Capítulo 22

Micropropagación de plátanos y bananos

A. Angulo*
M. Perea**

Agradecimientos

Es un honor para los autores presentar un sincero agradecimiento al Dr. A. D. Krikorian por su permanente ayuda en el desarrollo de estos trabajos y por el suministro de los clones Sabi y Pelipita. Colciencias participó en la financiación de la fase inicial de este estudio. La Federación Nacional de Cafeteros y el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) suministraron el material vegetal con que se inició la colección del germoplasma in vitro.

* Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
** Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Conceptos Básicos

Dentro de la familia de las Musáceas, el género *Musa* ha adquirido importancia en la alimentación humana a nivel mundial; de él derivan dos tipos específicos: los plátanos de cocción ('cooking bananas') y los bananos que se consumen crudos ('dessert bananas').

Las teorías sobre el origen indomalayo de esos cultivares se remontan a los estudios de Kurt en 1865, y hoy ha sido ampliamente demostrado que todos los bananos y plátanos comestibles se derivan de dos especies silvestres: *Musa acuminata* Colla (*M. cavendishii* Lamb ex. Paxt.) y *Musa balbisiana* Colla.

Actualmente, los sistemas de clasificación generalmente aceptados se basan en los trabajos de Simmonds y Shephard (1956) quienes establecieron calificaciones para identificar los aportes genómicos provenientes de las especies *M. acuminata* (genoma A) y *M. balbisiana* (genoma B).

Clones

En este capítulo se discuten esencialmente los clones triploides, mucho más numerosos que los diploides y tetraploides, y se designarán con los siguientes códigos: AAA, para bananos con muy bajo contenido de almidones y mayor contenido de azúcares; AAB, para plátanos de cocción del tipo harton con dominancia 'acuminata'; y ABB, para plátanos con dominancia 'balbisiana', llamados también 'cuatro filos' en algunos países de América tropical, con alto contenido de almidones y bajo contenido de azúcares.

Los plátanos con dominancia balbisiana han demostrado tolerancia a la sigatoka negra (p.e. los clones Saba y Pelipita) puesto que, según Krikorian y Cronauer (1983), el genoma B (de balbisiano) trasfiere resistencia o tolerancia a esta enfermedad.

El trabajo descrito en este capítulo está relacionado con micropropagación y se basa primordialmente en algunos clones de interés para Colombia, como Saba (ABB), Pelipita (ABB), 'Grand Naine' o Gran Enano (AAA), Hartón (AAB), y un mutante de éste, el Hartón Enano (AAB). Se mencionan además algunos diploides de acuminata (genoma A) como el Bocadillo (AA) que presentan interés en zonas afectadas por el gusano tornillo (*Cochliomera humboldti*).

El clon Saba, miembro del grupo ABB, es notable por su alto grado de tolerancia a una enfermedad temible, la sigatoka negra, causada por el

hongo *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* (Stover, 1977). Este patógeno, de extrema agresividad, fue detectado en Urabá, Colombia, en diciembre de 1981. El clon Saba posee también alto grado de tolerancia a la sigatoka amarilla (causada por *Mycosphaerella musicola*) y al moko (causado por la bacteria *Pseudomonas solanacearum*). Los caracteres organolépticos del clon son similares a los del plátano Hartón (*Musa* sp., AAB) aunque Saba tiene mayor contenido de almidones por la dominancia del genoma B.

El clon Gran Enano (AAA), principal cultivar de banano de exportación en la actualidad, tiene las siguientes características: su contenido de almidones es bajo; es resistente a las razas 1, 2 y 3 del mal de Panamá, causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, es susceptible a la sigatoka amarilla, al moko, a la sigatoka negra, y a la raza 4 del mal de Panamá (Perea y Angurita, 1984).

Mejoramiento

La mayor parte de los esfuerzos de investigación en el género *Musa* han procurado mejorar la calidad de la fruta, la condición de enanismo de la planta para contrarrestar su volcamiento, y la resistencia del germoplasma a las enfermedades ya mencionadas cuyo control exige hoy al investigador soluciones inmediatas. No las hubo en el pasado cuando el mal de Panamá, p.ej., devastó los cultivares de exportación del grupo Gros Michel, anteriormente cultivados en la zona bananera del Magdalena y en Urabá, en Colombia. En la actualidad, tales soluciones inmediatas son necesarias para controlar el moko del plátano, para reducir la alta incidencia que tiene la sigatoka común en el plátano de la zona cafetera, y para combatir la sigatoka negra que afecta tanto al banano como al plátano.[1]

---

1 La sigatoka negra se manifiesta como manchitas de color marrón sobre las hojas. La esporulación del hongo tarda de 18 a 30 días. Los primeros síntomas visibles son rayas inicialmente aparece un punto marrón inconfundible, luego una estría que se alarga en el sentido de la venación secundaria, y se hace gradualmente más oscura; finalmente la mancha toma una forma más elíptica. Estos cambios se suceden rápidamente.

Los síntomas en el plátano Hartón (grupo AAB) por ejemplo, son la defoliación total, el racimo colgante, el sabor ácido de la fruta que prácticamente la inutiliza, y los hijuelos que no prosperan. En condiciones favorables, es decir, con temperaturas superiores a los 21-22 °C y con humedad ambiente, el hongo se desarrolla rápidamente.

La sigatoka negra es altamente patogénica en América tropical (Stover, 1978). Se conoce en áreas bajas, donde afecta tanto a cultivares de plátano como de banano. Se desconoce como actúa más de 1000 msnm, zona donde la sigatoka común (*Mycosphaerella musicola*) se convierte en un patógeno muy agresivo; esta enfermedad, descrita en Java en 1902, tiene semejanzas epidemiológicas muy estrechas con la sigatoka negra. (Continúa)

Los costos de la aplicación de fungicidas para el control de estas enfermedades en vastas extensiones de cultivo —considerando la agresividad que desarrolla la sigatoka negra en los cultivares tradicionales de plátano y previendo su posible dispersión a las regiones andinas colombianas— hacen necesario el estudio del potencial de regeneración de los brotes para anticiparse al remplazo total de aquellos cultivares por variedades tolerantes o resistentes.

El plátano y el banano son algunos de los cultivos conspicuamente más estériles por su condición de triploides; sus frutos son partenocárpicos y su semilla sexual es estéril. Por consiguiente, los mecanismos convencionales de mejoramiento no son aplicables a estas especies, a excepción de los cruces entre diploides y tetraploides que sí son fértiles. Así pues, la propagación de clones comestibles debe hacerse únicamente por vía vegetativa (Krikorian y Cronauer, 1984a).

En la propagación vegetativa tradicional se utilizan los siguientes materiales: yemas que surgen alrededor de la corona del cormo, brotes jóvenes llamados 'puyones', colinos o hijuelos que salen de la base del 'tronco' principal, y porciones del cormo. Los colinos ('sword suckers') se usan más comúnmente ya que fructifican con mayor rapidez que los otros propágulos (Simmonds, 1973).

Todos los propágulos permiten la trasmisión de patógenos sistémicos y vasculares; por otro lado, a menudo hay escasez de material para siembra que además debe someterse a períodos cuarentenarios (Stover, 1977). Por tanto, se han desarrollado varios sistemas de multiplicación como el de Barker (1959) quien intentó incrementar la formación de brotes laterales removiendo las vainas foliares viejas del seudotallo: así se desarrollaron yemas que en condiciones normales de campo no lo hubieran hecho. Se ha informado sobre otros mecanismos para estimular el desarrollo de las yemas (Krikorian y Cronauer, 1983a); de todos ellos, el método Barker ha tenido mayor éxito (Simmonds, 1973).

Producir clones resistentes o tolerantes a la sigatoka negra (o a otras enfermedades de estos cultivos) mediante la hibridación convencional ha

---

El hongo causante de la sigatoka negra, *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*, presenta conidióforos agrupados en grupos de 4 a 20, abundantes en la cara foliar inferior. Las conidias tienen formas ovaladas, rectas o curvas; el desprendimiento de una conidia deja una cicatriz. El viento causa la dispersión de las ascosporas; la espora penetra por los estomas y germina en dos días.

En las plantaciones, la enfermedad se ha controlado aplicando fungicidas protectores (orgánicos e inorgánicos, como los compuestos cúpricos), sistémicos y fungistáticos. Aplicaciones altas de compuestos cúpricos han llegado a intoxicar los suelos en algunas regiones de América Central que han acumulado hasta 1000 ppm de cobre (Jaramillo, 1982).

sido una investigación de muchos años, ya que la resistencia debe buscarse en las fuentes diploides silvestres con el fin de producir, partiendo de éstas, un triploide comercial (Krikorian y Cronauer, 1984). En los cruzamientos se utiliza polen de clones masculinos fértiles y flores de clones masculinos estériles y fértiles, procurando obtener clones triploides. La progenie tetraploide, resultado de la fusión de una célula embrionaria triploide femenina y del gameto masculino triploide, es poco numerosa porque las semillas producidas son escasas (Rowe, 1981). No son éstas, sin embargo, las únicas estrategias de los fitomejoradores de banano.

Cultivo de tejidos

Es necesario implementar otras técnicas dirigidas al mejoramiento genético y sanitario y a la multiplicación masiva de clones con características deseables. Con la técnica de la micropropagación partiendo de meristemas se prevé actualmente la obtención potencial hasta de 15,000,000 de plántulas por meristema al año (Angarita y Perea, 1984). La técnica del cultivo aséptico *in vitro*, aunque presenta algún peligro de reinfección en el campo, permite producir material libre de patógenos, establecer cultivos con plantas sanas, y evitar así la diseminación de enfermedades.

Se ha observado que las tasas de proliferación de estos tejidos cultivados no son uniformes y dependen de factores como el tamaño del brote empleado como explante, el número de brotes subcultivados, el tipo de corte que se emplee (trasversal o longitudinal, es decir, de arriba a abajo del ápice), la consistencia del medio de cultivo (líquido o sólido), y el estado fisiológico del tejido. Según Krikorian y Cronauer (1983a) y Hwang et al. (1984), la inducción, el control del crecimiento, y la morfogénesis están determinados por las relaciones hormonales suministradas en el medio de cultivo.

Existe el riesgo de que se introduzcan nuevos patógenos no detectados en América tropical como el virus del mosaico del abacá (AMV) y el 'Bunchy Top', ambos provenientes del sureste asiático donde existe la mayor variabilidad en el germoplasma del género *Musa* (Stover, 1972).

Técnicas

Los principios de la proliferación de brotes múltiples de Musáceas se basan en el desarrollo de las yemas axilares localizadas en la base del rizoma, en la inserción de las hojas del seudotallo.

Uno de los mayores riesgos de la micropropagación in vitro es la posibilidad de propagar enfermedades de tipo vascular o sistémico (mal de Panamá, moko y virus) si el propágulo inicial está contaminado. Para evitarlo, es necesaria una termoterapia previa al aislamiento del meristema, según los resultados de los trabajos de Berg y Bustamante (1974). El éxito de los cultivos iniciales reside pues en el rigor aséptico del aislamiento del meristema inicial y en la selección sanitaria de los brotes que de éste se derivan.

Otra dificultad práctica de la propagación in vitro de las Musáceas es la oxidación de polifenoles, especialmente en algunos cultivares; se ha observado que cultivares como Gran Enano (AAA) y Saba (ABB) no ofrecen grandes dificultades; sin embargo, otras especies como *Musa textilis* y cultivares como Maqueño (AAB) y Resplandor (AAB) presentan elevadas tasas de oxidación de polifenoles. El control más efectivo de esta oxidación son los subcultivos frecuentes y la eliminación de tejidos senescentes de la base de los brotes.

Por último, hay una respuesta diferencial de los cultivares respecto a la capacidad de producción de brotes, y se considera que en esta área debe continuar la investigación para mejorar las técnicas de micropropagación. En la Figura 22.1 se ilustra la respuesta diferencial de los clones Saba y Pelipita respecto al potencial de regeneración de los brotes cultivados bajo condiciones idénticas.

En la Figura 22.2 se describe el protocolo empleado para la multiplicación, selección sanitaria, y evaluación agronómica de los clones de la colección de germoplasma del género *Musa* recolectada en Colombia.

Métodos de Evaluación Sanitaria

Muchos patógenos sistémicos atacan el género *Musa* y por ello es alto el riesgo de distribuir material contaminado a regiones sanas; sólo una estricta selección sanitaria respecto a virus y otros patógenos de difícil detección podrá evitarlo.

El Virus del Mosaico del Cocombro (CMV) es el único que ha sido detectado en las musáceas de América; ha sido también el más estudiado especialmente en lo relacionado con los métodos de detección. Los virus 'Bunchy Top' y el mosaico del abacá (AMV) están restringidos únicamente a los continentes asiático y africano; además, los trabajos sobre su caracterización son escasos. Las técnicas de detección del CMV deben ser extremadamente sensibles porque, además de la raza común del virus, existen

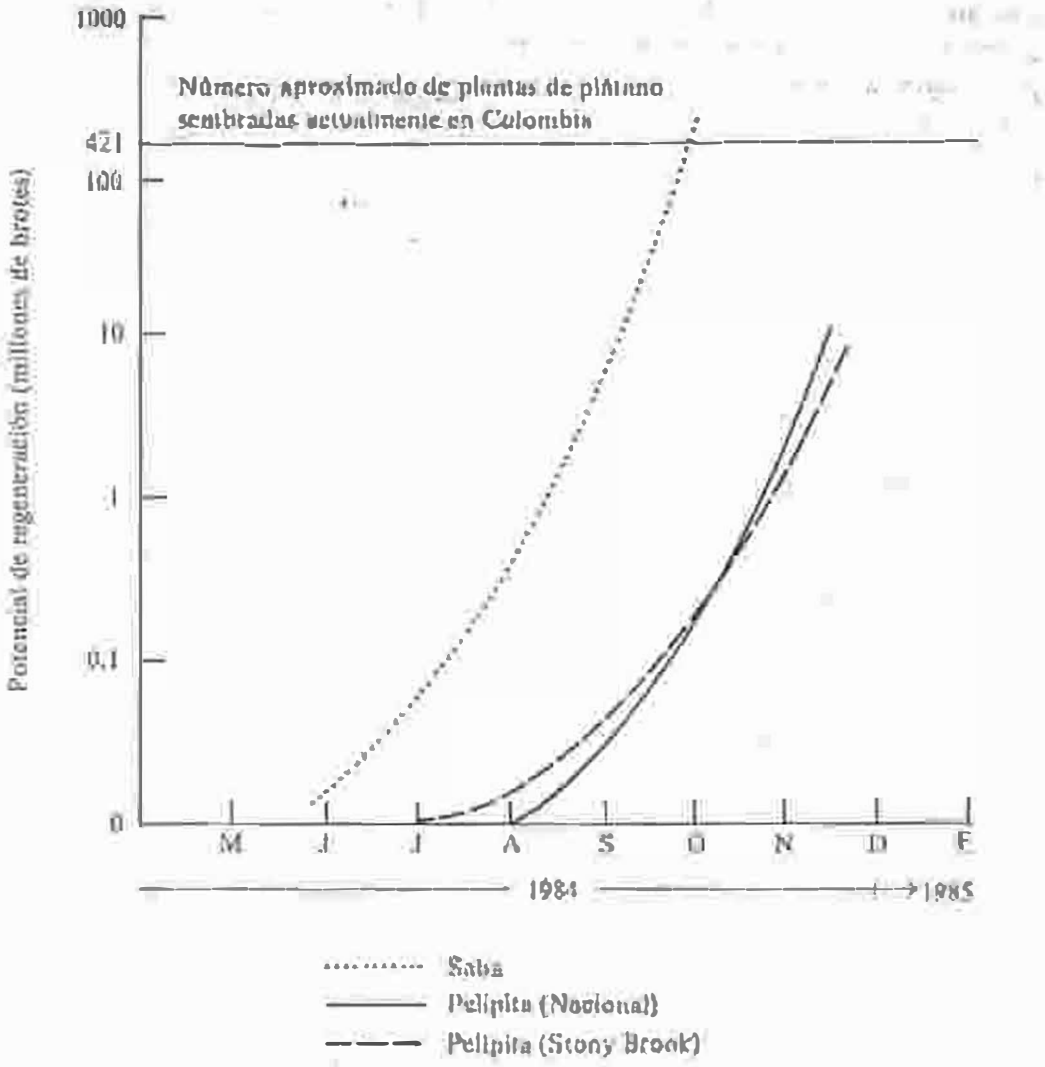

Figura 22.1. Potencial de regeneración de los brotes obtenidos partiendo de un meristemo en las variedades Saba y Pelipita.

aproximadamente tres razas más (Kaper y Waterworth, 1981) que, si se hallaran en Colombia, podrían infectar no sólo al género *Musa* sino a otras plantas cultivadas.

Detección del CMV con plantas indicadoras

Una de las mayores dificultades para detectar el CMV en el tejido foliar del género *Musa* reside en la abundancia de taninos de estas plantas: los taninos tienen la propiedad de precipitar los alcaloides y las proteínas. Es posible entonces que estos compuestos, liberados en el momento de la maceración del tejido, se combinen con las proteínas de la cápside del virus

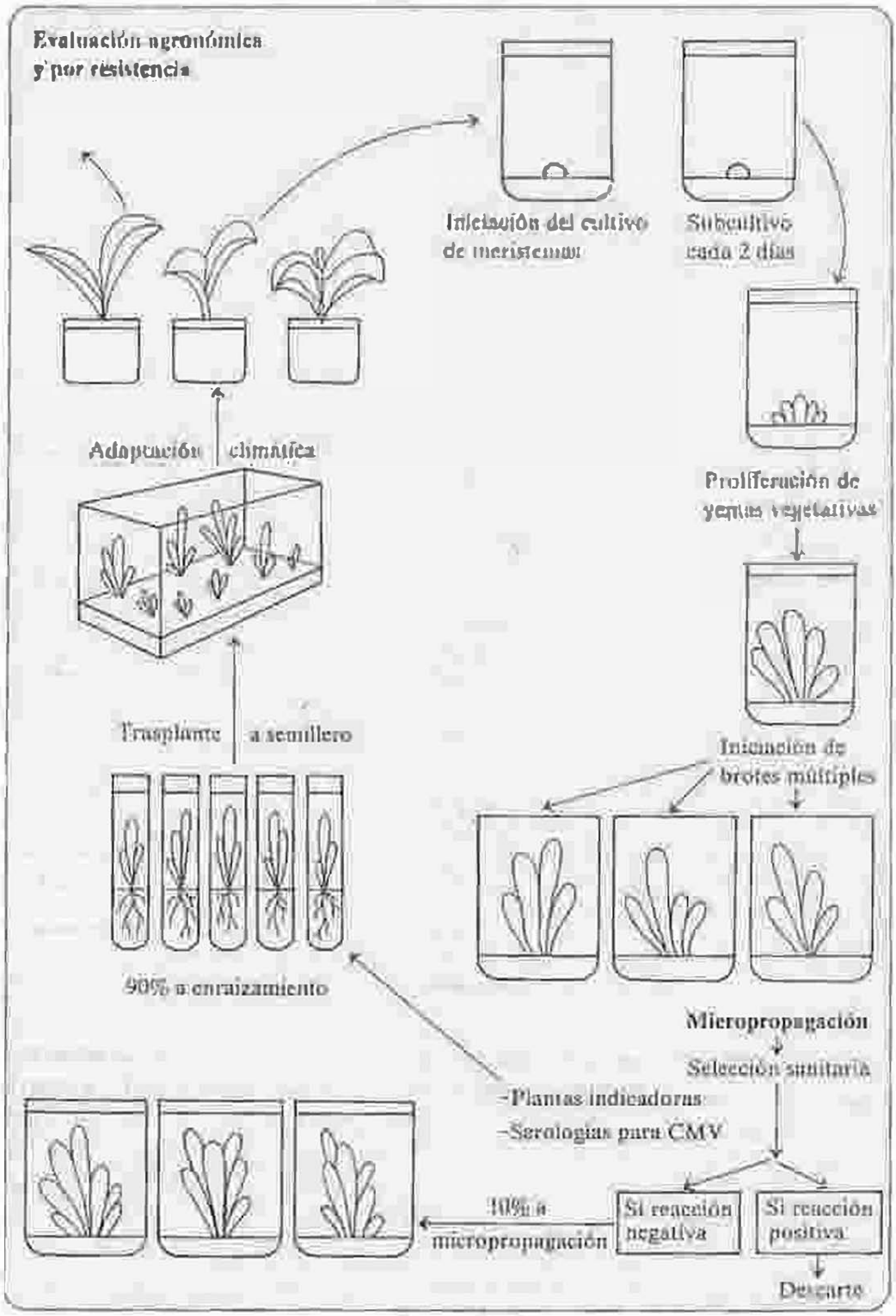

Figura 22.2 Propagación clonal del plátano para su evaluación, tanto agronómica como de resistencia o tolerancia a la sigatoka negra, y para su distribución masiva a los agricultores.

imposibilitando la infección de la planta indicadora. La adición de una proteína externa como la polivinil-pirrolidona, la albúmina de suero bovino o la albúmina de huevo aumentan el poder infeccioso del CMV cuando el inóculo contiene extracto foliar de plantas del género *Musa*. Por consiguiente, en las inoculaciones hechas con extractos de banano o plátano se ha utilizado un bófer de extracción compuesto por ácido cítrico 0.1 M y fosfato disódico 0.2 M (AcPh), de pH 6.4 (Documenta Geigy, 1965), al cual se adicionó albúmina de huevo al 0.5%.

Todo el material utilizado para la extracción se preenfrió a 4 °C durante 1 hora y se maceró con las muestras en morteros mantenidos en un baño de hielo. La relación (tejido fresco):(bófer de extracción) fue de 1:20 (p/v) según la recomendación de Peña-Iglesias et al. (1979). La fuente de inóculo fueron plantas de Saba y Pelipita mantenidas en invernadero y provenientes de cultivos in vitro; se tomó tejido fresco de la parte apical de las hojas en desarrollo.

Para detectar la presencia del CMV en *Musa* se han probado las siguientes plantas indicadoras: *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Nicotiana longiflora*, *N. rustica*, *N. glutinosa* y *N. tabacum*. En las inoculaciones se utilizó carborundum como abrasivo, en condiciones de temperatura moderada y bajo iluminación. Las hojas inoculadas se lavaron con agua destilada tres minutos después de realizada la inoculación. Con inóculo de Saba y Pelipita no se observaron síntomas visibles de la presencia del virus, porque las plantas indicadoras reaccionaron de manera localizada o sistémica al CMV.

Detección del CMV por serología de doble difusión

Una detección más confiable de la infección con el CMV se logra adaptando la técnica de la doble difusión. Se parte del material vegetal conservado por deshidratación en $CaCl_2$ y de un suero anti-CMV. Luego de una serie de ensayos de medios de difusión, se escogió uno compuesto por agarosa en bófer de Veronal 0.075 M + EDTA 0.025 M, pH 8.6.

Para la extracción del virus se siguió la metodología descrita por Devergne et al. (1978): se maceraron 0.2 g de la muestra en la solución de extracción (citrato de sodio 0.5 M + EDTA 0.07 M + 2-mercaptoetanol 0.1%, con albúmina de huevo al 0.5% o sin ella) de concentración 1.0 ó 2.0 M. Cuando el material se conservó deshidratado, se tomaron 0.01 g de tejido por 2.0 ml de la solución de extracción, teniendo como base el 5% de materia seca en hojas frescas (Bos, 1977). Esta operación se realizó en frío, con todo el material preenfriado durante una hora a 4 °C.

El macerado se mezcló con cloroformo frío (v/v) inmediatamente después de la maceración o en el momento previo a la centrifugación. Esta mezcla se agitó vigorosamente y se sometió a centrifugación a 4 °C a aproximadamente 2800g durante 10 minutos. La fase acuosa se recuperó y se utilizó para la reacción serológica. La dilución más conveniente del antisuero fué la de 1:4 porque permitía observar las reacciones más claramente.

La detección directa del CMV no se ha logrado empleando tejidos de plantas del género *Musa*; tampoco han sido detectadas las razas CMV-6 y CMV-CFS aun cuando se inocularon con ellas plantas indicadoras.

Evaluación Agronómica

Una de las mayores fuentes de dispersión de plagas y enfermedades en los cultivos es justamente la distribución de colinos o rizomas; por ello, la micropropagación de material sano es una valiosa herramienta de control preventivo, que permite además el intercambio de germoplasma dentro de un mismo país y entre diferentes países, así como su evaluación agronómica.

En Colombia se han tomado como caracteres principales de evaluación agronómica en cultivares de *Musa* sp. los siguientes: el número de manos; el número de dedos por mano; el diámetro y la altura del seudotallo (que son un factor de resistencia al volcamiento); la resistencia, tolerancia o susceptibilidad a patógenos como sigatoka común, sigatoka negra, y moko; y algunas características organolépticas. Dos de los clones más promisorios de plátano, Saba y Pelipita, fueron suministrados por A. D. Krikorian de la Universidad del Estado de Nueva York en Stony Brook. Saba presenta alta tolerancia a la sigatoka negra en condiciones de fuerte presión del patógeno en la zona de Urabá, al noroeste colombiano, y es también tolerante al moko en aquellas regiones del Tolima de donde desapareció el cultivar Cachaco (ABB) por su extrema susceptibilidad a esta enfermedad. Pelipita ofrece también una alternativa promisoria para remplazar al Cachaco porque es tolerante al moko y posee cualidades organolépticas muy similares.

Descripción de Técnicas

A. Colección de material inicial

1) Obtenga rizomas de colinos jóvenes preferiblemente en pleno estado de desarrollo.

2) Elimine el seudotallo a una altura aproximada de 10 cm por encima de la inserción de las hojas en el cormo basal.

3) Elimine las raíces del rizoma hasta que se observen los tejidos blancos internos.

4) Si el material proviene de zonas con problemas sanitarios como sigatoka amarilla, sigatoka negra o nematodos, es necesario aplicarle tratamientos de control superficial.

5) Trasporte el material hasta el laboratorio en condiciones de buena ventilación.

B. Aislamiento y cultivo de meristemas

1) Remueva la base externa de las hojas del seudotallo y los tejidos blancos de la base del cormo, hasta obtener aproximadamente un cono de 1 cm de longitud que preserve el meristema central. Conserve cerca de 1 cm^3 del tejido del rizoma.

2) Lave el cono superficialmente con agua destilada estéril que contenga 1/1000 de Teepol o Tween-20.

3) Enjuáguelo tres veces, como mínimo, con agua destilada estéril.

4) Con la ayuda de un estereoscopio y en condiciones de absoluta asepsia (cámara de flujo laminar) elimine los primordios foliares hasta obtener un cono de 1-2 mm de longitud. Conserve siempre un mínimo del tejido del rizoma para poder manipular fácilmente el meristema.

5) Desinfecte el cono superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.5% adicionado de Tween-20 al 1/1000, durante 10 minutos.

6) Enjuáguelo cuatro veces con agua destilada estéril.

7) Proceda a eliminar los primordios adyacentes hasta que aparezca el meristema central.

8) Disecte el meristema junto con uno o dos primordios iniciales.

9) Trasfiéralo a un medio líquido (10 ml de medio de cultivo por frasco) en frascos de aproximadamente 50 ml.

Medio de cultivo (Krikorian y Cronauer, 1984b):
Sales de Murashige y Skoog (1962)
Sacarosa, 40 g/litro
BAP, 5 mg/litro
Inositol, 100 mg/litro
Tiamina-HCl, 1 mg/litro
pH 5.8
Esterilización: 121 °C durante 20 minutos.

10) Cultívelo en las siguientes condiciones: 16 horas de fotoperíodo, agitación a 100 rpm, y 30 °C de temperatura.

11) Haga subcultivos en las mismas condiciones cada dos días durante tres semanas.

12) Si la yema se conserva blanca, trasfiera el cultivo al mismo medio inicial suplementado con 0.7% de agar.

C. Propagación masiva de brotes

1) Cuando aparezcan brotes múltiples en el cultivo, separe asépticamente los brotes y subcultívelos individualmente en el mismo medio (Figura 22.3, A,B).

2) Elimine los tejidos necróticos externos y las hojas desarrolladas; conserve el brote de aproximadamente 1 cm de longitud.

3) Haga un corte longitudinal en el brote a través del ápice y subcultive separadamente.

4) Los subcultivos pueden mantenerse indefinidamente si se trasfieren a un medio fresco cada semana.

5) Los brotes externos más desarrollados pueden utilizarse para enraizamiento y los internos más pequeños para continuar la multiplicación (Figura 22.3, C).

D. Desarrollo de brotes y enraizamiento

1) Aísle brotes individuales bien desarrollados de 1-2 cm de longitud.

2) Trasfiéralos a un medio de cultivo MS suplementado con 1 mg/litro de AIA, en tubo de ensayo (Figura 22.3, D).

3) Incube durante dos semanas a 30 °C y con 16 horas de luz por día.

4) Cuando la plántula haya alcanzado 6-7 cm de longitud y las raíces parezcan bien desarrolladas, trasfiéralos a las condiciones del exterior (Figura 22.3, E).

E. Adaptación a condiciones del exterior

1) Retire cuidadosamente la plántula del tubo de ensayo.

2) Lave las raíces con agua tibia (35 °C) hasta eliminar completamente los residuos de agar.

3) Siembre en semilleros que contengan vermiculita, escoria de coke o suelo orgánico.

4) Empape el cultivo con una solución de Benlate (400 ppm)

5) Conserve en condiciones de alta humedad relativa (mínimo 90%) durante una semana (Figura 22.3, F).

6) Fertilice haciendo aplicaciones foliares con una solución completa de Hoagland o con cualquier fertilizante foliar completo.

7) Las plántulas son susceptibles al ataque de ácaros; observelas periódicamente y si es necesario haga una aplicación de Plictran (cihexatin).

8) Después del sexto día disminuya la humedad relativa progresivamente; trasfiera las plántulas a bolsas individuales en condiciones de invernadero.

9) Mantenga las plantas a la sombra.

10) Haga riegos abundantes o frecuentes durante los dos primeros meses y practique un óptimo control de malezas.

La Figura 22.3 resume los pasos principales que siguen la micropropagación, el enraizamiento, y la adaptación de plántulas de banano y plátano.

Aplicaciones de la Micropropagación

El cultivo de tejidos es una herramienta invaluable para resolver los problemas sanitarios que trae consigo la propagación y el mejoramiento genético de bananos y plátanos en el mundo.

Por fortuna, el género *Musa* puede multiplicarse rápidamente mediante las técnicas de micropropagación. El cultivo de meristemas hace posible la erradicación de agentes patógenos y permite no sólo los intercambios de germoplasma sano sino la multiplicación comercial de bananos. En Taiwan, por ejemplo, ha facilitado el control de la raza 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* que ataca a los bananos del grupo Cavendish. El cultivo de embriones sexuales, adaptado por Cox et al. (1960) para propagación sexual de diploides de *Musa balbisiana*, ha sido una contribución muy útil para la germinación in vitro de semillas de los híbridos obtenidos en los programas de mejoramiento.

La micropropagación in vitro ha permitido también propagar rápidamente y evaluar mutantes espontáneos con características agronómicas interesantes, como los mutantes enanos de la variedad Hartón (AAB).

Los trabajos de Guzmán (1975; 1976), De Langhe (1969), Menéndez (1973), Broertjes y van Harten (1978) han demostrado los beneficios de las técnicas de mutagénesis inducida —mediante radiaciones y compuestos químicos que producen variaciones genómicas— en el mejoramiento genético del género *Musa*.

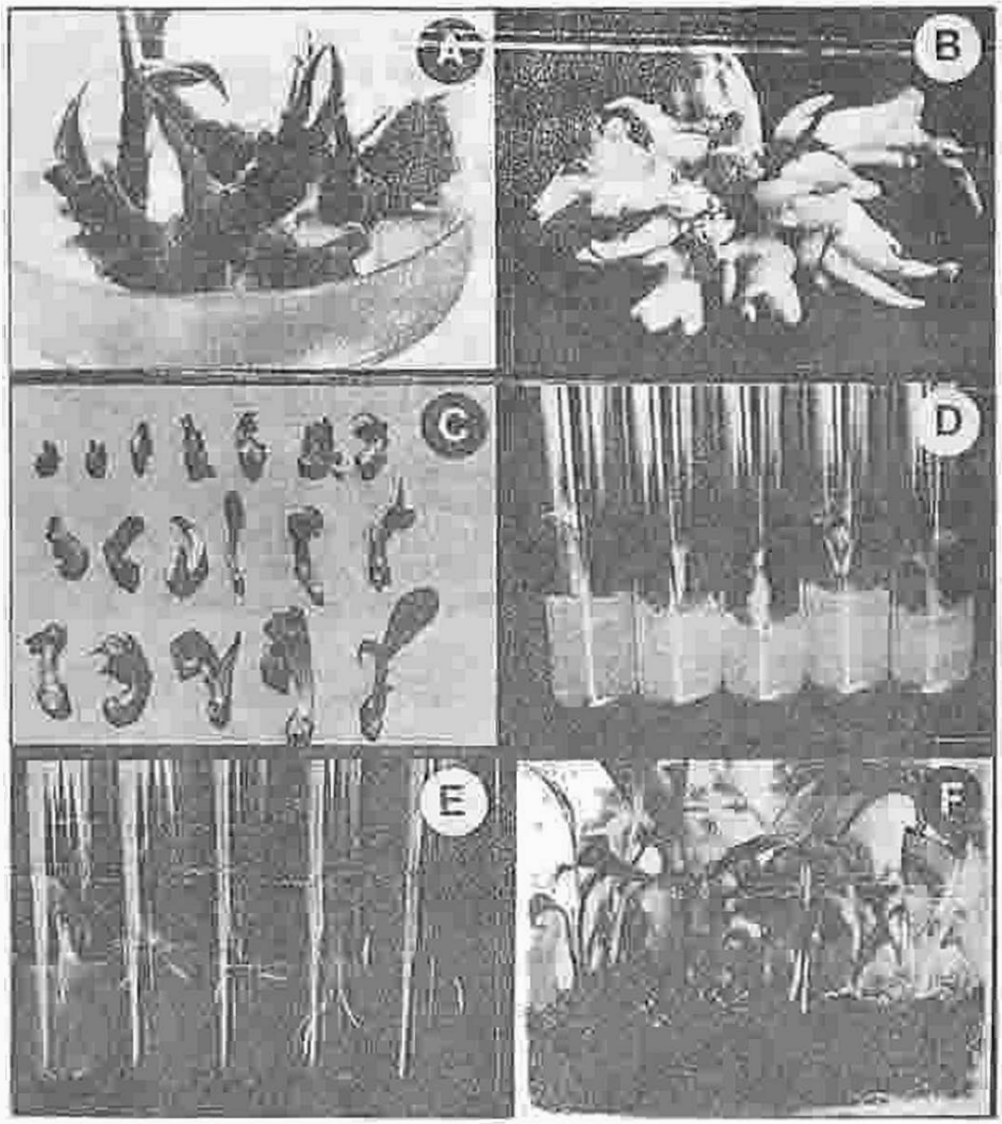

Figura 22.1 Fases de la micropropagación en *Musa* sp. A) Proliferación de brotes in vitro. B) Tipos de brotes obtenidos. C) Separación de los brotes: los más desarrollados se utilizan para enraizamiento; los más pequeños deben micropropagarse nuevamente. D) Enraizamiento en tubo de ensayo. E) Plántulas enraizadas listas para ser trasladadas a semilleros. F) Plántulas en el semillero en condiciones de alta humedad relativa.

Otra aplicación reciente, documentada en los trabajos pioneros de Krikorian y Cronauer (1983b), son las técnicas de cultivo de células y de selección de líneas celulares resistentes a los patógenos. La embriogénesis somática y el aislamiento, cultivo y regeneración de plántulas a partir de

protoplastos abren una perspectiva revolucionaria en el mejoramiento genético. Es posible finalmente aplicar la ingeniería genética a la introducción de genes de resistencia a enfermedades que afectan los cultivos de Musáceas a nivel mundial.[2]

Referencias

Angurita, A. y Perea M. 1984. Avances del proyecto 'Estudios orientados al control de la Sigatoka Negra en plátano y banano'. Segundo Informe Colaboración [Ref. 10080-4-36-83]. 60 p.

Barker, W. G. 1959. A system of maximum multiplication of the banana plant. Trop. Agric. (Trinidad) 36:275-284.

Berg, L. N. y Bustamante, M. 1974. Heat treatment and meristem culture for the production of virus free bananas. Phytopathology 64:320-322.

Bos, L. 1977. Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over $CaCl_2$ and stored under different conditions. Neth. J. Plant Pathol. 83:217-220.

Broertjes, C. y van Harten, A. M. 1978. Application of mutation breeding in the improvement of vegetatively propagated crops. Elsevier Sci. Pub., Amsterdam, Holanda.

Cox, E. A.; Stotzky, G. y Goos, R. D. 1960. In vitro culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. Nature 185:403-404.

De Langhe, E. 1969. Bananas, *Musa* spp. En: Ferwerda, F. P. y Wit, F. (eds.). Outlines of perennial crop breeding in the tropics. Miscellaneous papers no. 4. Landbouwhogeschool, Wageningen, Holanda. p. 53-78.

Devergne, J. C.; Cardin, L. y Quiot, J. B. 1978. Detection et identification sérologiques des infections naturelles par le virus de la mosaïque du concombre. Ann. Phytopathol. 10(2):233-246.

2. N. del E: Como se vigente en este capítulo, los cultivos de ápices y son de meristemas son adecuados para la multiplicación rápida de germoplasma seleccionado del género *Musa*. Recientemente se ha demostrado que hasta las yemas axilares de las inflorescencias (porción masculina) pueden cultivarse y presentan desarrollo vegetativo (ver Teondade, S. y Krikorian, A. D., 1986, en: Vasil, I. K., Cell culture and somatic cell genetics, v. 3, Academic Press, p. 139-150). Sin embargo, falta demostrar fehacientemente que las plantas propagadas por cualquiera de estas técnicas son clonalmente estables o, por el contrario, presentan diferentes grados de variabilidad. En cualquier caso, es importante asegurarse de que el material multiplicado está libre de patógenos antes de su distribución para la evaluación de campo. Por otra parte, no se debe asumir la estabilidad de ningún clon a menos que esta premisa apoyarse en documentos respaldados por pruebas específicas.

Documenta Geigy. 1965. Tablas científicas. 6a. ed. J. R. Geigy S. A., Basilea, Suiza. p. 320-321.

Guzmán, E. V. de. 1975. Project of production of mutants by irradiation of *in vitro* cultured tissues of coconut and bananas and their mass propagation by the tissue culture technique. En: Improvement of vegetatively propagated plants and tree crops through induced mutations. Technical document 173. International Atomic Energy Agency (IAEA). Viena.

———; Ubalde, E. M. y del Rosario, A. G. 1976. Banana and coconut *in vitro* cultures for induced mutation studies. En: Improvement of vegetatively propagated plants and tree crops through induced mutations. Technical document 194. International Atomic Energy Agency (IAEA). Viena. p. 33-54.

Hwang, S. C. et al. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture at the TBRI. HortScience 19(2):231-233.

Jaramillo, R. 1982. Generalidades sobre el patógeno y control de la enfermedad Sigatoka Negra. En: Memorias del primer foro sobre sigatoka negra en plátano y banano. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Kaper, J. M. y Waterworth, H. E. 1981. Cucumoviruses. En: Kurstaute, E. (ed.) Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis. Elsevier, North-Holland Biochemical Press, Amsterdam, Holanda. p. 257-332.

Krikorian, A. D. y Cronauer, S. 1983a. Técnicas de cultivo aséptico para el mejoramiento del banano y del plátano. Informe mensual no. 55. Unión de Países Exportadores de Banano, Panamá. p. 42-47.

——— y ——— 1983b. Somatic embryos from cultured tissues of triploid plantains (*Musa* ABB). Plant Cell Rep. 2:289-291.

——— y ——— 1984a. Bananas. En: Evans, D. A. et al. (eds.). Handbook of plant cell culture. McMillan Publishing, Nueva York. v. 2. p. 327-348.

——— y ——— 1984b. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience 19(2):234-235.

——— y ——— 1984c. Multiplication of *Musa* sp. from excised stem tips. Ann. Bot. 53:321-328.

Mendoza, T. 1973. Application of mutation methods to banana breeding. En: Induced mutations in vegetatively propagated plants. Panel on mutation breeding. Memorias. International Atomic Energy Agency (IAEA). Viena. p. 75-83.

Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

Peña-Iglesias, A.; Fiste, R.; Romero, J.; Fresno, J. y Cienfuegos, G. 1979. El mosaico de la platanera canaria. I. Caracterización biológica, serológica, molecular, y ultraestructural de una estirpe (serotipo Tw) del virus del mosaico del pepino. Serie protección vegetal. An. INIA (México) 12:155-170.

Perea, M. y Angulo, A. 1984. Proyecto para la creación del Centro Internacional de Cultivo de Tejidos Vegetales (CICT). Segunda Expedición Botánica, Bogotá, Colombia. 169 p.

Rowe, P. 1981. Breeding an 'unpeelable' crop banana. En: Rachie, K. y Lyman, J. (eds.). Genetic engineering for crop improvement. Rockefeller Foundation, Nueva York. p. 66-83.

Simmonds, N. W. 1973. Los plátanos. Blume, Barcelona, España. 530 p.

——— y Shepherd, K. 1956. The taxonomy and origin of cultivated bananas. J. Linn. Soc. Lond. Bot. 55:302-312.

Stover, R. H. 1972. Banana, plantain and abaca diseases. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, Inglaterra.

——— 1977. Banana (*Musa* spp.) En: Wewlli, W. R. y Chiarappa, L. (eds.). Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources. CRC Press, Cleveland, Ohio. E.U. p. 71-79.