

## Micropropagación de plátano variedad Barragante

Canchignia F., L Ramos\*\*

Laboratorio de Biotecnología vegetal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo

### ANTECEDENTES

El plátano a sido usado por el hombre como alimento desde hace miles de años. Este cultivo a incrementado su valor social y económico, lo que a implica la necesidad de mejorar el rendimiento y calidad, mediante la introducción de tecnologías de producción eficientes. En Ecuador se estima que hasta 2001 la superficie plantada de plátano han alcanzado una superficie 183 599 Ha con una producción de 488 816 TM (INEC 2002). Las variedades de plátanos comerciales, más utilizada en la actualidad no producen semillas fértiles (triploides estériles), por lo que su propagación es asexual, utilizando como material vegetativos cormos de los brotes laterales o "hijos " de la planta. Este sistema de propagación clonal es lento (3 a 5 brotes por ciclo en una plantación comercial). Además este sistema permite la diseminación de enfermedades y plagas a los nuevos cultivos.

El uso de las técnicas de cultivo de tejidos en la micropropagación clonal **in vitro** de musaceas, ha permitido la producción masiva de plantas sanas, libres de hongos, nematodos, bacterias y además la multiplicación rápida de genotipo de gran importantes económica en áreas relativamente pequeñas, esto a permitido tener poblaciones uniformes con alto rendimiento por hectárea.

### Justificación

En la actualidad, diversos cultivares de músaceas son cultivadas usando las técnicas in vitro vía organogénesis directa, a través de yemas axilares (Vasil 1994). Esta técnicas constituyen la base de la propagación masivas de plátano, vigente actualmente en muchos países para propagar y distribuir de forma comercial y libre de enfermedades genotipos deseados (Afza et al. 1996).

El genotipo es un parámetro conocido por influir en la eficiencia de la propagación in vitro. En el presenta trabajo se obtuvieron plántulas a partir de brotes axilares proveniente del ápice vegetativo, se espera que este material presente uniformidad en las plantaciones, tanto en el tamaño de racimos como en el número de manos, además se incrementa incrementando la calidad del producto final. El objetivo de esta investigación fue el siguiente: Establecer un protocolo para la Micropropagación de plátano variedad barraganete

---

\* Investigador;

\*\* Directo del Laboratorio de Biotecnología

### MATERIALES Y METODOS

#### Localización del proyecto

La presente investigación se la realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ubicado en los predios centrales, Km. 1 ½ vía Quevedo-Santo Domingo de los Colorados. La recolección del material vegetativo se la realizo en diferentes lugares de el cantón Quevedo, los trabajo fueron asistido por un investigador y el director de laboratorio desde el inicio hasta su culminación.

## **Técnicas y procedimiento Generales**

El instrumental de laboratorio empleado en el manejo del material vegetativo fue esterilizado en estufas a 180 °C. Durante dos horas. Todas estas operaciones de inoculación y transferencias se realizaron en la cámara de flujo laminar. El medio de cultivo basal usado fue el MS (Murashige y Skoog, 1962) y se esterilizó en autoclaves a 121 °C y 1.2 Kg/cm<sup>2</sup> por 15 minutos. El pH de los medios se ajustó a 5.6 antes de esterilizar.

El material vegetativo fue incubado en cuarto de crecimiento artificial con lámparas fluorescentes de 20 y 40 watts, con una densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activo de 26 µmol/m<sup>2</sup>s y un fotoperíodo de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad. Esta investigación consta de cuatro fases:

## **Establecimiento del cultivo aséptico**

El objetivo de esta fase fue determinar el mejor protocolo para la desinfección de explantes de plátano variedad Barragante, los explantes fueron colocados en un medio de cultivo MS suplementado 0.5 mg/l de BAP. A continuación se detallan los tratamientos:

1. 10% de Hipoclorito/20 min. + 1% bicloruro de mercurio/5 min.
2. 20% de Hipoclorito/10 min. + 1% bicloruro de mercurio/5 min.
3. 10% de Hipoclorito/20 min. + 0,5% bicloruro de mercurio/5 min.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 3 tratamientos, 2 repeticiones, cada repetición con 10 observaciones. A las 3 semanas se evaluaron; Explantes no contaminados, no quemado, libre de fenolización y supervivencia.

## **Multiplicación de brotes**

Este experimento permitió establecer el balance óptimo de citoquininas / auxinas en el medio de cultivo. Para la proliferación de brotes en las variedades de plátano barraganete, a continuación se detallan los tratamientos estudiados :

- 1) 2 mg/l BAP
- 2) 2,5 mg/l BAP+ 0,8 mg/l AIA
- 3) 3,0 mg/l BAP+ 1,0 mg/l AIA
- 4) 3,5 mg/l BAP+ 1,6 mg/l AIA

## **Enrizamiento y aclimatación ex vitro**

Para el enrizamiento y aclimatación ex vitro de las vitroplantas de plátano se utilizaron diferentes sustratos como arena, Carboncillo y Tierra de huerta. Además se utilizó vitroplantas de 5 centímetros de longitud. A continuación se detallan los tratamientos.

- 1) Arena
- 2) Carboncillos
- 3) Tierra de huerta

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con 3 tratamientos y 10 repeticiones por tratamientos, con 3 unidades experimentales. A las tres semanas se evaluó altura de plantas, números de raíces por planta y supervivencia.

## **RESULTADOS**

### **Establecimiento del cultivo aséptico**

De acuerdo al análisis estadístico se reportaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. En la variable explantes libre de contaminación el tratamiento 2 (20% HNa/10 min + 1%

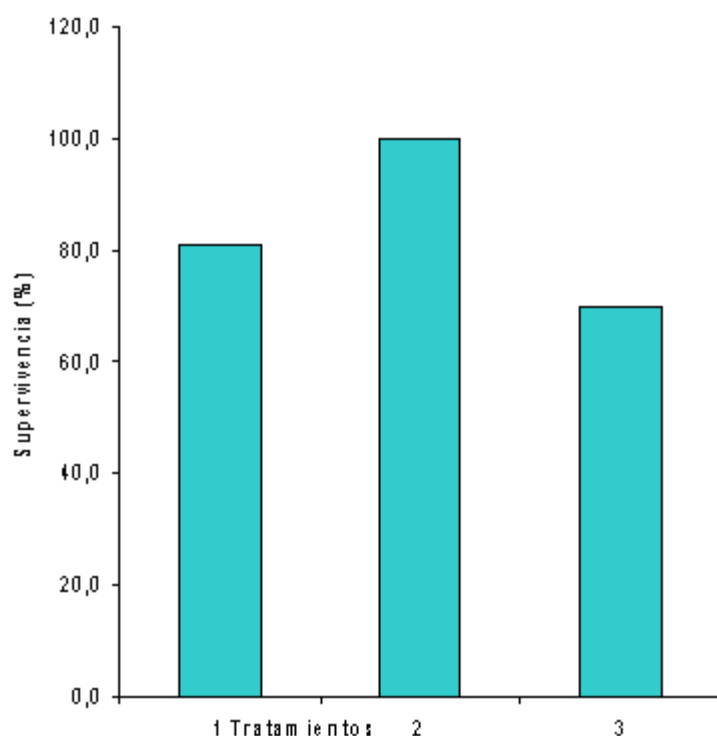
HgCl<sub>2</sub>/5 min), fue el que mejor respuesta presento con respecto al tratamiento 3 (10% HNa/10 min +1% HgCl<sub>2</sub>/0,5 min) pero estadísticamente fue similar con el tratamiento uno (10% HNa/20 min+ 1% HgCl<sub>2</sub> 5 min). Mientras que para la variable explantes no fenolizados no se reporto ninguna diferencias estadística para ningun tratamiento en estudio. En lo que respecta a los explantes sin quemar tampoco se repoto diferencias significativas por lo que se observo un comportamiento similar en los tramiento evaluados para estas dos ultimas variables (Cuadro 1 y figura 2).

### Cuadro 1. Medias de explantes libre de contaminación, no fenolizados y sin quemar.

*Letras iguales no difieren entre de acuerdo al test de studen (p<0.05)*

Tratamientos	Libre de contaminación	No fenolizados	Sin quemar
10% HNa/20 m+ 1% Hg <sub>2</sub> /5 m	90 ab	95 a	89 a
20% HNa/10 m+ 1% Hg <sub>2</sub> / 5m	100 a	100 a	100 a
10% HNa/10 m+0,5% Hg <sub>2</sub> /5m	71 b	94 a	100 a

En lo respecta a la supervivencia se observa diferencia significativas entre los tratamientos. Siendo el tratamiento dos (20% HNa/10 m+ 1% Hg<sub>2</sub>/5 m) el que mejor respuesta presento con respecto al tratamiento tres (10% HNa/10 m+ 0,5% Hg<sub>2</sub>/5m), pero cuando lo comparmos con el tratamiento uno no se reporto diferencia significativa, existiendo un comportamiento muy similar entre estos dos tratamientos (figura 1).



**Figura 1. Porcentaje de supervivencia de vitroplantas en la fase de aclimatación ex vitro.** *Letras iguales no difieren entre de acuerdo al test de studen (p<0.05)*

## Multiplicación de brotes

En el cuadro 2 observamos que en la variable número de brotes se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Siendo el tratamiento suplementado con 2,5 mg/l de BAP + 0,8 mg/l AIA, en que se alcanzó la mayor tasa de multiplicación con un promedio de 5,250 brotes por explantes siendo estadísticamente significativo con respecto al tratamiento cuatro (3,5 mg/l BAP + 1,6 mg/l AIA). Existiendo un comportamiento similar con los tratamientos uno y tres. Mientras que para la longitud de brotes se presentaron diferencias significativas para los tratamientos en estudio. El tratamiento 2 mg/l de BAP fue el que mejor respuesta presentó con respecto a los tratamientos 2 (2,5 mg/l BAP + 0,8 mg/l AIA), 3 (3,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l AIA) y (3,5 mg/l BAP + 1,6 mg/l AIA), con un promedio de 2,746 centímetros de longitud por brotes (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Medias del número y longitud de brotes. Letras iguales no difieren entre de acuerdo al test de student (p<0.05)**

Tratamientos	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)
2 mg/l BAP	4,417 ab	2,746 a
2,5 mg/l BAP+0,8 mg/l AIA	5,250 a	1,950 b
3,0 mg/l BAP+1,0 mg/l AIA	4,333 ab	2,117 b
3,5 mg/l BAP+1,6 mg/l AIA	3,917 b	1,742 b

## Enrizamiento ex vitro y aclimatación

En el cuadro 3 se observa que la variable altura de plantas presentó diferencias significativas entre tratamientos, siendo el sustrato arena y carboncillo donde se obtuvieron los mejores resultados. Pero estadísticamente estos dos tratamientos son iguales con promedios de 5,173 y 6,571 respectivamente. Pero fueron superiores al tratamiento tierra de huerta quien alcanzó promedio de 3,088 centímetros de longitud. En lo que respecta a las variables número de raíces y supervivencia se dieron respuestas similares a altura de planta la arena y el carboncillo fueron los que mejor respuesta presentaron y estadísticamente fueron diferentes al tratamiento con tierra de huerta (cuadro 3).

**Cuadro 3. Medias de altura de plantas, número de raíces y supervivencia en la adaptación y enrizamiento de vitroplantas de plátanos variedad barraganete. Letras iguales no difieren entre de acuerdo al test de student (p<0.05)**

Tratamientos	Altura de plantas	Número de raíces	Supervivencias
Arena	5,173 a	3,900 a	83,310 a
Carboncillo	6,571 a	4,900 a	96,660 a
Tierra de huerta	3,088 b	1,950 b	49,950 b

## CONCLUSIONES

En el establecimiento aséptico de las yemas de plátano la mejor respuesta se obtuvo en el tratamiento 20% HNa/10min+ 1% HgCl<sub>2</sub> 2/5 min suplementado con 0,5 mg/l BAP

En la fase de multiplicación, el medio de cultivo con las sales al 100% en concentraciones de 2,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l AIA se obtuvo el mayor número de brotes con un promedio 5,250 por explantes

Para el enrizamiento y aclimatación ex vitro los sustratos arena y carboncillo fueron los mejores para adaptar y enraizar vitroplantas de plátano variedad barraganete

## **BIBLIOGRAFIA**

INEC. 2002. disponible en <http://www.inec.ec>

Alzab C., Abad M. 1996. Los sustratos en horticultura. Revista Agrícola Vergel. B: 146-152

Vasil C. 1994. Phenotypic genotypic stability of tissue cultured plants H(Ed): Pp. 73-91