

Evaluación en campo de la estabilidad genética en plantas obtenidas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA 21' (*Musa AAAB*)

Leyanis García-Águila^{1*}, Miladys León¹, Rafael G. Kosky¹, Pedro Orellana¹, Ricardo González². *Autor para correspondencia.

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5 Santa Clara, Villa Clara. Cuba, CP 54 830. e-mail: leyanis@ibp.co.cu

²Finca de Referencia Nacional 'La Victoria'. Bayamo. Granma.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar en campo la estabilidad genética de plantas regeneradas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA-21' (*Musa AAAB*). Para este estudio se plantaron 6 252 plantas y se utilizaron como control 2 000 plantas obtenidas por organogénesis e igual cantidad procedente de semilla asexual (cormo). La densidad de plantación fue de 3 333 plantas por hectárea, a una distancia de 3x2x1.20m. Se realizaron cuatro repeticiones en un diseño experimental de Cuadrado Latino. Las evaluaciones se efectuaron durante el primer ciclo de plantación a través de los caracteres morfológicos y agronómicos de mayor aporte a la detección de la variabilidad genética. Los resultados mostraron alta estabilidad genética en las plantas obtenidas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA 21' (*Musa AAAB*), dado por el bajo porcentaje de variación somaclonal (0.015%). Por otra parte, la evaluación de los caracteres agronómicos (peso de los racimos, número de manos y número de frutos) no presentó diferencias estadísticas entre las plantas procedentes del cultivo *in vitro* (embriogénesis somática y organogénesis), pero sí con respecto a las plantas de semilla asexual. Por tanto, los resultados de este trabajo pudieran validar la embriogénesis somática para la propagación masiva del cv. híbrido de plátano 'FHIA-21'.

Palabras clave: caracteres morfológicos y agronómicos, cultivo *in vitro*, variación somaclonal

ABSTRACT

The present work was carried to evaluate the genetic stability in plants obtained by somatic embryogenesis of cv. hybrid 'FHIA 21' (*Musa AAAB*) in field. A number of 6 252 plants were planted and 2 000 plants obtained by organogenesis and same quantity coming from asexual seeds were used as control for this study. The plantation density was 3 333 plants per hectare, at a distance of 3x2x1.20m each one. Four repetitions were carried out in a Latin Square experimental design. Evaluations were made during the first plantation cycle through out morphological and agronomic characters of more contribution to detection of genetic variability. Results showed high genetic stability in plants obtained by somatic embryogenesis of cv. hybrid 'FHIA 21' (*Musa AAAB*), given by the low percentage of somaclonal variation (0.015%). Besides, the evaluation of the agronomic characters (bunch weigh, number of hands/bunch and number of fruits/hands) did not present statistical differences among the plants coming from the *in vitro* culture (somatic embryogenesis and organogenesis), but some differences were observed when compared to plants from asexual seeds. Results of this work validate somatic embryogenesis for the massive propagation of cv. hybrid of banana 'FHIA-21.'

Keywords: *in vitro* culture, morphological and agronomic characters, somaclonal variation

INTRODUCCIÓN

En el cultivar híbrido 'FHIA 21' (*Musa AAAB*) la propagación *in vitro* a través del cultivo de brotes axilares (organogénesis) presenta como limitante bajos coeficientes de multiplicación y crecimiento de brotes en forma de rosetas (García-Águila *et al.*, 2002). Por ello, se ha considerado aprovechar las ventajas de la embriogénesis somática en la propagación masiva de plantas de este híbrido.

Daniels *et al.* (2002) propusieron un sistema de regeneración de plantas a través de la embriogénesis

somática como base para la transformación genética. Sin embargo, no consideraron la evaluación en campo de la estabilidad genética como aspecto importante para conocer su competitividad frente a la propagación organogénica y la semilla tradicional (cormo).

En el género *Musa* los principales estudios de variación genética a través de la evaluación de los caracteres morfológicos y agronómicos responden a proyectos de mejoramiento genético. Por esta causa, y con el objetivo de unificar criterios de evaluación la Red Internacional para el

Mejoramiento del Banano y el Plátano confeccionó la Guía de Descriptores para el Banano (*Musa* spp.) que proporciona los parámetros a observar para el manejo general de los cultivares.

Por otra parte, la caracterización morfológica y agronómica se ha utilizado en el monitoreo de la estabilidad genética entre plantas procedentes del cultivo de tejidos *in vitro*, especialmente en plantas regeneradas a partir del cultivo de brotes axilares (organogénesis) (Smith y Hamill, 1993; Sandoval *et al.*, 1997), por ser el método de propagación *in vitro* más utilizado. Sin embargo, existen pocos estudios de estabilidad genética en plantas obtenidas a partir de los embriones somáticos. Entre estos resultados se destacan los obtenidos por Côte *et al.* (2000), en una población de 500 plantas del cultivar Grande naine (*Musa* AAA) regeneradas a partir de suspensiones celulares embriogénicas. Además, están los resultados de López *et al.* (2005) en el cv. Navoleam (*Musa* ABB) y Kosky *et al.* (2006) en el cv. híbrido 'FHIA 18' (*Musa* AAAB). Estos autores observaron diferentes tipos de cambios morfológicos en las plantas regeneradas por embriogénesis somática, muchos de los cuales desaparecieron en el segundo ciclo de cultivo.

Teniendo en cuenta los aspectos anteriormente descritos y la disponibilidad de plantas regeneradas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA 21' (*Musa* AAAB), este trabajo tuvo como objetivo evaluar en condiciones de campo la estabilidad genética de las plantas, a través de caracteres morfológicos y agronómicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se plantaron en campo 6 252 plantas procedentes de embriones somáticos y se utilizaron como control 2 000 plantas obtenidas por organogénesis e igual cantidad procedente de semilla asexual (cormo). El experimento abarcó un área 3.0 hectáreas en suelo aluvial poco diferenciado y la distancia de plantación fue de 3x 2x1.20m, para una densidad de plantación de 3 333 plantas por hectárea. Se realizaron cuatro repeticiones en un diseño experimental de Cuadrado Latino. La temperatura promedio anual durante todo el ciclo de cultivo fue de 25±3°C. El riego y las atenciones culturales se realizaron siguiendo el Instructivo Técnico para el Cultivo del Plátano (INIVIT, 2007).

La evaluación de la estabilidad genética de las plantas se determinó a través de caracteres morfológicos y agronómicos altamente discriminantes y de mayor aporte a la detección de la variabilidad genética. Para ello se utilizó la

Guía de Descriptores para el Banano (*Musa* spp.) propuesta por el INIBAP/IPGRI/CIRAD (1996) y el Descriptor de la FHIA para el cv. híbrido 'FHIA-21' (FHIA, 2002).

Los caracteres morfológicos que se evaluaron fueron: hábito foliar, apariencia del pseudotallo, tipo de bellota, forma del racimo, posición de racimo, color del fruto, forma del fruto y forma del ápice del fruto. A los diez meses se evaluó la altura de la planta (m) medida desde la base hasta la inserción en forma de V de las últimas hojas emitidas, la circunferencia del pseudotallo (cm) a un 1.0 m de la base y el número de hojas funcionales.

La evaluación de los caracteres agronómicos se realizó a los 14 meses de la plantación y para ello se seleccionaron aleatoriamente 250 plantas por cada tipo de sistema de propagación estudiado.

Las variables evaluadas se describen a continuación:

- Número de hojas funcionales a la cosecha.
- Peso neto del racimo con desmane (kg)
- Número de manos por racimo
- Número de frutos por mano

A los datos experimentales se les aplicó un análisis de varianza de clasificación simple. Mientras que la comparación de medias se realizó a través de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con nivel de significación de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas procedentes de embriones somáticos mostraron similitud en los caracteres morfológicos evaluados, con respecto a las plantas procedentes de organogénesis y semilla asexual. Se observó en las plantas un hábito foliar decumbente, pseudotallo brillante no ceroso, bellota permanente en el racimo, racimo asimétrico y ligeramente inclinado, con frutos de color verde claro y rectos en la parte discal (Figura 1). Estos caracteres morfológicos coinciden con el Descriptor de la FHIA (2002) para este cultivar.

No obstante, se observó una planta fuera de tipo en la población procedente de embriones somáticos. Esta se caracterizó por presentar menor altura, pseudotallo delgado y hojas anchas (Figura 2). Este tipo de variante morfológica relacionada con la altura se conoce como planta de tipo 'Grele'. Por esta causa, los resultados en campo mostraron un porcentaje de variación somaclonal de 0.015% en las plantas regeneradas de embriones somáticos del cv híbrido 'FHIA-21'.



Figura 1. Plantas del cv. híbrido de plátano 'FHIA-21' procedentes de embriones somáticos. (a) Plantas con hábito foliar decumbente. (b) Coloración del pseudotallo brillante no ceroso. (c) Tipo de bellota. (d) Forma y posición del racimo



Figura 2. Planta tipo 'Grele' del cv. híbrido de plátano 'FHIA-21' procedente de embriogénesis somática, a los 10 meses de la plantación

A los 10 meses las plantas procedentes del cultivo *in vitro* (embriogénesis y organogénesis) presentaron menor altura y mayor número de hojas funcionales que las plantas obtenidas de semilla asexual, con diferencias significativas

entre ellas. Sin embargo, para la variable circunferencia del pseudotallo no se encontraron diferencias entre las plantas correspondientes a los tres sistemas de propagación (Tabla 1).

En la literatura científica se describen diferentes tipos de cambios morfológicos en plantas procedentes del cultivo *in vitro*. La variación de tipo 'Grele' fue observada por Marie (1993), Morpurgo *et al.* (1997) y Sandoval *et al.* (1997) en otros genotipos de *Musa*.

Los resultados de la evaluación de los caracteres morfológicos muestran que la población de plantas obtenidas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA-21' presenta gran estabilidad genética, dado por el bajo porcentaje de variación somaclonal (0.015%). En este trabajo de 6 252 plantas se observó solo una planta con cambio morfológico. Este porcentaje es bajo cuando se compara con los resultados descritos por otros autores en diferentes genotipos de *Musa*.

Por ejemplo, Grapin *et al.* (1996) obtuvieron de 16 a 22.1% de variantes somaclonales en plantas del cv. 'French Sombra' (*Musa* AAB). Mientras que Shchukin *et al.* (1998), señalaron valores entre 1.6 a 7.9% de variación somaclonal en el cv. 'Grande naine' (*Musa* AAA) cuando emplearon la embriogénesis somática en la regeneración de plantas, siendo el enanismo y el mosaico las variaciones más frecuentes.

En estudios similares, López *et al.* (2005), detectaron 1.1 y 8.6% de variantes somaclonales del cv. de

plátano 'Navolean' (*Musa* ABB), en poblaciones de plantas regeneradas de embriones somáticos y observaron cambios en la morfología del racimo correspondiente a la regresión a tipo 'French'. Posteriormente, Kosky *et al.* (2006) anunciaron 1.0% de variación somaclonal en 1 000 plantas del cv. híbrido de banano 'FHIA-18' (AAAB) regeneradas a partir de embriones somáticos. Estos autores observaron plantas con retardo del crecimiento (enanías) durante dos ciclos de cultivo.

Por otra parte, la evaluación de los caracteres agronómicos en las plantas del cv. FHIA 21 (peso de los racimos, número de manos y número de frutos) no mostraron diferencias estadísticas entre las plantas procedentes del cultivo *in vitro* (embriogénesis somática y organogénesis), pero sí con respecto a las plantas procedentes de semilla asexual. Sin embargo, el mayor número de hojas funcionales, en el momento de la cosecha, se presentó en las plantas obtenidas de embriones somáticos (Tabla 2).

Los resultados de la evaluación de las variables agronómicas demostraron mejor desempeño en las plantas procedentes del cultivo *in vitro* que las plantas procedentes de semilla asexual en el cv. híbrido 'FHIA-21'.

Tabla 1. Caracteres morfológicos en plantas procedentes de embriones somáticos, organogénesis y semilla asexual del cultivar híbrido 'FHIA-21', a los 10 meses de la plantación

Sistema de Propagación	Altura de la planta (m)		Circunferencia del pseudotallo (cm)		Número de hojas funcionales	
	Media	Rangos medios	Media	Rangos medios	Media	Rangos medios
Embriogénesis	2.52	23.37b	49.51	30.18a	9.4	43.6 a
Organogénesis	2.54	24.41b	49.50	30.17a	8.4	33.6 b
Semilla asexual	2.63	37.63a	49.67	30.82a	7.2	17.4 c

Rangos medios con letras distintas en una columna difieren estadísticamente según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para $p \leq 0.05$.

Tabla 2. Caracteres agronómicos y número de hojas funcionales en plantas regeneradas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual del cv. híbrido 'FHIA-21', a los 14 meses de plantación

Sistema de Propagación	Peso del racimo (kg)		Nº de manos/racimo		Nº de frutos/mano		Nº hojas funcionales a la cosecha	
	Media	Rangos medios	Media	Rangos medios	Media	Rangos medios	Media	Rangos medios
Embriogénesis	41.04	28.35a	6.26	29.07a	82.93	29.25a	6.60	26.05a
Organogénesis	39.10	26.41a	6.20	29.20a	78.20	27.41a	5.40	16.90b
Semilla asexual	32.84	12.30b	5.20	10.87b	63.86	10.50b	5.70	18.92b

Rangos medios con letras distintas en una columna difieren estadísticamente según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para $p \leq 0.05$.

Estos resultados al igual que los descritos por Côte *et al.* (2000) durante la evaluación en campo de 500 plantas de 'Grande Naine' (*Musa* AAA), mostraron que no existía diferencias morfológicas y agronómica entre las plantas procedentes de la técnica convencional de cultivo *in vitro* (organogénesis) y las obtenidas a partir de suspensiones celulares embriogénicas. Al respecto, López *et al.* (2005), durante la evaluación en campo de plantas del cv. 'Navolean' obtuvieron una respuesta agronómica similar entre las plantas procedentes del cultivo *in vitro* con respecto a las plantas procedentes de semilla asexual.

CONCLUSIONES

Los resultados de la evaluación en campo a través de los caracteres morfológicos y agronómicos mostraron alta estabilidad genética en plantas obtenidas por embriogénesis somática del cv. híbrido 'FHIA 21' (*Musa* AAAB). Por tanto, los resultados de este trabajo pudieran validar la embriogénesis somática para la propagación masiva *in vitro* en este cultivar.

REFERENCIAS

- Côte F, Folliot M, Domergue R, Dubois C (2000) Field performance of embryogenic cell suspension-derived banana plants (*Musa* AAA, cv. Grand Naine). *Euphytica* 112: 245-251
- Daniels D, Kosky RG, Vega M (2002) Plant regeneration system via somatic embryogenesis in the híbrid cultivar FHIA 21 (*Musa* spp. AAAB Grop). *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 38:330-333
- FHIA (2002) [En línea] <http://www.fhia.hn>. Consultado: 23 de enero 2006
- García-Aguila L, Pérez B, Sarría Z, Clavero J (2002) Alternativas para la propagación *in vitro* del cultivar híbrido FHIA-20. *Infomusa* 11(1):35-38
- García LR, Pérez J, Bermúdez I, Orellana P, Veitia N, García L, Padrón Y, Romero C (2002) Estudio comparativo de la variabilidad producida por la inducción de mutaciones y el cultivo de tejidos en banano (*Musa* sp.) cv 'Grande naine'. *Infomusa* 11(2):4-6
- Grabin A, Schwendiman J, Teisson C (1996) Somatic embryogenesis in plantain banana. *In vitro Plant Cell. and Dev. Biol.* 32: 66-71
- Kosky RG, Barranco L A, Chong B, Daniels D, Reyes M, De Feria M (2006) Trueness-to-type and yield components of banana Irbid cultivar FHIA-18 plants regeneration via embryogenesis in a bioreactor. *Euphytica* 150: 63-68
- INIBAP/IPGRI/CIRAD (1996) Descriptores para el banano (*Musa* spp.). Instituto internacional de recursos filogenéticos, Roma Italia; Red Internacional para el mejoramiento del banano y el plátano. Montpellier, Francia; y Center de Coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Montpellier, Francia
- INIVIT (2007) Instructivo técnico del cultivo del plátano. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales. Biblioteca ACTAF, primera edición. pp. 21
- Marie P (1993) Utilization des vitroplants de bananiers aux Antilles francaises: atouts et contraintes. *Fruits* 48(2):89-94
- Morpurgo R, Brunner H, Grasso G, van Duren M, Roux N, Afza R (1997) Enigma of banana breeding. A challenge for biotechnology. Agro-Food-Industry Hi-Tech. Plant Breeding Unit, FAO/IAEA Agriculture and Biotechnology Laboratory, Austria. pp. 16-21
- Sandoval J, Pérez L, Côte F (1997) Estudio morfológico y de la estabilidad genética de plantas variantes de banano (*Musa* AAA cv. 'Gran Enano'). Etapas de cultivo *in vitro*, aclimatización y campo. *CORBANA* 22(48): 41-60
- López J, Kosky RG, Toledo H, Montano N, Rayas A, Reinaldo D, Chong B, Cabrera M, Santos A, Ventura J, Medero V, García M, Basail M, Cantero A y Arbel J (2005) Evaluación en campo de plantas regeneradas por embriogénesis somática a partir de ápices de brotes de yemas axilares en cv. 'Navolean' (*Musa* spp., AAB). *Biotecnología Vegetal* 5(2):115-120
- Smith M, Hamill S (1993) Banana tissue culture. Banana industry protection board of Strategic Plan 1994-99/Annual report 1993-1994. pp. 27-29. Queensland. Australia
- Shchukin A, Ben-Bassat D, Israeli Y (1998) Somaclonal variation and horticultural performance of Grand Nain bananas multiplied via somatic embryogenesis or shoot-tip culture. Abstracts in IX international congress on plant tissue and cell culture. Jerusalem, Israel