

**ASPECTOS MORFOANATÓMICOS DE CALLOS
ORIGINADOS DURANTE EL PROCESO
DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA
EN BANANO WILLIAMS SUBGRUPO CAVENDISH
(*Musa* sp. GRUPO AAA)**

Jeanetyaska Urdaneta González*, Rosanna Valerio,
Teresa Edith Vargas*** y Eva de García******

RESUMEN

Con la finalidad de analizar las características morfoanatómicas de los callos obtenidos durante el proceso de inducción de embriogénesis somática en banano *Musa* sp. cv. "Williams", se cultivaron manos de las posiciones 7ª a la 20ª, provenientes de inflorescencias masculinas inmaduras en medio sólido de inducción de callo MA1. Transcurridos seis meses de cultivo, los callos obtenidos mostraron diferentes morfologías, color y textura y fueron clasificados según su consistencia y color en: compactos blancos nodulares (CCBN), compactos blancos lisos (CCBL), marrones semi-compactos (CMSC) y beige friables (CBgF). Los cortes a mano alzada realizados a estos callos mostraron distintas formas y organizaciones celulares, aunado a la presencia de células embriogénicas en algunos tipos. Después de 15 días de cultivo en medio líquido MA2, todos los callos presentaron células embriogénicas y no embriogénicas en distintas proporciones.

Palabras Clave: Morfoanatomía; callo; banano Williams; embriogénesis somática.

1 Esta investigación ha sido financiada por el FONACIT a través del proyecto G9-7000 700, otorgado a la Dra. Eva de García.

* Ingeniera Agrónoma. Estudiante del Postgrado en Botánica de la Facultad de Ciencias. UCV. Profesora Asistente de la UNESUR. E-mail: jeanetyaska@yahoo.com

** Profesora Asistente. Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias. Estado Sucre. E-mail: Rosanna_valerio@hotmail.com.

*** Profesoras. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. E-mail: teoriedu@cantve.net / egarcia@reacciun.ve

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

**MORPHOANATOMIC ASPECTS OF CALLUS
ORIGINATED DURING THE INDUCTION PROCESS
OF SOMATIC EMBRYOGENESIS
IN BANANA WILLIAMS, SUBGROUP CAVENDISH
(Musa sp. GROUP AAA)**

Jeanetvska Urdaneta González*, Rosanna Valerio,
Teresa Edith Vargas*** y Eva de García******

SUMMARY

Morphoanatomical characteristics of callus obtained during the induction process of somatic embryogenesis in banana *Musa* sp. cv. "Williams" were analyzed. Hands on positions 7th to 20th coming from immature masculine inflorescences were cultured on a solid media for callus induction (MA1). After 6 months of culture, calli showed different morphologies, color and texture. They were classified by its consistency and color in: nodular white compact callus (NWCC), smooth white compact callus (SWCC), semi-compact brown callus (SCBC) and friable beige callus (CBgF). The histological studies of these calli demonstrated the presence of cells of different shapes, different cellular organization, as well as embryogenic cells. After 15 days of culture in liquid medium MA2, all calli had different proportion of embryogenic and non embryogenic cells.

Key Words: Morphoanatomy; callus; banana Williams; somatic embryogenesis.

1 Esta investigación ha sido financiada por el FONACIT a través del proyecto G9-7000 700, otorgado a la Dra. Eva de García.

* Ingeniera Agrónoma. Estudiante del Postgrado en Botánica de la Facultad de Ciencias. UCV. Profesora Asistente de la UNESUR. E-mail: jeanetvska@yahoo.com

** Profesora Asistente. Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias. Estado Sucre. E-mail: Rosanna_valerio@hotmail.com.

*** Profesoras. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. E-mail: teoriedu@cantve.net / egarcia@reacciun.ve

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

INTRODUCCIÓN

Los bananos y plátanos son cultivares cuyas condiciones de esterilidad y altos niveles de ploidía no permiten el fitomejoramiento a través de los métodos convencionales (Grapin *et al.*, 1996, 2000). En este sentido, el uso de técnicas biotecnológicas tradicionales y modernas se ha convertido en una alternativa eficaz para el logro del mejoramiento vegetal.

Entre las técnicas biotecnológicas tradicionales se encuentra la embriogénesis somática, la cual constituye un importante instrumento para el mejoramiento genético vegetal (Grapin *et al.*, 2000). El embrión somático, por su bajo número de células constituyentes, es considerado un material blanco ideal para la transformación genética al aumentar la probabilidad de obtención de plantas uniformemente transformadas (Grapin *et al.*, 1996). La embriogénesis somática en banano ha sido inducida a partir de diferentes materiales vegetales incluyendo flores masculinas inmaduras (Ma, 1991, citado por Grapin *et al.*, 1996, 2000; Escalant *et al.*, 1994).

La mayoría de los estudios realizados incluyen descripciones morfológicas de los callos de *Musa* sp., pero no suministran información acerca de las características anatómicas de los diferentes tipos de callos obtenidos. Dicha información podría aportar datos acerca de la estructura citológica y posible presencia de centros de crecimiento, dentro del tejido calloso, capaces de originar embriones. En este sentido, esta investigación planteó como objetivo analizar las características morfoanatómicas de los callos obtenidos durante el proceso de inducción de embriogénesis somática en banano *Musa* sp. cv. “Williams” a partir de inflorescencias masculinas inmaduras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: para inducir la callogénesis se utilizaron manos de las posiciones de la 7^{ma} a la 20^{ra} provenientes de flores masculinas inmaduras de banano *Musa* sp cv. “Williams” (grupo AAA), inoculadas en medio MA1 sólido compuesto por sales MS y suplementado con 1 mg l⁻¹ de AIA, 1 mg l⁻¹ de ANA y 4 mg l⁻¹ de 2,4D (Strosse *et al.*, 2003).

Cultivo en medio líquido: Después de seis (6) meses de cultivo de las manos en el medio MA1, los callos obtenidos fueron transferidos a medio

líquido de multiplicación MA2 líquido compuesto por las sales MS y suplementado con 2 mg l⁻¹ de 2,4D (Strosse *et al.*, 2003) y colocados en oscuridad a 27 °C en un agitador rotatorio a 160 rpm.

Estudio histológico: Los diferentes tipos de callos obtenidos durante la inducción fueron fijados en Formol-ácido acético-alcohol (FAA) al 70%, cortados a mano alzada, teñidos con Azul de Astra, y montados para su observación bajo microscopio de luz marca Nikon FX – 35DX con cámara fotográfica incorporada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de seis meses de cultivo en el medio de inducción MA1, los callos obtenidos fueron clasificados según su consistencia y color en: compactos blancos nodulares (CCBN), compactos blancos lisos (CCBL), marrones semi-compactos (CMSC) y beige friables (CBgF).

Los cortes realizados a estos callos mostraron que los CCBN presentaron una estructura celular organizada en las capas externas, apreciándose una epidermis uniestratificada de células dispuestas anticlinalmente a la superficie del callo (Figura A). En algunas zonas de la superficie de estos callos se observaron células de mayor tamaño y abundante contenido citoplasmático, paredes celulares más gruesas, así como la ocurrencia de divisiones celulares internas en todos los sentidos formando masas proembriogénicas (Figura B), estos resultados muestran cierta similitud con los obtenidos por Biberach (1995), quien observó a los seis meses de cultivo que en algunas zonas de los callos compactos se encontraban células sueltas que se desprenden del mismo y que formaban el cultivo embriogénico, caracterizado por la presencia de embriones somáticos en diferentes estados de desarrollo y en muchos casos estos embriones permanecían unidos a los callos de origen con la pared celular bien delimitada.

Los CCBL presentaron epidermis uniestratificada formada por células pequeñas e isodiamétricas; subepidermis constituida por células organizadas y dispuestas anticlinalmente y una zona interna del callo formada por células isodiamétricas desorganizadas y con pocos espacios intercelulares (Figura C). Los CMSC mostraron una constitución celular más desorganizada con células de poca densidad citoplasmática y espacios intercelulares de mayor tamaño que los anteriores (Figura D). Los CBgF

presentaron una zona central con células organizadas en un tejido relativamente compacto con escasos espacios intercelulares y una zona periférica constituida por células circulares e isodiamétricas de pared delgada y distribución laxa (Figura E).

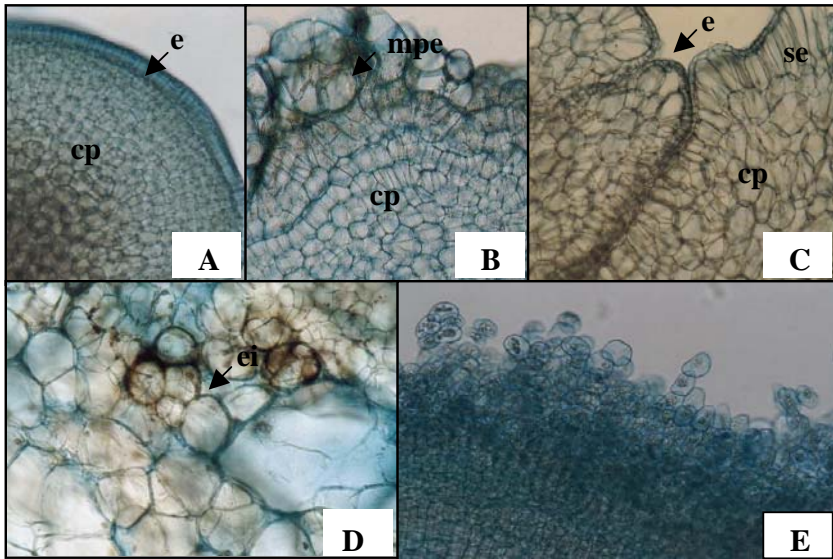


FIGURA. A-B: CCBN; C: CCBL; D: CMSF; E: CBgF. Epidermis (e), subepidermis (se), células parenquimáticas (cp), masas proembriogénicas (mpe), espacios intercelulares (ei).

Biberach (1995), también observó la formación de callos friables a los 3, 4, 5 y 6 meses de cultivos de flores masculinas inmaduras de *Musa* sp., cuyas células ubicadas hacia la periferia de los mismos se desprendían fácilmente y originaron células embriogénicas.

Después de 15 días de transferencia de los callos a medio líquido de multiplicación MA2, las suspensiones celulares obtenidas de los CCBN mostraron abundantes células embriogénicas y no embriogénicas, agregados celulares y embriones, a diferencia de las suspensiones de los CCBL cuyas células fueron escasas y principalmente no embriogénicas.

Las suspensiones de los CMSC mostraron, por su parte, poco crecimiento celular con células embriogénicas y no embriogénicas, mientras que las suspensiones de los CBgF presentaron células embriogénicas, agregados celulares y embriones de color blanco unidos a pequeños fragmentos de callo. Resultados análogos fueron obtenidos por Biberach (1995), a los veinte días de transferir los callos friables al medio líquido, en donde se observó la presencia de agregados celulares embriogénicos y pequeñas células esféricas con citoplasma denso.

Cabe destacar que la mayoría de los estudios histológicos realizados a callos de *Musa* sp. han sido con la finalidad de observar el origen de los sistemas embriogénicos formados, pero ninguno describe anatómicamente los diferentes tipos de callos originados, haciendo énfasis sólo en aquellos embriogénicos (Escalant *et al.*, 1994; Biberach, 1995; Grapin *et al.*, 1996, 2000; Trujillo y de García 1999; Vidal *et al.*, 2000).

BIBLIOGRAFÍA

BIBERACH, F. 1995. Embriogénesis somática y regeneración de plantas en cultivares de *Musa* sp. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 86 p.

ESCALANT, J., C. TEISSON and F. CÔTE. 1994. Amplified somatic embryogenesis from male flower of triploid banana and plantain cultivars (*Musa* sp.). *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 30:181-186.

GRAPIN, A., J. ORTIZ, T. LESCOT, N. FERRIÈRE and F. CÔTE. 2000. Recovery and regeneration of embryogenic cultures from female flowers of False Horn Plantain. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 61:237-244.

GRAPIN, A., J. SCHWENDIMAN and C. TEISSON. 1996. Somatic embryogenesis in plantain banana. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 32:66-71.

STROSSE, H, R. DOMERGUE, B. PANIS, J. ESCALANT y F. CÔTE. 2003. Suspensiones de células embriogénicas de banano y plátano. Guía técnica INIBAP 8. Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, Montpellier, Francia.

TRUJILLO, I. and E. de GARCÍA. 1999. Somatic embryogenesis *in vitro* of *musa* clones. Revista Internacional de Botánica Experimental OYTON. 68:7-17.

VIDAL, M, T. VARGAS y E. de GARCÍA. 2000. Estudios anatómicos y morfológicos de la iniciación de embriones somáticos obtenidos a partir de ápices meristemáticos de *Musa* sp. Acta Científica Venezolana. 51:78-83.