

---

# PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE CORMOS DE PLÁTANO (*MUSA X PARADISIACA. L. VAR HARTÓN*) EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL DEL CENTRO DE FORMACIÓN AGROINDUSTRIAL LA ANGOSTURA (SENA), CAMPOALEGRE (HUILA, COLOMBIA)

Liceth Alejandra Cabrejo Cárdenas  
*Gestora Tecnoparque*

Carolina Ávila Cubillos  
*Instructora Biotecnología*

Anderson Damián Tovar Quiroga  
*Aprendiz Tecnólogo en Agrobiotecnología*

María Laura Quintero Sebay  
*Aprendiz Tecnólogo en Agrobiotecnología*  
*Servicio Nacional de Aprendizaje SENA – Regional Huila*  
*Centro de Formación Agroindustrial La Angostura*  
*Tecnoparque Nodo Angostura – Línea de Biotecnología y nanotecnología*  
*Grupo de investigación Agroindustrial La Angostura*  
*Semillero de investigación Biodiversidad y Ecología – SEBI*  
*Semillero de investigación Agrícola*

Autora para correspondencia: [lcabrejo@misena.edu.co](mailto:lcabrejo@misena.edu.co)

**Resumen:** Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el protocolo de desinfección, establecimiento y crecimiento para la propagación *in vitro* de cormos de plátano, los cuales podrán ser empleados en estudios de producción de genotipos seleccionados, que requieran la obtención de material vegetal sano, según las necesidades de los productores de la región.

En la fase I (de desinfección) se evaluaron tres protocolos diferentes; en el primero se utilizó jabón Extran al 1.5% por 10 minutos, hipoclorito al 2% por 7 minutos y alcohol al 70% por 40 seg; en un segundo protocolo se empleó jabón Extran al 2% durante 8 minutos e hipoclorito de sodio al 2% por 8 minutos; y en un tercer protocolo se empleó jabón líquido e hipoclorito de sodio al 1.25% durante 2 minutos y 5.25% por 2 minutos; antes de la desinfección se colocaron los cormos en solución de ácido cítrico (250 mg / 200 ml) como antioxidante. En la fase II (de establecimiento) se empleó medio Murashige & Skoog + Bencil aminopurina (BAP) 5 mg/L. Y para la fase III (de crecimiento) se usó un medio que contenía 3 mg/L de tiamina, 0.5 mg/L de ácido indol butírico (IBA), 0.5 mg/L de ácido naftalen acético (ANA), 0.5 mg de BAP y 1 g de polivinilpirrolidona (PVP). Como resultado se obtuvo que el tercer protocolo de desinfección permitió eliminar la carga microbiana presente en los cormos, además de generar bajos niveles de oxidación. Así mismo, los medios de cultivo empleados para las fases II y III facilitaron el establecimiento y la diferenciación de tejidos en un período de 2.5 meses.

**Palabras clave:** Cormo, micropropagación, explante, polivinilpirrolidona, fitosanidad.

---

## IN VITRO PROPAGATION OF HARTON PLANTAIN CORMS (*MUSA PARADISIACA* L.) IN THE BIOTECHNOLOGY LABORATORY OF THE AGROINDUSTRIAL TRAINING CENTER "LA ANGOSTURA" (SENA), CAMPOALEGRE (HUILA, COLOMBIA)

**Abstract:** The objective of this research was to evaluate the disinfection, establishment and growth protocol, for the *in vitro* propagation of plantain corms, which can be used in selected genotype production studies that require the obtention of healthy plant material, according to the needs of producers in the region.

In the first phase of disinfection, three different protocols were evaluated: in the first 1.5% Extran soap was used for 10 minutes, 2% hypochlorite for 7 minutes and 70% alcohol for 40 seconds; in the second protocol, 2% Extran soap was used for 8 minutes and 2% sodium hypochlorite for 8 minutes; and in the third protocol liquid soap and 1.25% sodium hypochlorite were used for 2 minutes and 5.25% sodium hypochlorite for 2 minutes; before disinfection corms were placed in citric acid solution (250 mg / 200 ml) as antioxidant  $\zeta$ . In stage II of establishment, Murashige & Skoog + Benzyl aminopurine (BAP) 5mg / L medium was used. And for phase III of growth, a medium containing 3 mg / L of thiamine, 0.5 mg / L of indolebutyric acid (IBA), 0.5 mg / L of naphthalene acetic acid (ANA), 0.5 mg of BAP and 1g of polyvinylpyrrolidone (PVP) was used. The result obtained in the study was that the third disinfection protocol allowed to eliminate the microbial load present in the corms, and generated in addition low levels of oxidation. Also, the culture media used for phases II and III facilitated the establishment and differentiation of tissues in a period of 2.5 months.

**Keywords:** Corm, explant, micropropagation, phytosanitary, polyvinylpyrrolidone.

## Introducción

Los bananos y plátanos constituyen cultivos de gran relevancia para millones de habitantes de países en vía de desarrollo. Productores de Asia, África y América Latina generan su sustento de los cultivos de *Musa* como fuente de alimento y su producción mundial es considerable, la cual es de más de noventa millones de toneladas anuales (Perea, 2003).

En el grupo de las musáceas comestibles, las enfermedades causadas por virus constituyen un riesgo muy serio para la producción y calidad de la fruta; presentándose la estrategia de cultivo de meristemos bajo condiciones *in vitro* como una alternativa para la producción de plantas libres de virus (Perea, 2003).

El cultivo *in vitro* significa cultivar plantas dentro de un frasco que contiene un medio artificial con sales minerales, vitaminas, azúcar, agua, agar, reguladores de crecimiento y hormonas que permiten la propagación clonal a partir de un fragmento o explante (tejido vegetal separado de la planta), tipo semillas, embriones, yemas, meristemos (Castillo, 2004), cormos de una planta madre. Este último, según Beyl y Trigueño (2008), define esta parte vegetal como la base del vástago que se convierte en una masa de tejido de almacenamiento, el cual consta de un disco basal formado a partir de un tallo hinchado subterráneo rodeado de hojas (desde donde nacen las raíces, una túnica delgada y un punto

de crecimiento), donde cada año el vástago produce nuevos hijos (o cormos) es manipulado bajo condiciones estériles).

Los explantes de cormos usualmente sufren procesos de oxidación durante la propagación *in vitro* y, de acuerdo con los resultados de las investigaciones (Amiot *et al.*, 2009; Bray *et al.*, 2000), la oxidación ocurre por la presencia de radicales libres de diferentes componentes celulares, y por la oxidación de compuestos fenólicos, catalizados por la enzima polifenol oxidasa (ppo) para producir quinonas, las cuales son muy reactivas generando daño en incluso muerte celular. La oxidación también se puede generar en otros organelos celulares, como los peroxisomas y los lisosomas, a consecuencia de los cortes realizados en los explantes. Por lo que es importante adicionar a los medios sustancias antioxidantes como polivinilpirrolidona (PVP), ácido cítrico, carbón activado (Azofeifa, 2009).

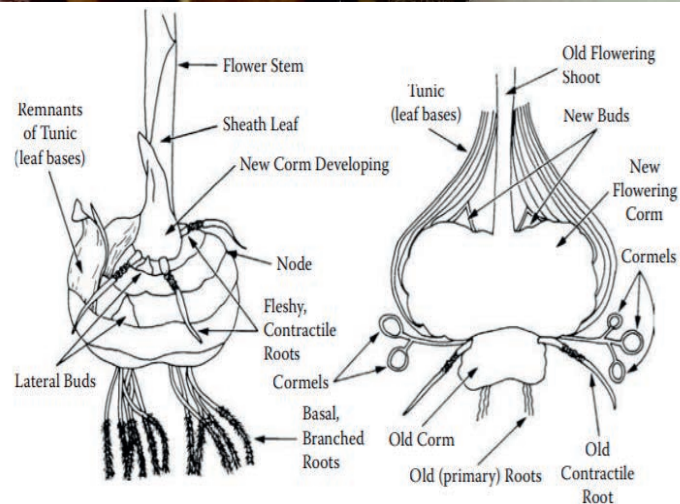
Para este estudio, se tomó como explante el corno del plátano, los cuales se sometieron al proceso de propagación *in vitro*, que incluye cinco fases: Fase 0, selección de material vegetal a partir de plantas madre libres de infecciones bacterianas, fúngicas o virales; Fase I, desinfección del material vegetal; Fase II, establecimiento del explante bajo condiciones *in vitro*; Fase III, multiplicación; y Fase IV, adaptación o endurecimiento. En este estudio de caso se presentaron los resultados obtenidos durante las cuatro primeras fases llevadas a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal del Centro de Formación Agroindustrial La Angostura.

## Materiales y métodos

### Fase 0: selección de cormos

Los cormos fueron seleccionados de plantas en fases vegetativas de *Musa paradisiaca* var. hartón provenientes de la finca La Cruz, del municipio de Neiva, Huila (figura 1A), los cuales se obtuvieron a partir de cormos

(figura 1B) que fueron conservados en bolsas de papel para el proceso de desinfección y corte de túnica, el cual se realizó en el laboratorio de biotecnología del CEFA.



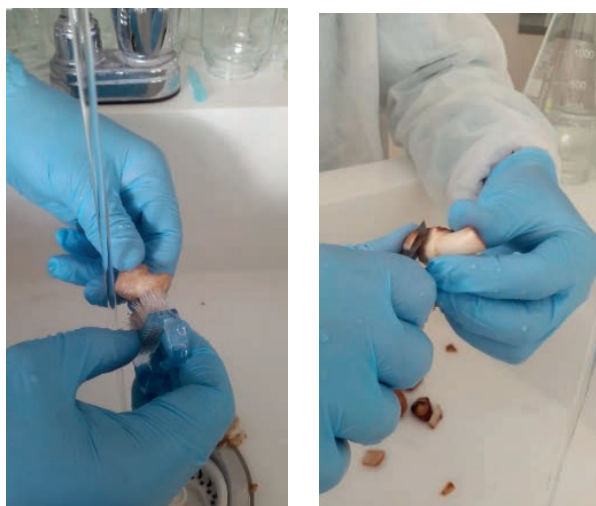
**Figura 1A.** Cormos seleccionados. Fuente: autores. **Figura 1B.** Partes de un corno. Fuente: Beyl y Trigiano (2008).

### Fase I. Desinfección de explante (corno)

Esta fase fue realizada aplicando tres métodos diferentes para determinar el proceso de limpieza y desinfección adecuado para la obtención de cormos libres de contaminación y oxidación para las fases II y III.

## Método 1

Los explantes se colocaron bajo agua de la llave retirando la mayor parte de tierra y material orgánico (figura 3); luego se sumergieron en una solución de jabón Extran 1,5% durante 10 min, se agitaron vigorosamente para permitir que la tierra se desprendiera y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril (ADE); seguidamente, se colocaron en hipoclorito al 2% por 7 min en agitación, luego se enjuagaron dos veces y, posteriormente, se dispusieron en alcohol al 70% por 40 seg en agitación continua, enjuagando luego dos veces en ADE y a continuación los explantes se sumergieron en ácido cítrico 250 mg/200 ml para, finalmente, proceder a sembrarlos.



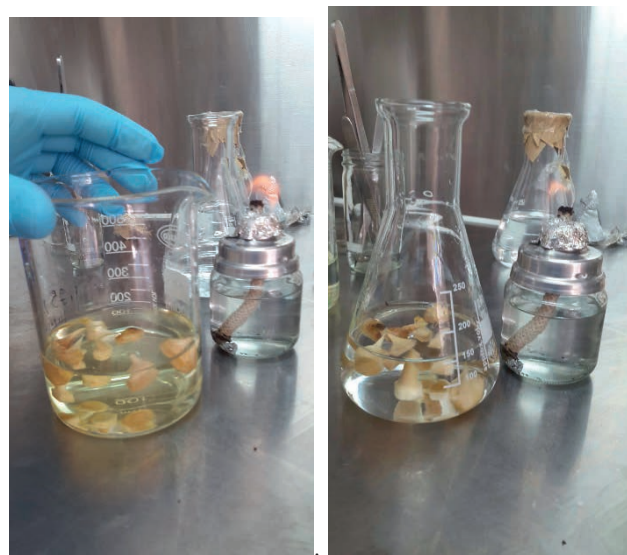
**Figura 3.** Lavado y reducción de cormos. Fuente: autores.

## Método 2

Los explantes fueron enjuagados con agua destilada estéril, luego se sumergieron en una solución de jabón Extran 1,8% durante 8 minutos en agitación continua, se enjuagaron tres veces con ADE, se colocaron a continuación en una solución de hipoclorito al 2% durante 8 min, nuevamente se les realizó enjuague con ADE y se sumergieron en una solución de ácido cítrico 250 mg/200 ml.

## Método 3

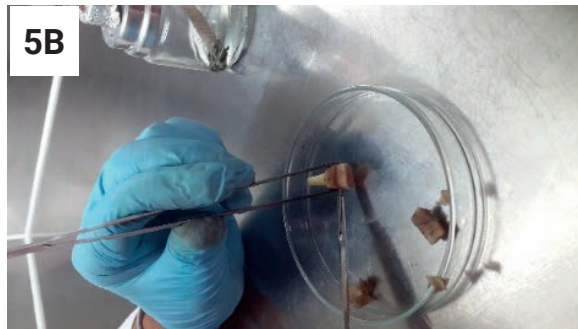
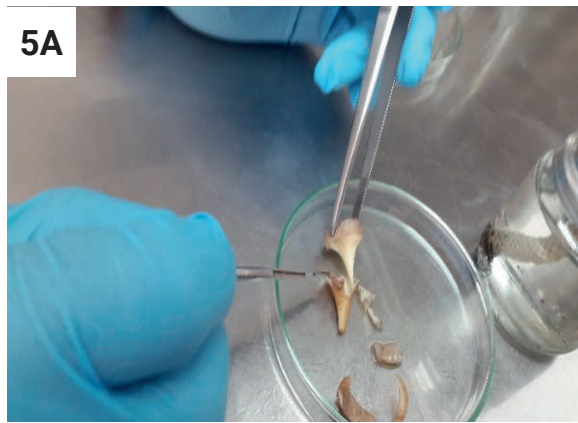
Los explantes son lavados con jabón de manos, luego se sumergieron en una solución de ácido cítrico 250 mg/200 ml durante 10 min, se enjuagaron con agua destilada estéril, se sumergieron en una solución de hipoclorito al 1,25% durante 2 min, a continuación se enjuagaron tres veces con ADE en constante agitación y se sumergieron en una solución de hipoclorito al 5,25% durante 2 min (método descrito por Medina, 2015); teniendo en cuenta el cambio de color del cormo, nuevamente se enjuagaron con ADE, posteriormente se sumergieron en ácido cítrico 100 ppm y se dejaron dentro de esta solución hasta la siembra (figura 4).



**Figura 4.** Proceso de desinfección empleado en el método 3. Izquierda: cormos sumergidos en hipoclorito al 5.25%. Derecha: cormos sumergidos en ácido cítrico 250 mg/L. Fuente: autores.

## Corte de explantes de cormo para la siembra in vitro

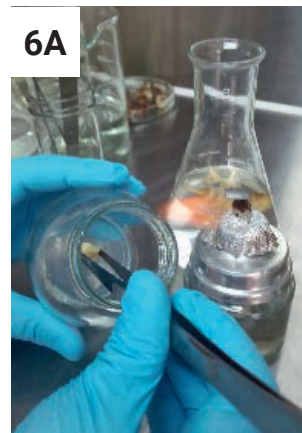
Previamente lavados y desinfectados los cormos, se dejaron a una medida de 5 a 6 cm de longitud y de 2 a 2,5 cm de diámetro. Se retiró la túnica u hoja base y se obtuvieron yemas apicales de cormos nuevos de 2 cm de longitud y 1,5 cm de diámetro, después de la segunda desinfección con 1,25% de hipoclorito de sodio, para la siembra en medio de establecimiento (figura 5).



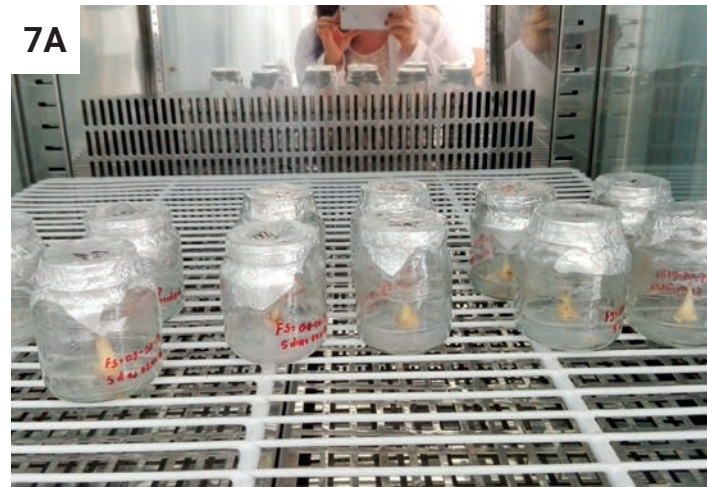
**Figura 5A.** Corte longitudinal de corno nuevo. **Figura 5B.** Retiro de túnica. Fuente: autores.

## Fase II (de iniciación): establecimiento e inducción del crecimiento

Después de la selección y corte de los explantes del corno, bajo condiciones de asepsia se introduce el corno al medio de cultivo que contiene sales de Murashige & Skoog en adición de 0,5 mg de bencilaminopurina (BAP) mg/L y 1 gr/L polivinilpirrolidona (PVP) (figura 6); para los cormos que fueron desinfectados con los métodos 1 y 2 se colocaron en condiciones de oscuridad durante un mes a temperatura ambiente entre 30°C y 35°C y posteriormente se pasaron a fotoperiodo de 12 horas luz / 12 horas oscuridad. Los cormos desinfectados con el método 3 fueron puestos en el mismo medio de cultivo para su establecimiento y en oscuridad solo por 5 días y, posteriormente, en un fotoperiodo de 12 horas luz / 12 horas oscuridad, aproximadamente 30 días (figura 7).



**Figura 6A.** Introducción de cormos al medio de cultivo, bajo condiciones de asepsia. **Figura 6B.** Establecimiento de corno en Murashige & Skoog en adición de 0.5 mg/L bencilaminopurina (BAP) y 1gr/L polivinilpirrolidona (PVP). Fuente autores.



**Figura 7A.** Cormos en oscuridad durante 5 días. **Figura 7B.** Cormos puestos en fotoperiodo 12 horas de luz / 12 horas de oscuridad. Fuente: autores.

### Fase III: Multiplicación y desarrollo de explantes de plátano

Después de un mes los brotes fueron evaluados en un medio que contenía 3 mg/L de tiamina, 0.5 mg/L de ácido indol butírico (IBA), 0,5 mg/L de ácido naftalen acético (ANA), 0,5 mg de BAP y 1 g polivinilpirrolidona (PVP). Los explantes fueron puestos en fotoperiodo de 12 horas luz / 12 horas oscuridad hasta observar su desarrollo, por un período aproximado de 30 días para los explantes provenientes de los métodos 1 y 2, y 21 días para los explantes procedentes del método 3.

## Resultados y discusión

### Fase I: Desinfección de explantes de cormo

Con el primero y segundo métodos de desinfección se observó que la mayoría de los explantes se contaminaron y presentaron oxidación. Con los métodos 1 y 2 sobrevivieron entre 4 y 5 cormos, de 34 y 10 explantes respectivamente; con el método 3 sobrevivieron 8 de 10 explantes. La contaminación se podría atribuir a que el proceso de limpieza no fue el adecuado para retirar el material orgánico, el cual hospeda una carga microbiana que posiblemente no fue eliminada con el proceso de desinfección (tabla 1).

**Tabla 1. Resultados de sobrevivencia y fenolización de cormos al proceso de desinfección.**

| Cormos sembrados         | No de explantes contaminados | No de explantes fenolizados | No de explantes sobrevivientes |
|--------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Método 1<br>34 explantes | 20                           | 10                          | 4                              |
| Método 2<br>10 explantes | 5                            | 10                          | 5                              |
| Método 3<br>10 explantes | 2                            | 0                           | 8                              |

La fenolización indica que el ácido cítrico no fue suficiente como antioxidante, pues se presentó oxidación en

los cormos aun cuando lo reportado por Ramos (2012) indica que la concentración ideal de este antioxidante está entre 1 y 100 mg/L, y en el presente trabajo fue adicionado en mayor concentración. Según Zúñiga (2000) se recomienda mezclar en el proceso de desinfección ácido cítrico y ácido ascórbico, dos antioxidantes, ya que ambos potencializan la reducción de la fenolización y promueven el desarrollo en la etapa inicial del establecimiento. La oxidación también pudo ser ocasionada por agentes abrasivos como el Extran, tal como lo describe Azofeifa (2009), quien indica que estas sustancias desencadenan estrés oxidativo y nitrosativo.

En el método 3 se realizaron cambios debido a que se consideró que el jabón Extran, junto con el hipoclorito y el alcohol, potencializaban la fenolización de los cormos, y se decidió emplear jabón líquido de uso diario en el laboratorio; posterior a este proceso, se sumergieron los explantes en ácido cítrico después de las dos desinfecciones con hipoclorito, donde se manejaron dos concentraciones, permitiendo obtener un mejor resultado al no presentarse oxidación en los cormos y una baja contaminación con respecto a los dos métodos anteriores. Considerándose como el mejor método para la fase I de desinfección de explantes.

### Fase II (de iniciación): Establecimiento e inducción del crecimiento y desarrollo de explantes de plátano

De acuerdo con los seguimientos realizados y el medio de cultivo utilizado para el establecimiento de cormos, se encontró que el medio que contenía 0,5 mg/L de BAP permitió el desarrollo de brote de la yema, esto concuerda con los resultados obtenidos por Uzcátegui (2010), además de estar libres de contaminación. El desarrollo de los explantes en este medio fue de 30 días, aproximadamente, para los métodos 1 y 2 y 21 días de desarrollo para el método 3 de desinfección (figura 8).



**Figura 8.** Brote de cormo en medio 0,5/L BAP a los 30 días. Fuente: autores.

Se obtiene también como resultado que se puede reducir el tiempo en el que se exponen los cormos a la oscuridad, basados en el desarrollo de los explantes dejados en esta condición durante 5 días, tiempo suficiente para observar que los explantes presentaban o no procesos de oxidación y contaminación comparados con los cormos de los métodos 1 y 2 de desinfección que fueron dejados 30 días en la oscuridad, los cuales presentaron oxidación y contaminación la primera se-

mana de siembra, y que al sacarlos a la luz estas dos condiciones se intensificaron en algunos explantes. Por lo que la condición de no oxidación de los explantes se puede atribuir al uso de ácido cítrico después de las desinfecciones y no directamente al tiempo de permanencia de los cormos en la oscuridad (figura 9).

### Fase III. Multiplicación y alargamiento de los brotes

Según los resultados, se considera que la combinación de reguladores de crecimiento empleada en el medio que contenía 3 mg/L de tiamina, 0,5 mg/L de ácido indol butírico (IBA), 0,5 mg/L de ácido naftalen acético (ANA) y 0,5 mg de BAP fueron ideales para la diferenciación de los brotes, los cuales fueron desarrollándose en un promedio de 34 días para los explantes a los que se les aplicó el método 2 de desinfección, y 19 días para los explantes del método 3 de desinfección. Contrario a lo observado por Glemys *et al.* (2013), donde el desarrollo fue de 8 semanas. No se reporta los explantes del método 1 dado que presentaron oxidación y muerte celular. En promedio se observó el desarrollo de raíces entre 4 y 9, alargamiento de tallo de aproximadamente de 1 a 2 cm y de 2 a 5 pares de hojas, verdes y vigorosas. Véase la tabla 2 y las figuras 10 y 11.



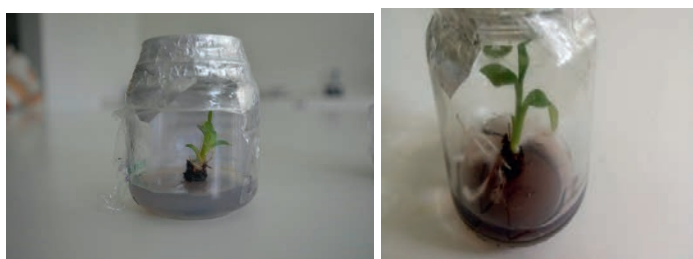
**Figura 9A.** Cormos pasados a luz después de 30 días de oscuridad. **Figura 9B.** Cormos después de 5 días en oscuridad. Fuente: autores.

**Tabla 2.** Permanencia en días de los cormos en los diferentes medios y desarrollo de raíces, hojas y tallo.

| Cormos sembrados                    | Número de explantes en medio 1 | Días en oscuridad | Número de días de desarrollo desde medio 1 hasta endurecimiento | Número de días que permanece en medio 1 | Número de días que permanece en medio 2 | Promedio número de raíces | Número de hojas | Largo del tallo |
|-------------------------------------|--------------------------------|-------------------|---|---|---|---------------------------|-----------------|-----------------|
| Método uno<br>34 y dos 10 explantes | 4                              | 30                | 74 días   | 30 días                                 | 34 días                                 | 4                         | 2 hojas         | 1-2 cm          |
| Método 3<br>10 explantes            | 8                              | 5 días            | 36 días   | 21 días                                 | 19 días                                 | 9                         | 2-5 hojas       | 1-2 cm          |



**Figura 10.** Desarrollo de raíces en medio fase III. Fuente: autores.



**Figura 11.** Cormo diferenciado 12 días de desarrollo en medio fase III (5 días de oscuridad). Fuente: autores.

## Conclusiones

El protocolo de desinfección de la fase I descrito en el método 3 más los medios de cultivo planteados en la fase II y III permitieron el adecuado desarrollo de brotes y diferenciación de los tejidos del cormo en tiempos más cortos, al reducir el tiempo en oscuridad.

La mezcla de reguladores y hormonas puede ser empleada para evaluar la propagación masiva de cormo en medio líquido.

La capacidad de producción de brotes de los cormos depende de la variedad, por lo que se debe escoger el material basados en técnicas moleculares que permitan verificar la sanidad y asegurar así la propagación de especies sanas y productivas.

## Referencias bibliográficas

- Amiot (2009). . Recuperada de <https://www.ndsu.edu/pubweb/chiwon-lee/plsc368/student/papers03/eamiot/bana-naprop.htm>
- Azofeifa, A. (2009). "Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes en cultivos" . . 20(1): 153-175.
- Beyl, C. y Trigiano, R. (2008). . CRC Press. 305-306.
- Castillo, A. (2004). "Propagación de plantas por culti-



---

vo : una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo". INIA. Recuperado de <http://www.inia.uy/-Publicaciones/-Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>

Glemys, R.; Nerice, A.; Maribel, R.; Belkys Bracho, Deisy A.; Hallely, S. y Juan, N. (2013). "Cultivo de yemas de plátano tratadas con adenina, provenientes de cormos enteros o seccionados de plátano 'Cambur manzano'". 25(2):137-142. Recuperado de [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v20n01\\_153.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v20n01_153.pdf)

Medina, M.; Medina, C.; y Medina, L. (2015). "Propagación de (Simmunds) plátano bocadillo del Chocó, Colombia, a partir del cultivo de meristemos apicales". , 5(1): 47-53.

Perea Dallos, M.; y Dallos, M. P. (2003). . Bogotá: Editora Guadalupe.

Ramos, J. (2012). "Avances de la Micropropagación de Plantas Leñosas". Recuperado de <http://www.repository-unad.edu.co/-bitstream/10596/2515/1/171-27974.pdf>.

Ríos, G.; Añez, N.; Ramírez, M.; Bracho, B.; Araujo, D.; Suárez, H.; y Nava, J. (2013). "Cultivo de yemas tratadas con benciladenedina provenientes de cormos enteros seccionados de plátano 'Cambur manzano'". 25(2): 137-142.

Uzcategui, J. P.; Hernández, Y.; Osorio, D.; y Rivas, M. (2010). "Evaluación de comportamiento de ápices de plátano AAB cv. 'Hartón' y 'Hartón Doble Tallo'". , 3(1): 7-12.

Zúñiga, A. (2012). *Saccharum officinarum*. Tesis de pregrado. Zamorano, Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria.