,00 b | 1,33 b | 100 |
| 8. 30 S + 40 M | 7,57 bc | 13,14 bc | 2,00 bc | 15,00 bc | 2,14 cde | 7,28 bc | 3,71 bc | 132,57 b | 1,57 b | 100 |
| 9. 45 S + 40 M | 7,00 c | 12,00 c | 2,40 bc | 16,60 bc | 1,40 de | 3,00 c | 2,00 c | 17,60 b | 1,40 b | 100 |

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

Las plantas conservadas *in vitro* del cv. 'Burro enano' se multiplicaron y se pudo apreciar que se recuperaron perfectamente mostrando las características semejantes a las multiplicadas en medio de cultivo P5 de multiplicación (Tabla 5).

Al ser evaluadas en la fase de aclimatización a los 15 días se pudo apreciar que del tratamiento 5 se mantuvo el 100 % y el resto de los tratamientos con porcentajes superiores a 75% (Tabla 6), con buenas características morfofisiológicas y sin presencia de variantes fenotípicas.

A los 45 días se pudo apreciar que, en la altura de la plántula, número de hojas y coeficiente de multiplicación se observaron pocas diferencias entre los tratamientos, en todos los casos se mostraron buen desarrollo de las plántulas y no aparecieron variantes fenotípicas, solo el tratamiento con 30 g L⁻¹ de sacarosa y 30 g L⁻¹ de Manitol mostró diferencias estadísticas en los valores de la altura y el número de hojas (Tabla 5).

Los resultados obtenidos reflejan claramente el efecto de los reguladores osmóticos, la adición de estas sustancias reduce los potenciales osmótico e hídrico por lo que pueden disminuir la adsorción de agua y nutrientes del medio de cultivo. El potencial osmótico del medio de cultivo tiene efecto directo en los explantes, conforme sea más negativo, menor será la adsorción de agua y por consecuencia habrá una baja disponibilidad de nutrientes (Uribe, 2010).

Tabla 5. Efecto de reguladores osmóticos en la multiplicación de plántulas conservadas *in vitro* en el cv. 'Burro enano'.

| Tratamiento | Grosor del pseudotallo (mm) | Altura de la plántula (mm) | Número de raíces (u) | Longitud de la Raíz (mm) | Recuperación (%) |
|----------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------|------------------|
| 2. 30 S + 20 M | 8,25 ab | 45,00 a | 5,50 ab | 47,50 b | 100 |
| 3. 45 S + 20 M | 8,39 ab | 21,42 bc | 1,71 bc | 18,57 bc | 100 |
| 5. 30 S + 30 M | 10,45 a | 27,16 bc | 3,16 bc | 35,83 bc | 100 |
| 6. 45 S + 30 M | 9,25 ab | 22,00 bc | 4,40 bc | 40,00 bc | 82,3 |
| 8. 30 S + 40 M | 5,75 bc | 13,14 bc | 2,00 bc | 15,00 bc | 100 |
| 9. 45 S + 40 M | 5,00 c | 12,00 c | 2,40 bc | 16,60 bc | 100 |

| Tratamiento | Hojas | Largo Hoja (mm) | Ancho Hoja (mm) | Área Foliar (mm ²) | CM |
|----------------|-----------|-----------------|-----------------|--------------------------------|---------|
| 2. 30 S + 20 M | 7,16 abc | 22,50 b | 10,16 ab | 190,66 b | 2,16 ab |
| 3. 45 S + 20 M | 4,57 bcde | 13,42 bc | 8,14 bc | 119,42 b | 2,42 ab |
| 5. 30 S + 30 M | 6,16 abcd | 16,16 bc | 6,33 bc | 115,33 b | 3,33 a |
| 6. 45 S + 30 M | 8,60 ab | 14,60 bc | 7,00 bc | 212,80 a | 3,40 a |
| 8. 30 S + 40 M | 2,14 cde | 7,28 bc | 3,71 bc | 132,57 b | 1,57 b |
| 9. 45 S + 40 M | 1,40 de | 3,00 c | 2,00 c | 17,60 b | 1,40 b |

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

Tabla 6. Efecto residual de los reguladores osmóticos en la aclimatización de plántulas mantenidas durante 11 meses en medio de cultivo de crecimiento mínimo en el cv. 'Burro enano'.

| Tratamiento | Supervivencia (%) | Altura de la planta (cm) | Número de hojas | Diámetro del pseudotallo (mm) | Coefficiente de multiplicación (u) |
|----------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 2. 30 S + 20 M | 87.50 | 14,3 b | 4,7 b | 11 | 2,1 |
| 3. 45 S + 20 M | 93.75 | 15,0 b | 5,0 b | 10 | 2,3 |
| 5. 30 S + 30 M | 100 | 17,0 a* | 7,2 a | 13 | 2,8 |
| 6. 45 S + 30 M | 93.75 | 14,8 b | 4,3 b | 10 | 2,2 |
| 8. 30 S + 40 M | 75,00 | 12,6 c | 4,7 b | 11 | 2,1 |
| 9. 45 S + 40 M | 80,00 | 11,5 c | 5,1 b | 10 | 1,8 |

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

Resultados similares obtuvieron Rayas *et al.* (2013) en la conservación *in vitro* de *Xanthosoma* spp., y Rayas *et al.* (2025) en *Colocasia esculenta*, donde se observó que al aumentar la concentración de manitol disminuye la altura, aumenta el número de brotes, disminuye el número de raíces, aumenta el número de hojas activas y disminuye la muerte de las

hojas. Varios autores aseguran que el uso de osmorreguladores como el manitol, solo o combinado con otros, permite prolongar los periodos de subcultivo, y por ende la conservación efectiva de explantes, garantizando una tasa de crecimiento reducida del cultivo, así como un alto índice de supervivencia y viabilidad del material vegetal (Carmona

et al., 2013 y Rayas *et al.*, 2025). Esto puede estar dado porque las plantas no tienen una ruta nativa para la biosíntesis de los alcoholes de azúcar (manitol y sorbitol) por lo que es difícil asimilarlos. Sin embargo, una vez traslocados, pueden ser metabolizados y utilizados (Thorpe *et al.*, 2008), reduciendo el metabolismo y crecimiento de la planta *in vitro*. Además, se señala que la adición de manitol disminuye el potencial osmótico del medio de cultivo, y reduce la absorción de nutrientes, afectando el crecimiento, pero altas concentraciones de manitol (superiores a 25 g L⁻¹) puede tener consecuencias desfavorables para el desarrollo del explante, que reducen el vigor, número de brotes y sobrevivencia (Montiel-Castelán *et al.*, 2016).

Al analizar entre los genetistas la composición de la Colección Cubana de *Musa* conservada en el INIVIT, se seleccionaron los cultivares representativos por cada grupo genómico, al incubar estos cultivares en el medio de cultivo que contiene Sales y vitaminas recomendadas por Murashige y Skoog (1962), suplementadas con de 30 g L⁻¹ de sacarosa y manitol (Tabla 7), a los cuatro meses se pueden apreciar porcentajes de supervivencia superiores al 90% en todos los grupos, con el 100% de supervivencia en el grupo de los plátanos.

A los ocho meses de incubación se mantienen porcentajes por encima del 80% y a los 11 meses se aprecia disminución de la supervivencia, donde el grupo ABB muestra el menor valor (53,3%). Los cultivares de los grupos diploides y triploides AAA mantienen la mayor supervivencia (80 y 86%).

Se puede apreciar la diferencia entre los grupos genómicos, pero en general es

posible utilizar el medio de cultivo para todos ellos. El medio de cultivo de crecimiento mínimo permite conservar tanto los genotipos tipo bananos como plátanos tipo vianda y tipo burro, ya sean diploides, triploides o tetraploides por encima de 11 meses de cultivo. Con un buen control de la desecación del medio de cultivo, disminución de la temperatura de incubación, los intervalos de subcultivos pueden ser prolongados. Así el medio de cultivo de crecimiento mínimo puede limitar las labores de cultivo y minimizar los costos del mantenimiento de germoplasma *in vitro*.

En la estabilidad genética de las plantas procedentes del cultivo *in vitro*, pueden influir varios factores. Dentro de éstos se encuentran: la variabilidad genética del cultivar o genotipo que va a ser propagado, la composición del medio de cultivo, la elección del explante que se utilizará, así como el grado de diferenciación de sus tejidos y el tiempo de permanencia *in vitro* del cultivo (Kumaravel *et al.*, 2020).

Para la conservación *in vitro* de los recursos genéticos se seleccionan plantas tipo de cada cultivar y el medio de cultivo con la menor cantidad de componentes que puedan causar variabilidad y como explante el ápice procedente de hijuelos tipo espada utilizado en la multiplicación convencional y que constituye un tejido poco diferenciado, se realizan pocos subcultivos (solo entre cuatro y cinco) antes de ser colocados en el medio de cultivo de crecimiento mínimo y se subcultivan solo cuando el porcentaje de supervivencia de los explantes conservados disminuye al 50%.

Tabla 7. Porcentajes de supervivencia de los cultivares por grupos genómicos en el medio de cultivo de crecimiento mínimo.

| No. | Grupo genómico | Cultivar | Genoma | Porcentaje de supervivencia (%) | | |
|---------------------------|---------------------|------------------|--------|---------------------------------|---------|----------|
| | | | | 4 meses | 8 meses | 12 meses |
| 1. | Diploides | SH 3362 | AA | 100 | 90 | 70 |
| 2. | | Calcuta 4 | AA | 100 | 100 | 100 |
| 3. | | Safet Velchi | AB | 100 | 90 | 80 |
| 4. | | BB de Viet Nam | BB | 90 | 80 | 70 |
| | Media | | | 97,5 | 90,0 | 80,0 |
| Bananos Triploides | | | | | | |
| 5. | Cavendish | Gran enano | AAA | 100 | 100 | 90 |
| 6. | | Willian | AAA | 90 | 80 | 60 |
| 7. | Gross Michel | Gross Michel | AAA | 100 | 100 | 90 |
| 8. | Red Green red | Jhonson morado | AAA | 90 | 80 | 60 |
| 9. | Ibota | Yangambi | AAA | 90 | 80 | 50 |
| | Media | | | 94,0 | 88,0 | 70,0 |
| 10. | Tetraploides | SH 3436 – L9 | AAAA | 90 | 80 | 60 |
| 11. | | INIVIT b 2006 | AAAA | 90 | 90 | 70 |
| 12. | | FHIA – 17 | AAAA | 90 | 80 | 60 |
| | Media | | | 90,0 | 83,3 | 63,3 |
| Plátanos | | | | | | |
| 13. | Plantain | INIVIT PV 06 30 | AAB | 100 | 100 | 90 |
| 14. | | INIVIT PV 2011 | AAB | 100 | 90 | 70 |
| 15. | Missoure | Zanzíbar | AAB | 100 | 100 | 100 |
| 16. | Silk | Manzano INIVIT | AAB | 100 | 100 | 100 |
| 17. | Pome | Kijakasi | AAB | 100 | 90 | 70 |
| | Media | | | 100 | 96,0 | 86,0 |
| 18. | Tetraploides | FHIA – 04 | AAAB | 90 | 80 | 60 |
| 19. | | FHIA – 21 | AAAB | 100 | 90 | 80 |
| 20. | | FHIA – 20 | AAAB | 100 | 80 | 70 |
| | Media | | | 96,6 | 83,3 | 70,0 |
| Burros | | | | | | |
| 21. | Bluggoe | Burro enano | ABB | 100 | 90 | 70 |
| 22. | | INIVIT PB – 2012 | ABB | 100 | 80 | 50 |
| 23. | Pisang Awak | Dwark Yawa | ABB | 90 | 70 | 40 |
| | Media | | | 96,6 | 80,0 | 53,3 |

En los estudios realizados en la fase de aclimatización no se observaron variantes fenotípicas.

CONCLUSIONES

Se define que el medio de cultivo que contiene sales propuestas por Murashige y Skoog suplementado con 3% de sacarosa y 3% de Manitol es efectivo para el cultivo en crecimiento mínimo de *Musa*

spp., los cultivares representativos de los grupos genómicos sobreviven por un año. Los cultivares de los grupos genómicos AA, BB, AAB y AAAB exhiben los mayores porcentajes de supervivencias en el ciclo de cultivo (superior al 70%) y los del grupo ABB los porcentajes más bajos (53,3%).

BIBLIOGRAFÍA

- Basail, M.; Medero, V.; Gutiérrez, Y.; Torres, M.; López, J.; Santos, A.; Rayas, A.; Bauta, M.; Bevidez, Y.; Ortega, A. 2015. Multiplicación *in vitro* de plátano vianda cv. 'INIVIT PV-2011' (*Musa* AAB) en Sistemas de Inmersión Temporal. *Bioteología Vegetal* 15(3): 177-180
- Carmona, O.E.; Díaz, L.C.; Beltrán, J.D. 2013. Efecto de los osmolitos sacarosa, manitol y sorbitol en la conservación *in vitro* de *Dioscorea alata*, *D. bulbifera*, *D. rotundata* y *D. trifida* por el método de crecimiento mínimo. *Rev. Asoc. Col. Cienc. (Col.)* 2013, 25: 41-51
<https://revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/19>.
- Cisneros-Marrero, I.V.; C.L. Miceli-Møndez A.G. Rocha-Loredo, M. Peraltameixueiro Y M.A. Lopez-Miceli. 2024. Conservación *in vitro* a mediano plazo de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews; *Orchidaceae*). *Polibotánica* 57: 145-155 México. DOI: 10.18387/polibotanica.57.8é
- Espinosa, A.L.; Silva, J.J. y Caise, M. 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.
- Galán, V.; Rangel, A.; López, J.; Pérez, J.B.; Sandoval, J. y Souza, H. 2018. Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 40(4): (e-574). DOI: [10.1590/0100-29452018574](https://doi.org/10.1590/0100-29452018574).
- Kumaravel, M., Uma, S., Backiyarani, S., Saraswathi, S.M. and Mayilvaganan, M. 2020. Antioxidant enzyme activities during somatic embryogenesis in *Musa acuminata* Colla (AAA group) "Grand Naine" and *Musa* spp. (AAB group) "Rasthali." *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. doi:10.1007/s11627-019-10017-3.
- León-Lobos, P.; Seguel, I.; Condón, F. 2010. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos. En: Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur / IICA Montevideo: PROCISUR, IICA, 2010. 172p.
- López, J. 1999. Genetic improvement of *Musa* spp. by *in vitro* mutational plant breeding. *InfoMusa* 8: 2-8.
- López, J. 2006. Nueva metodología para el desarrollo de la embriogénesis somática en el cultivar de plátano vianda 'Navolean' (*Musa* spp., grupo AAB). Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Centro de Bioplasmas. Universidad de Ciego de Avila. Ciego de Avila, Cuba, 100p.
- López, J., Pérez, J. E., Rayas, A., Montano, N., Reinaldo, D., Y Medero, V. 2018. Acclimatización y evaluación en finca de producción del cultivar de plátano vianda 'INIVIT PV-ENANO' (*Musa* spp., AAB) propagado *in vitro*. *Rev. Agricultura Tropical* 4(1), 34-44
- Martínez-Solórzano, G.E. y Rey-Brina, J.C. 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.
- Milián, M.D. 2018. Recursos genéticos de la malanga del género *Xanthosoma* Schott en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 39(2): 112-126.
- Montiel-Castelán, P.; Castillo-Martínez, C.R.; Gómez-Reyes, L.A.; Valle-Arizaga, M.; Jasso-Mata, J. 2016. Conservación *in vitro* por crecimiento mínimo de *Swietenia macrophylla* King, y *Tectona grandis* L. *Agroproductividad* 9(2): pp: 20-25.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473-497.
- Obiefuna J.C.; Ndubizu T.O.C. 1979. Estimating leaf area of plantain. *Scientia Horticulturae* 11(1): 31-36.
- Pérez, J.N.; Agramonte, D.; Jiménez, F. And Ramírez, D. 1999. Informe Final del Proyecto “Desarrollo y perfeccionamiento de la propagación masiva en las fases III y IV, enraizamiento y adaptación en caña de azúcar, papa, plátanos y bananos y adaptación de semillas artificiales en caña de azúcar”. IBP, Santa Clara, Cuba; 82p.
- Ramírez, M.; Lindorf, H. Y García, E. 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.
- Rayas, A.; Cabrera, M.; Santos, A.; Basail, M.; López, J.; Medero, V.; Beovides, Y. 2013. Efecto del manitol y el nitrato de plata en la conservación *in vitro* de la malanga (*Xanthosoma* spp.). *Revista Colombiana de Biotecnología* XV(1): 167-171.
- <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/28620>.
- Rayas, A.; López, J.; Basail, M.; Santos, A. 2022. Efecto de la concentración de sales en el medio de cultivo para conservación *in vitro* de plátanos (*Musa* spp.). *Rev. Agricultura Tropical* 8(1):9-16.
- Rayas, A.; Santos, A.; Basail, M.; López, J.; Medero, V.R.; Beovides, Y. 2025. Conservación *in vitro* de *Colocasia esculenta* (Araceae) bajo condiciones de crecimiento mínimo. *Bionatura journal*, 2(1):9. doi: 10.70099/BJ/2025.02.01.9. <https://bionaturajournal.com/2025.02.01.9.html>.
- Reyes Román, G.A. 2016. Establecimiento de un banco de germoplasma de clones élite de banano (*Musa* spp.) cv. Williams, Valery (AAA) y plátano Barraganete (AAB) en condiciones de crioconservación. Trabajo de Diploma presentado para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias para el Desarrollo. Guayaquil, Ecuador. 56 pp.
- Rustagi, A., Shekhar, S., Kumar, S., Lawrence, K., Bhat, V. And Sarin, N. 2019. High speed regeneration via somatic embryogenesis in elite Indian banana cv. Somrani monthan (ABB). *Vegetos*, 9p.
- Sandoval, J.A.; Pérez L. And Côte. 1997. Estudio morfológico y de la estabilidad genética de plantas variantes de banano (*Musa* AAA cv. ‘Gran Enano’). *Corbana* 22(48), 41-60.
- Uribe Trimiño, A. 2010. Conservación *in vitro* por crecimiento mínimo de tres variedades de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). Tesis presentada en opción del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Michoacana

de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán. México. 94 p.
Thorpe, T.; Stasolla, C.; Yeung, E.C.; De Klerk, G.J.; Roberts, A.; George, E.F. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects,

and Support Systems. In: Plant Propagation by Tissue Culture. Ed: George, E.G; M. A. Hall, Geert-Jan De Klerk. S 3rd Edition, volumen 1, ed: 115-175.

Recibido: 11 de febrero de 2025; Aceptado: 21 de mayo de 2025

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de los autores:

Conceptualización y curación de datos: Aymé Rayas Cabrera, Arletys Santos Pino, Jorge López Torres, Milagros Basail Pérez, Víctor R. Medero Vega, Yoel Beovides García

Investigación: Aymé Rayas Cabrera, Arletys Santos Pino, Jorge López Torres, Marilyn Martínez Pérez

Escritura-borrador original: Aymé Rayas Cabrera, Arletys Santos Pino

Redacción-revisión y edición: Aymé Rayas Cabrera, Milagros Basail Pérez, Víctor R. Medero Vega, Yoel Beovides García.

Administración de proyectos: Aymé Rayas Cabrera

Ética: El autor para la correspondencia confirma que todos los demás autores han leído y aprobado el manuscrito y que no existen cuestiones éticas involucradas.

La referencia a marcas comerciales de equipos, instrumentos o materiales específicos se realiza únicamente con fines de identificación, sin que ello implique ningún compromiso promocional por parte de los autores ni del editor.