

OPTIMIZACIÓN DE LA FASE DE DESARROLLO DE GUINEO DÁTIL (AA), UTILIZANDO FERTILIZANTES COMERCIALES Y MEDIOS DE CULTIVO CONVENCIONALES

Juan Francisco Cuéllar

Ingeniero agrónomo
jfcuellar@catolica.edu.sv
Docente Tiempo Completo
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Universidad Católica de El Salvador

María Elena Montes de Godoy

Máster en Horticultura
maria.montes@catolica.edu.sv
Docente Tiempo Completo
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Universidad Católica de El Salvador

Resumen

En El Salvador el cultivo de musáceas tiene relevancia nutricional, ya que forma parte de la dieta alimenticia de la mayoría de la población, por su alto contenido nutritivo (carbohidratos y minerales como el potasio). El propósito de la investigación fue optimizar la fase de desarrollo de guineo dátil (AA), utilizando medios de cultivo nutritivos de formulación a base de productos comerciales de uso agrícola y convencional (Murashige & Skoog, 1962); así como la determinación de la efectividad de control de la oxidación de polifenoles con ácido cítrico. El material vegetal utilizado consistió en cormos de hijos de espada de guineo dátil, los cuales se redujeron en campo y se lavaron con Tween 80. Los explantes extraídos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 5.25% y posteriormente, inoculados en medio de cultivo nutritivo MS, con 5.0 mg/l de la citoquinina BAP (Bencilaminopurina) y un pH de 5.8. Se realizaron seis ciclos de multiplicación, en los cuales los explantes se mantuvieron en medio líquido MS con 5 mg/l de BAP y 300 mg/l de ácido cítrico, y en agitación constante a 125 rpm. Para la última fase se utilizó la misma formulación pero en medio semi-sólido. En la fase de desarrollo se emplearon medios de cultivo líquidos y cuatro tratamientos, de los cuales dos de ellos tenían formulación comercial con o sin ácido cítrico; y el resto formulación UNICAES con o sin ácido cítrico. La formulación UNICAES consistió en un balance químico de nutrientes obtenidos de productos comerciales. Se evaluó como parámetro principal la altura de planta, categorizándose en tres rangos: 3.0-6.0 cm, 6.0-9.0 cm y más de 9.0 cm. El rango de altura de planta conveniente para aclimatación se consideró entre 6.0 y 9.0 cm., debido a que facilita la manipulación de las mismas. Finalmente, el tratamiento de formulación UNICAES con ácido cítrico resultó ser mejor, obteniendo una media de 8.13 plantas.

Palabras claves: guineo dátil (AA), ácido cítrico, fase de desarrollo, medio de cultivo UNICAES, corno.

Abstract

In El Salvador, the (musáceas) crop has nutritional relevance since it is part of the majority of people's diet because of its high nutritional elements (carbohydrates and minerals such as potassium). The purpose of this investigation was to optimize the date banana (AA) growing phase; using nutritional growing methods based on commercial and agricultural ones (Murashige & Skoog, 1962); as well as the determination of effectiveness of polyphenol oxidation control with citric acid. The organic material used in this process was "shrubs of banana date" that were reduced on field and washed with Tween 80. The explants were disinfected with sodium hypochlorite to 5.25% and then inoculated nutritional crop method (MS), with 5.0 mg/l of cytokinins BAP (Benzylaminopurine) and a (ph) of 5.8. There were developed six multiplication cycles, through the ones the explants were kept in liquid MS with 5 mg/l of BAP and 300 mg/l of citric acid and constant movement of 125 rpm. For the last phase, it was used the same formula but in a semisolid. In the development phase, there were used liquid crop medium and four treatments, two of them had commercial formula with or without citric acid; and the rest, UNICAES formula with or without citric acid. UNICAES formula consisted on a nutrient chemical balance obtained from commercial products. It was evaluated the size of the plant as the main parameter; it was divided into three ranks: 3.0-6.0 cm, 6.0-9.0 cm and over 9.0 cm. The appropriate acclimatization growing rank was considered between 6.0 cm and 9.0 cm., since it makes it easier to handle. Finally, the treatment with UNICAES formula and citric acid resulted to be better with a media of 8.13 plants.

Key words: date banana (AA), citric acid, development phase, crops medium, shrub.

1. Introducción

La importancia del cultivo de las musáceas en nuestro país, así como en el resto de América tropical, radica en su relevancia económica, cultural y nutricional en la dieta alimenticia (Angarita y Perea, 1991; FEDARES, 2002; INIBAP, 2004). Las variedades de musáceas varían desde los plátanos, a los bananos y majonchos (CENTA, 1994). En general, existe una amplia gama de genomas, entre los que destacan los más apetecidos por los salvadoreños como son los guineos dátiles (AA) y manzanitos (AAB); los cuales ahora son considerados “nostálgicos”, debido a que su cultivo es muy escaso por la dificultad de encontrar material homogéneo para iniciar plantaciones comerciales.

El género *Musa* pertenece a la sección Eumusa (especies comestibles), familia Musaceae, Orden Zingiberales que han alcanzado gran difusión en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, donde forman parte de la dieta básica de las poblaciones (Roca y Mroginski, 1990; Alvarenga, 2007; Florio de Real *et al.*, 2011); teniendo su origen en Asia y el Pacífico tropical. Existen muchas variedades de estas producidas por mutaciones y/o cruces interespecíficos de las especies silvestres con semillas *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana*

(genoma B). Esto da como resultado muchas combinaciones diploides (AA, BB, AB), triploides (AAA, AAB, ABB y BBB) y tetraploides (AAAA, AAB, AABB, ABBB). Por tanto, la gran mayoría de especies comestibles, suelen tener problemas de esterilidad para su propagación, por lo que para su reproducción se opta por la vía asexual, una de las técnicas de cultivo de tejidos más viables para la reproducción.

La técnica de cultivo de tejidos vegetales ofrece un potencial muy satisfactorio para micropropagar estos y otros materiales vegetales de los cuales existen pocos individuos, que homogenicen los cultivos para establecer plantaciones comerciales.

En el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad Católica de El Salvador¹, durante los años 2008 a 2010, se estableció con éxito la micropropagación de guineo dátil y manzano, a través de los fondos de los proyectos MINED-FIES (Ministerio de Educación y el Fondo de Investigación para Educación Superior), cuyas plantas resultantes fueron posteriormente establecidas en las comunidades Las Marías y Chilcuyo, ambas del Municipio de Santa Ana.

¹ De aquí en adelante los autores se referirán a la Universidad Católica de El Salvador por sus siglas UNICAES.

Como continuidad a esa investigación, se evaluaron dos tratamientos para la fase de desarrollo de guineo dátil, los cuales consistieron en el medio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) y una formulación química comercial balanceada; evaluándose los parámetros de número y altura de las plantas.

2. Metodología

Introducción del material

El material inicial fue recolectado del cantón Primavera, caserío Primaverita, Departamento de Santa Ana. Este consistió en siete cormos de guineo dátil, provenientes de “hijos de espada”, a los que se les realizó el procedimiento de introducción que se sigue en el laboratorio de UNICAES para musáceas. La vía de regeneración del material fue organogénesis directa.

El lavado de las yemas se realizó con Tween 80, a razón de 3 gotas/100 ml de agua. Posteriormente se redujeron hasta más o menos 1 cm de diámetro y 4 de altura. Luego se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio al 5.25% (lejía comercial) durante 15 minutos. Durante ese tiempo se llevaron a cámara y después se enjuagaron tres veces con agua desmineralizada estéril. Seguida-

mente se hizo una disección longitudinal y transversal hasta obtener el meristema apical de aproximadamente 3 mm de radio y 5 mm de altura; procediendo a inocular en medio MS (Murashige & Skoog, 1962) con 5 mg/L de la citoquinina BAP (Bencilaminopurina), 250 mg/l de ácido cítrico y pH de 5.8.

El fotoperíodo fue de 16 horas luz y 8 de oscuridad a 1350 Lux de intensidad, con temperatura mínima de 24 °C y máxima de 25 °C.

Multiplicación

Esta fase se desarrolló en seis ciclos para contar con suficiente material para iniciar los ensayos de los tratamientos en la fase de desarrollo de brotes. En estas fases los explantes se colocaron en medios líquidos de formulación MS (Murashige & Skoog, 1962) con 5 mg/l de BAP y 300 mg/l de ácido cítrico y en agitación constante a 125 rpm. La última fase de multiplicación se realizó con idéntica formulación, solamente que en medio semisólido, para que el pseudotallo estuviera elongado y rectilíneo para la fase de desarrollo.

El fotoperíodo también fue de 16 horas luz y 8 de oscuridad a 1350 Lux de intensidad, con temperaturas entre 24- 25°C.

Fase de desarrollo y enraizamiento

En las musáceas, estas etapas se fusionan en una sola, puesto que tienden naturalmente a enraizar al ser suprimidas las citoquininas del medio de cultivo.

Aquí se establecieron los tratamientos a seguir con el material regenerado de guineo dátil, los cuales se resumen en el Cuadro 1, y su detalle de composición en el Cuadro 2. En esta etapa se empleó medio de cultivo líquido, aplicando 10 ml por frasco conteniendo los masivos de guineo dátil. Se realizaron tres aplicaciones de medio cada 15 días.

Tabla 1. Tratamientos utilizados en la fase de desarrollo de guineo dátil (AA)

Tratamiento	Composición
1	MURASHIGE & SKOOG 2X, líquido con 30 g de azúcar comercial
2	MURASHIGE & SKOOG 2X, líquido con 30 g de azúcar comercial y 0.3 g de ácido cítrico
3	MEDIO UNICAES 2X, líquido con 30 g de azúcar comercial
4	MEDIO UNICAES 2X, líquido con 30 g de azúcar comercial y 0.3 g de ácido cítrico

Tabla 2. Composición nutritiva de los medios de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) y formulación UNICAES utilizados en la fase de desarrollo de guineo dátil (AA)

No.	Soluciones	MS (concentración final) g/l	UNICAES* (concentración final) g/l
I	NH ₄ NO ₃	1.65	1.023
II	KNO ₃	1.90	0.9000
III	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.44	0.120621
IV	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.37	0.030621
V	KH ₂ PO ₄	0.17	1.586400
VI	Na ₂ EDTA	0.0373	0.001245
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.0278	
VII	Microelementos		
1	H ₃ BO ₃	0.0062	0.000996
2	MnSO ₄ ·H ₂ O	0.0169	0.000996
3	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.0053	0.145479
4	KI	0.00083	0.001998
5	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.00025	0.000126
6	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.000025	0.000996
7	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.000025	0.000051
VIII	Vitaminas		
1	Glycine	0.002	0.002
2	Nicotinic Acid	0.0005	0.0005
3	Pyridoxine	0.0005	0.0005
4	Thiamine HCl	0.004	0.004
	Myo Inositol	0.0001	0.0001
	Sacarosa	0.03	0.03
	Gelificante		

* Productos comerciales utilizados: 5 g de 15-30-15-0.6 (hidrosoluble), 3 ml de Bayfolan forte, 0.15 ml de BioQ y 2 ml de Metalosate (Ca-6%), los cuales aportan la cantidad de nutrientes comparable a los medios de cultivo convencionales.

3. Resultados

Durante el desarrollo de las fases, el número de explantes se fue incrementando con los subcultivos, llegando a obtener

un número aproximado de 195 explantes. Se obtuvo una tasa de multiplicación promedio de 4 brotes por cada cormo inicial. La oxidación fue disminuyendo y el porcentaje de contaminación por hongos también se redujo considerablemente.

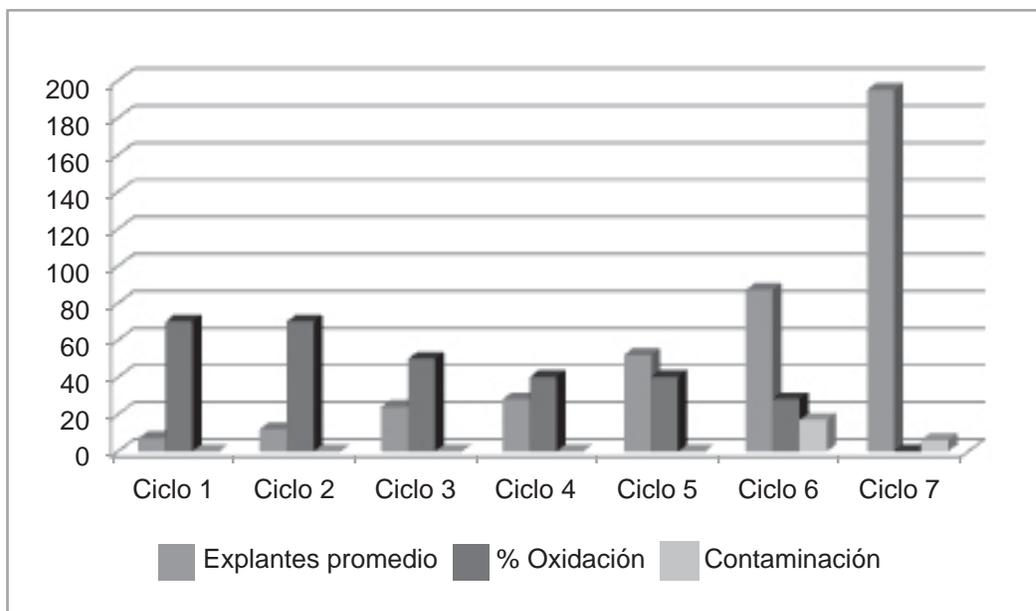


Figura 1. Gráfico del incremento del número de explantes en siete ciclos de multiplicación de guineo dátil (AA), mostrando los porcentajes de oxidación y contaminación.

Luego de la obtención del material para el ensayo, se dio inicio a la etapa de desarrollo, en la que se evaluó como parámetro principal la altura de planta (cm.), las cuales se categorizaron en tres rangos: 3.0-6.0 cm, 6.0-9.0 cm y más de 9.0 cm. Este parámetro se midió con el objetivo de evaluar la efectividad de cada uno de los tratamientos reflejados en el estado de desarrollo de las plantas.

Con el tratamiento uno se obtuvo un promedio total de 19.5 plantas por frasco; con el tratamiento dos, fue de 23 plantas por frasco; el tratamiento tres, con un total de 18 y el tratamiento cuatro, generó 16.5. El número de plantas no aptas para aclimatar fue variable, considerando algunas de menos de 3.0 cm. de altura para este propósito. Por tanto, que para el tratamiento uno hubo 15.5 plan-

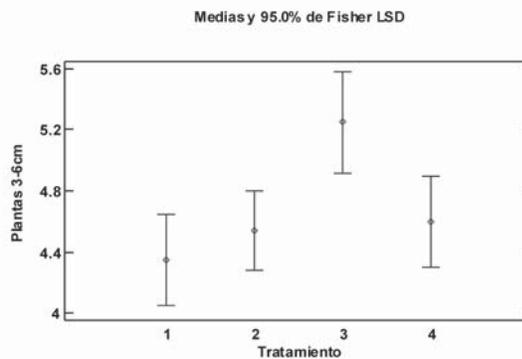
tas útiles; para el tratamiento dos fueron también 15.5; para el tratamiento tres se obtuvo 11 y para el tratamiento cuatro un total de 11.5 (datos no reportados).

En cuanto al número de plantas del rango de 3.0 a 6.0 cm. de altura, el tratamiento 3 de formulación UNICAES obtuvo una mayor cantidad (Figura 2a), con una media de 5.3 plantas por frasco de medio de cultivo con diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$), las cuales tenían una altura de 5.25 cm en promedio; seguida del tratamiento 4, 2 y 1.

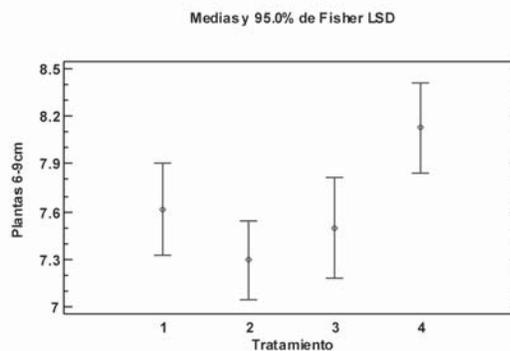
Con respecto a las muestras en rango de 6.0 a 9.0 cm. de altura, resultó ser más efectivo el tratamiento 4 de formulación UNICAES, con una media de 8.123 plantas (Figura 2b); y con una altura promedio de 8.13 cm, con diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$).

El rango de mayor altura de plantas, de más de 9.0 cm, fue con el tratamiento 2 (Figura 3c), con formulación MS (Murashige & Skoog, 1962); pero, sin diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$). Las plantas en promedio presentaron una altura de 10.59 cm.

a)



b)



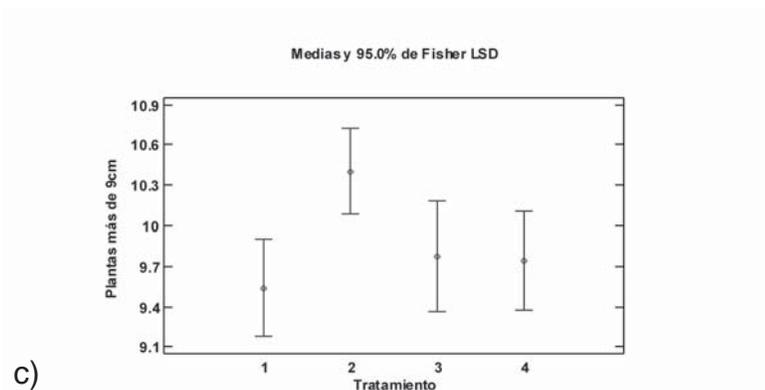


Figura 2. Gráfico de Medias mostrando rangos de altura de plantas medidas en centímetros. Al final de la fase de desarrollo utilizando 4 tratamientos, dos de ellos con formulación MS (Murashige & Skoog, 1962) y dos con formulación comercial realizado en UNICAES.

4. Discusión

Después de seis ciclos de multiplicación, se incrementó considerablemente la cantidad de explantes para obtener suficiente material para iniciar el ensayo en la fase de desarrollo. En esa etapa se realizaron las observaciones sobre las variables de número promedio de explantes y porcentaje de oxidación. Debido al problema observado en la primera investigación de guineo dátil se aplicó al medio de cultivo 250 mg/l de ácido cítrico (Aromateca, 2002), y cuando se observó que la oxidación no cedía en los subsiguientes ciclos de cultivo, se dispuso agregar 300 mg/l del mismo compuesto. El control de la oxidación es muy importante, ya que impide la formación de

yemas nuevas e incluso puede aniquilar el explante original (Angarita y Perea, 1991; Pierik, 1991). Al tratar los explantes de guineo dátil (AA), así como otras especies de musáceas con antioxidantes desde la introducción del material inicial al laboratorio, se garantiza la adecuada micropropagación del cultivo, evitando que la oxidación afecte la propagación de materiales susceptibles.

El rango de altura de planta conveniente para aclimatación se considera sea entre 6.0 y 9.0 cm., debido a que facilita la manipulación de las mismas durante la extracción de los frascos pero para su introducción a las bandejas de crecimiento, así como el posterior traslado para desarrollo en vivero.

Estadísticamente el medio convencional (Murashige & Skoog, 1962) y el medio a base de productos comerciales de uso agrícola (medio UNICAES) presentan diferencias significativas, por lo que se concluye que el medio UNICAES es mejor debido a su bajo costo.

5. Referencias

ALVARENGA, S. (2007). *Establecimiento *in vitro* y micropropagación de banano*. (Manual de Laboratorio Cultivo de Tejidos I). Cartago: Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

ANGARITA, A. y PEREA, M. (1991). Micropropagación de plátanos y bananos. En Roca, W.M. y Mroginski, L.A. *Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones*. pp: 494-512. Cali. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

AROMATECA. (2002). Control de Pardeamiento Enzimático. En *Fresh-cut fruits and vegetables Science Technology and Market*. Recuperado de http://aromateca.com/main/index.php?option=com_content&task=view&id=80&Itemid=5.

CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y FORESTAL. (1994). *Programa de Musáceas*. San Andrés, La Libertad, El Salvador. División de Investigación.

FEDARES. (2002). *Estudio técnico y de mercado del plátano*. Programa de apoyo al proceso productivo en el Departamento de San Vicente. San Vicente, El Salvador.

FLORIO DE REAL, S., REAL, F., FLORIO, G. (2011). *Técnicas de mejoramiento genético aplicadas a las musáceas comestibles*. Recuperado de: <http://vinculando.org/author/sunshineflorio/>.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. (1962). *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

PIERIK, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. pp 326.

RED INTERNACIONAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL BANANO Y EL PLÁTANO. (2004). *Usos y valor nutritivo del banano y plátano*. Recuperado de www.inibap.org

RODRÍGUEZ C., M. y GUERRERO BERRÍOS, M. (2002). *Cultivo de plátano*. San Salvador: CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal).