



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
DIRECCIÓN GENERAL DE INSTITUTOS TECNOLÓGICOS
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

ITM

**“REGENERACIÓN DE BROTES A PARTIR DEL CULTIVO
IN VITRO DE MICROCORTESES EN CULTIVARES DE MUSA
ACUMINATA: CV. ENANO GIGANTE (AAA) Y DATIL (AA)”**

OPCIÓN I
(TESIS)



QUE PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO BIOQUIMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:
LIZBETH MARÍA MAY SÁNCHEZ

BIBLIOTECA **CICY**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO,
1 9 9 9

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	i
LISTA DE CUADROS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCION	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Justificación	3
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Importancia del banano y el plátano	4
2.2 El género <i>Musa</i>	5
2.2.1 Taxonomía	5
2.2.2 Descripción botánica	8
2.3 Características de los cultivares Enano gigante y Dátil	9
2.3.1 Cv. Enano gigante (AAA)	9
2.3.2 Cv. Dátil (AA)	11
2.4 Biotecnología vegetal	12
2.5 Cultivo de meristemos en el género <i>Musa sp</i>	20
2.6 Variación somaclonal	26
3. OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo general	29
3.2 Objetivos particulares	29
4. MATERIALES Y METODOS	30
4.1 Material vegetal	30
4.1.1 Selección del material y establecimiento de los cultivos asépticos	30
4.1.2 Proliferación de brotes	32
4.2 Microcortes	32

4.2.1 Experimento 1: Efecto del BAP sobre el desarrollo de brotes en los cultivares Enano Gigante y Dátil	33
4.2.2 Experimento 2: Efecto del ácido ascórbico sobre la fenolización de microcortes en el cv. Enano gigante	34
4.2.3 Experimento 3: Efecto del medio líquido y de las condiciones de cultivo sobre el desarrollo de brotes a partir de microcortes de Enano gigante y Dátil	34
4.3 Análisis estadístico	35
4.3 Análisis histológico	35
5. RESULTADOS Y DISCUSION	38
5.1 Microcortes	38
5.2 Inducción de brotes en el cultivar Enano Gigante	38
5.2.1 Efecto del BAP y de la posición del corte	38
5.2.2 Efecto del ácido ascórbico	43
5.2.3 Efecto del medio líquido e iluminación	47
5.3 Inducción de brotes en el cultivar Dátil	50
5.3.1 Efecto del BAP y la posición del corte	50
5.3.3 Efecto del medio líquido e iluminación	52
5.4 Análisis histológico del cultivar Enano Gigante	54
6. CONCLUSIONES	57
7. BIBLIOGRAFIA	59
8. ANEXOS	65
Anexo 1. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS, 1962)	65
Anexo 2. Preparación de los reguladores de crecimiento	65
Anexo 3. Modificación de la mezcla de vitaminas de acuerdo a Okole y Schulz (1996)	66
Anexo 4. Preparación de reactivos y colorantes para las tinciones histológicas	66
Anexo 5. Posiciones de corte en el explante	68
Anexo 6. Esquema para la obtención de microcortes a partir de plántulas de <i>Musa acuminata</i> cultivares Enano Gigante y Dátil	69
Anexo 5. Lista de abreviaturas	70

RESUMEN

La producción de bananos y plátanos presenta serios problemas debido a las enfermedades principalmente de tipo fúngico, en particular la sigatoka negra, la cual es producida por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*.; causa serios daños al follaje de los vegetales evitando que se lleve acabo el proceso fotosintético y la respiración, como consecuencia de este daño el vegetal muere irremediablemente. Los programas de fitomejoramiento demandan plantas sanas y/o tolerantes a esta enfermedad, para el éxito de dichos proyectos es requisito indispensable contar con sistemas de regeneración que nos permitan multiplicar masivamente y obtener líneas clonales genéticamente idénticas. A manera de justificación de este trabajo, en este estudio se estableció un protocolo de regeneración vía organogénesis, mediante el uso de microsecciones obtenidas a partir de plántulas micropropagadas de los cultivares Enano Gigante y Dátil. Dicho estudio contribuirá al conocimiento sobre los aspectos de micropropagación que son necesarios para el mejoramiento genético de esta especie. Para el logro de este objetivo se evaluó los factores (reguladores de crecimiento, físicos y ambientales) que intervienen durante la formación de brotes adventicios. El proceso de diferenciación y formación de brotes se evaluó mediante la aplicación de técnicas histológicas. La selección del material vegetal consistió de hijuelos espada de banano y plátano (*Musa acuminata*) cv. Enano Gigante y Dátil (con altura de aproximadamente 50 cm), colectados en una plantación comercial ubicada en el kilómetro 43.5 de la carretera Villahermosa-Teapa en el Estado de Tabasco, México. A partir de este material vegetal se establecieron cultivos asépticos

los cuales fueron multiplicados durante cinco ciclos continuos cada uno con intervalos de resiembra de 15 días. La regeneración de brotes adventicios en ambos cultivares se logró mediante el cultivo de microcortes, para ello se empleó como regulador de crecimiento BAP (bencilaminopurina) debido a que es la citocinina que promueve mayor respuesta morfogénica en *Musa sp.*, se evaluaron 5 diferentes concentraciones (5, 10, 15, 20 y 25 μM) y diez posiciones de corte realizadas a las plántulas micropropagadas (anexo 5) .

A los 30 días de cultivo se observó en el cultivar Enano Gigante diferencias altamente significativas ($P > 0.01$) tanto en las concentraciones del BAP como en la posición del corte, pero no se encontró interacción entre ambas variables, la concentración de 15 μM de BAP ofreció mejor respuesta en el microcorte obteniéndose un promedio de un brote por microsección. Todos los cultivos presentaron alto grado de fenolización u oxidación, acelerando de esta manera la muerte tisular de las microsecciones, con el fin de evitarlo se adicionó al medio de cultivo una concentración de 25 mg/l de ácido ascórbico, pero la presencia de este compuesto incrementó los requerimientos de BAP (20 y 25 μM). El empleo de medio líquido combinado con fotoperíodo (16/8, luz/obscuridad.), no mejoró la inducción de brotes por microsección, dado que fue mayor el promedio de brotes formados bajo condiciones de obscuridad en medio de cultivo sólido. Las posiciones de corte que regeneraron mayor número de brotes en los dos primeros experimentos fueron la 6 y la 7, y para el tercer experimento la 5, 6 y 7.

Respecto al cultivar Dátil, se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las diferentes posiciones de corte, pero no se encontró diferencia significativa entre las

diferentes concentraciones de BAP, al comparar ambas variables, no hubo interacción entre sí. La posición de corte número 6 incrementó el número en la formación de nuevos brotes, con el fin de incrementar la tasa de proliferación de brotes adventicios en el cultivar Dátil, se evaluó el efecto del medio líquido e iluminación, para ello se mantuvo la misma concentración de BAP ($15\mu\text{M}$), y no se encontró diferencia significativa. La posición de corte número 8 fue la que presentó mayor repuesta morfogénica.

El análisis histológico realizado en los microcortes del cultivar Enano Gigante reveló la formación de callo, presencia de islotes conteniendo células meristemáticas y brotes adventicios en diferentes etapas de desarrollo.