

OSCAR ARIAS M.*
FERNANDO HUETE V.*

Summary

Clonal propagation of pejibaye palm (Bactris gasipaes H. B. K.) was obtained by callus culturing from shoot apices of young field-grown plantlets on a modified Murashige and Skoog medium. Callus was induced from cultured explants in a medium with 2, 4 Dichlorophenoxyacetic acid and 6 Benzilaminopurine or α naphthalene-acetic acid and Kinetin in the dark. Plantlets were obtained with a recultured callus in a medium devoid of hormones in the light.

Introducción

La propagación del pejibaye se realiza generalmente por medio de semillas de frutos que han sido seleccionados por su tamaño y calidad. En esta especie predomina la xenogamia y además se presenta autoincompatibilidad, por lo que las semillas de una misma planta muestran mucha variabilidad (5).

La propagación vegetativa del pejibaye por medio de hijos basales presenta dificultades prácticas en la separación de la planta madre además de que la supervivencia en el campo es generalmente baja (2).

Los primeros intentos para cultivar Palmáceas *in vitro* se iniciaron con los trabajos de Rabeachault en palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) (9, 10). Posteriormente, otros investigadores han publicado trabajos no solamente en palma de aceite, sino en coco (*Cocos nucifera* L.) y en datil (*Phoenix dactylifera* L.) (1, 3, 4, 8, 11, 12, 13, 14).

Considerando el éxito obtenido en el cultivo de tejidos de otras palmáceas se planteó esta investigación con el objeto de establecer niveles hormonales y condiciones de ambiente favorables para el creci-

miento y la diferenciación de tejidos de pejibaye, ya que el desarrollo de un nuevo método de reproducción vegetativa de esta monocotiledónea arborescente presenta un gran interés no sólo en el estudio de aspectos básicos de la biología de la planta, sino que ofrece otra alternativa de propagación, buscada en todas aquellas especies que presentan valor económico.

Resultados

En general, los ápices de pejibaye forman callos entre los dos y los cuatro meses de cultivo, algunas veces todo el tejido meristemático produce callo, otras, y de acuerdo con la concentración de hormonas se presenta la formación de callo desde la zona proximal hasta la parte distal (Figura 1). Estos callos son, inicialmente, de un color blanco amarillento y algunas veces al ser expuestos a la luz se oxidan. Con alguna frecuencia se sintetiza clorofila, volviéndose, en este caso, de textura compacta y difíciles de subdividir. Las dosis de 2.4-D que favorecen la formación de este tipo de callo están entre 20 y 50 mg l⁻¹ (Figura 2). Parece que en esta etapa la presencia de citocinina no es muy importante, sin embargo en una concentración entre 3 y 6 mg l⁻¹ de BAP en el medio, estimula la formación y el desarrollo inicial de los callos.

En algunos cultivos es posible observar al cabo de 5 meses el desarrollo de estructuras análogas a un embrioides que se desarrolla y generan varios brotes apicales con su respectivo sistema radical (Figura 3), otros callos son más lentos, tardando hasta un año para organizarse, sobre todo cuando no

¹ Recibido para su publicación el 9 de mayo de 1983

Los autores desean agradecer a la Asociación Bananera Nacional (ASBANA) por el apoyo del material brindado para la realización de este trabajo, así como al Dr. Juan José Alan por la revisión crítica del manuscrito.

* Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

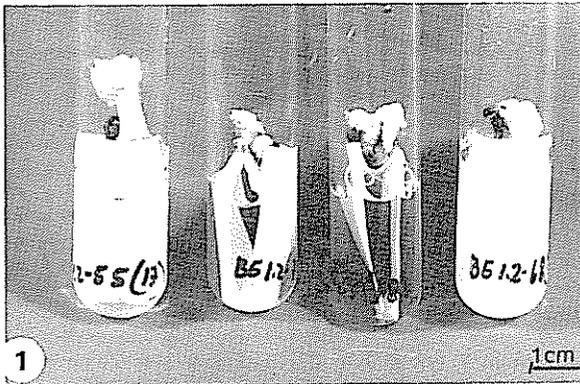


Fig 1. Ejemplo de las diferentes respuestas obtenidas en el cultivo de ápices de peyibaye al cabo de tres meses en el medio de Murashige y Skoog modificado con diferentes concentraciones de 2,4 D y 6 BAP.

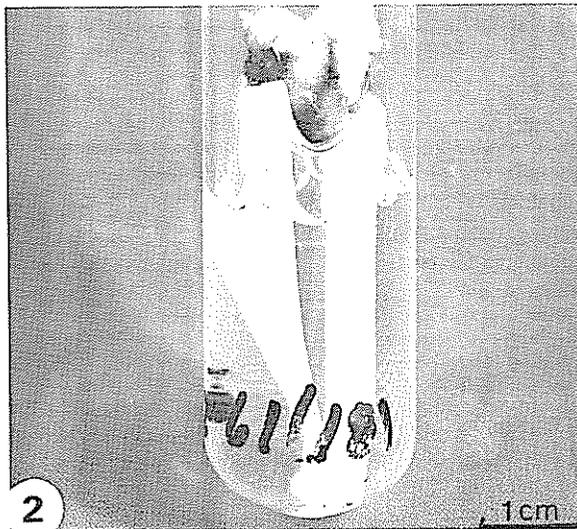


Fig 2. Callo obtenido por cultivo de ápices de peyibaye al cabo de tres meses de la oscuridad en un medio con 30 mg l^{-1} de 2,4 D y 3 mg l^{-1} de 6 BAP.

contienen citocinina (Figura 4). Con alguna frecuencia no ocurre la formación de callos sino el crecimiento del meristemo apical (Figura 5) que al cabo de 5 ó 6 meses forma una plántula completa.

Los tratamientos con ANA en concentraciones entre 1.25 mg l^{-1} y 10 mg l^{-1} favorecen la diferenciación de plántulas al cabo de 8 a 10 meses de cultivo, en este caso las interacciones más favorables con la K se encuentran entre 0.5 y 2 mg l^{-1} (Figuras 6 y 7). Al cabo de un año la tasa de diferenciación de plántulas completas en los cultivos fluctuó entre 10 y 35%, tanto en aquellos callos inicia-

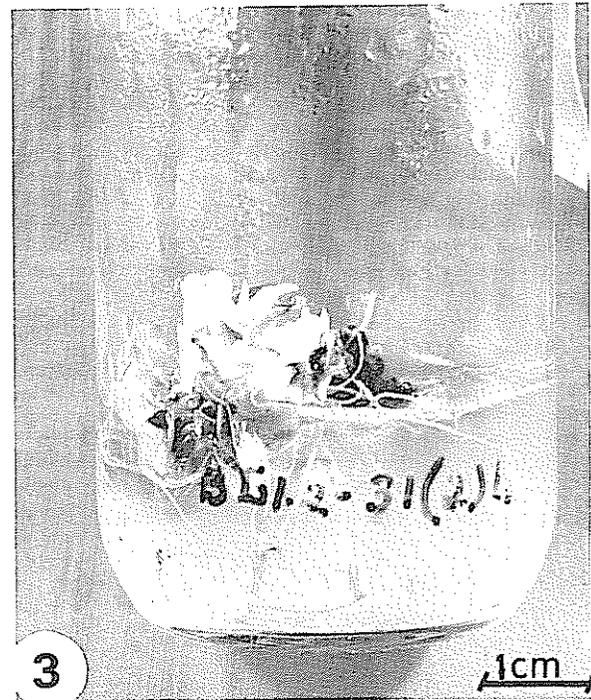


Fig 3. Regeneración de plántulas de peyibaye a partir de un callo incubado en medio sólido sin hormonas a la luz.

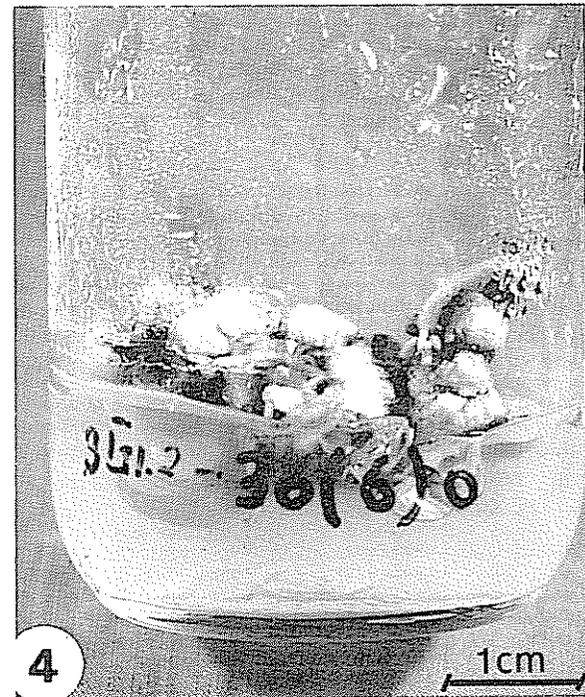


Fig 4. Morfogénesis observada en un callo al cabo de 7 meses de cultivo en medio sólido sin hormonas a la luz.



Fig. 5. Crecimiento observado en algunos ápices de pebibaye incubados durante 3 meses a la oscuridad.

dos con 2.4-D y BAP como en los que se obtuvieron con el tratamiento de ANA y K.

Materiales y métodos

El material de propagación se obtuvo de plantas de cuatro a seis meses de edad cultivadas en vivero en condiciones de campo, a las cuales se les eliminó el sistema radical y el follaje quedando un trozo de tallo basal de 1 a 2 cm de largo por 0.5 a 1.0 cm de diámetro donde se encontraba el meristemo apical. Este material se lavó primero con agua destilada, luego se sumergió por 1 min. en etanol de 70% y posteriormente se agitó durante 15 min. en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% a la que se le había adicionado dos gotas de Tween-80. Finalmente los trozos de tallo se lavaron tres veces con agua destilada estéril en una cámara de flujo laminar.

Una vez desinfectados los trozos de tallo se procedió a extraerles la yema apical junto con algunos primordios foliares. El tamaño final de los ápices fue de 3 a 5 mm y se colocaron en tubos de cultivo de

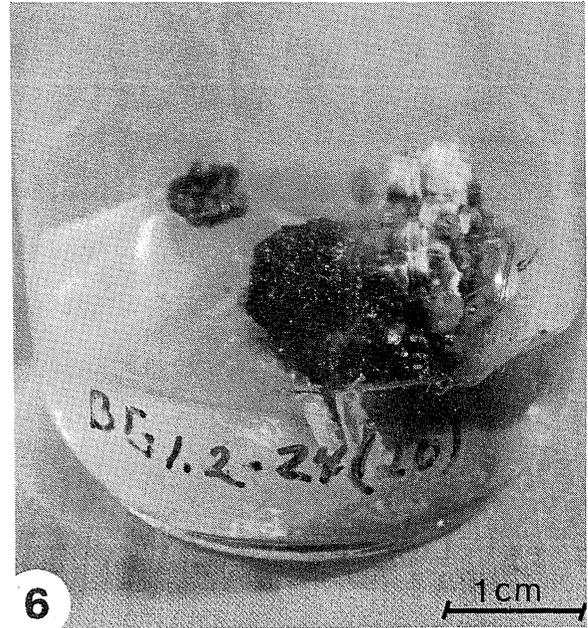


Fig. 6. Diferenciación observado en un callo obtenido por cultivo de ápices de pebibaye en un medio con 10 mg l^{-1} de ANA y 0.5 mg l^{-1} de kinetina.

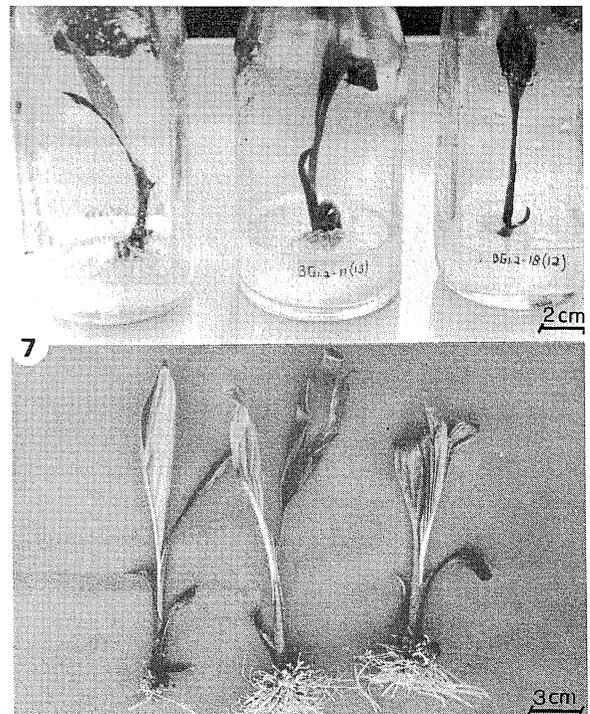


Fig. 7. Plántulas de pebibaye regeneradas por cultivo de callos.

150 x 18 mm sobre un puente de papel Whatman No. 42 y en un medio líquido que consistió de las sales inorgánicas de Murashige y Skoog (7), 100 mg l⁻¹ de inositol, 0.4 mg l⁻¹ de hidrócloruro de tiamina y 3% de sacarosa. En este medio básico se estudiaron concentraciones variables de ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) (25 a 200 mg l⁻¹ en interacción con 6-benzilaminopurina (BAP) (1 a 12 mg l⁻¹). También se probaron dosis del ácido α naftalenacético (ANA) (1 a 10 mg l⁻¹) en interacción con 6-furfurilaminopurina (K) (0.25 - 2 ppm). Cada tratamiento constó de 20 repeticiones, que se incubaron en la oscuridad a una temperatura de 22 \pm 2 C durante dos meses. Luego se pasaron a la luz (aproximadamente 120 μ E S⁻¹ M⁻²), con un fotoperíodo de 12 h y una temperatura de 23 \pm 2 C.

Al pasar los cultivos de la oscuridad a la luz se cambiaron a un medio solidificado con 8 g l⁻¹ de agar, con la misma composición química que el medio líquido, sin hormonas. El pH del medio se ajustó en todos los casos a 5.7.

Discusión

Los resultados anteriores permiten afirmar que la multiplicación del pejibaye a partir del cultivo de meristemas es posible, lo que tiene una gran importancia económica si se considera el alto potencial de este cultivo desde el punto de la alimentación humana y la industria de alimentos para uso animal (6).

El cultivo de meristemas de pejibaye permite, al igual que en datil (14) la multiplicación vegetativa de aquellos genotipos superiores sin sacrificar la planta madre, ya que el pejibaye produce hijos basales de donde es posible obtener el material de propagación, esta es una diferencia importante con otras palmas de interés económico como el coco y la palma de aceite donde también se ha intentado la propagación vegetativa.

El porcentaje de callos que han permitido la diferenciación de plántulas al cabo de un año es de 35%, en los mejores tratamientos. Estos resultados son explicables si se tiene en cuenta la heterogeneidad genética del material con que se ha trabajado.

Es estímulo de la embriogénesis somática que aparentemente se da en pejibaye permitirá mejorar sustancialmente la tasa de reproducción de la planta que en este momento está entre 3 y 5 en aquellos casos exitosos.

Los trabajos en nuestro laboratorio se orientan a confirmar la repetitividad de los fenómenos observados, a la búsqueda de métodos que permitan la em-

biogénesis somática, así como a disminuir el tiempo de obtención de plántulas y el desarrollo de una metodología que permita la adaptación y supervivencia de las plántulas en condiciones no estériles.

Resta también por conocer el comportamiento del material de diferenciado, ya que en otras especies se ha informado de cambios en el genoma durante el cultivo *in vitro*. Sin embargo, los resultados obtenidos en datil y en palma de aceite indican que al menos en estas dos especies el riesgo es mínimo (8, 14).

Resumen

Se presenta una metodología para la propagación vegetativa del pejibaye (*Bactris gasipaes* H. B. K.) por cultivo de tejidos.

La producción de callos se logró por cultivo de ápices meristemáticos en un medio modificado de Murashige y Skoog en presencia del ácido 2,4-Diclorofenoxiacético y de la 6-Benzilaminopurina o del ácido α naftalenacético y la cinetina a la oscuridad. La producción de plántulas se indujo a la luz y en un medio sin hormonas.

Literatura citada

1. AMMAR, S. y BENBADIS, A. Multiplication végétative du palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L.) pour la culture de tissus de jeunes plantes issues de semis. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles 284:1 789-1792. 1977.
2. BLAAK, G. Vegetative propagation of pejibaye (*Bactris gasipaes* H. B. K.). Turrialba 30(3): 258-261. 1980.
3. EEUWEENS, C. J. Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera*) and date palms (*Phoenix dactylifera*) cultured *in vitro*. Physiologia Plantarum 42:173-178. 1978.
4. JONES, L. H. Propagation of clonal oil palms by tissue cultures. Oil Palm News 17:1-9. 1974.
5. MORA, J. y SOLIS, M. A. Polinización en *Bactris gasipaes* H. B. K. (palmae). Revista de Biología Tropical 28(1):153-174. 1980.
6. MORA, J. *et al.* El pejibaye. San José, Banco Nacional de Costa Rica, 1982. 18 p.

7. MURASHIGE, T. y SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497. 1962.
8. PANNETIER, C., ARTHUIS, P. y LIEVOUX, D. Neoformation de jeunes plantes d'*Elaeis guineensis* à partir de cals primaires obtenus sur fragments foliaires cultivés *in vitro*. *Oléagineux* 36(3):119-121. 1981.
9. RABECHAULT, H. Relation entre le comportement des embryons de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) en culture *in vitro* et la teneur en eau des grains. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Sceances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles* 264:276-279. 1967.
10. RABECHAULT, H. y MARTIN, J. P. Multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) à l'aide de cultures de tissus foliaires. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Sceances de l'Academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles* 283:1 735-1 737. 1976.
11. RHISS, A., POULAIN, C. y BEAUCHESNE. La culture *in vitro* appliquée à la multiplication végétative du palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L.) *Fruits* 34:551-554. 1979.
12. STARITSKY, G. Tissue culture of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) as tool for its vegetative propagation. *Euphytica* 19:288-292. 1970.
13. TISSERAT, B. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. *Journal of Experimental Botany* 30:1 275-1 283. 1979.
14. TISSERAT, B. Date palm tissue culture. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1981. 50 p. (AAT-W-17).

Reseña de libros

REINERT, J. and YEOMAN, M. M. Plant cell and tissue culture. A Laboratory Manual. Springer Verlag 1982. 83 p.

Las técnicas de cultivo de órganos, tejidos y células vegetales son de uso rutinario en muchos laboratorios de investigación a nivel mundial en estudios relacionados con la propagación de plantas, el saneamiento de plantas infectadas por virus, la producción de híbridos somáticos y la conservación de germoplasma.

A pesar de que existe una amplia gama de libros muy bien documentados que ilustran las bases teóricas sobre el tema, así como sus aplicaciones en ciencias biológicas, es difícil encontrar los detalles y procedimientos metodológicos para realizar con éxito el cultivo *in vitro* de tejidos y órganos vegetales.

En este manual de laboratorio, los autores describen 17 experimentos cuidadosamente seleccionados por su facilidad para reproducir y precisión en la toma de datos, que han sido escritos de una manera sencilla y muy bien ilustrados.

Los experimentos están agrupados siguiendo una secuencia lógica alrededor de seis temas principales: aislamiento de material vegetal — división celular y crecimiento, pruebas biológicas para citocininas, morfogénesis *in vitro*, liberación y cultivo de protoplastos, metabolismo de productos secundarios y cultivo de embriones.

Este manual es una excelente obra para uso de estudiantes universitarios que se inician en el campo del cultivo *in vitro* de tejidos y órganos vegetales, así como para el entrenamiento de personal de apoyo de laboratorio y como material de enseñanza en cursos cortos que se organicen sobre el tema.

OSCAR ARIAS MOREIRA
CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

DENT, D. y YOUNG, A. Soil survey and land evaluation. George Allen and Unwin. London, England. 1981. 278 p.

Los objetivos de este libro son: 1) resumir las técnicas y procedimientos usados por personal encargado de confeccionar mapas de suelos y evaluación de tierras; 2) proveer un texto básico para aquéllos que estudian esta profesión y 3) presentar el panorama de esta disciplina a planificadores, agrónomos, economistas y aquéllos que tengan que trabajar con información general de mapas de suelos. Es mi opinión que los objetivos del texto se cumplen a cabalidad.

Los primeros siete capítulos se relacionan con el reconocimiento de los suelos, los capítulos ocho y once cubren el material referente a la evaluación de las tierras y los restantes capítulos (12 a 15) tratan sobre comunes a ambos temas.

El material cubierto en el texto es de excelente calidad, ordenado adecuadamente y posible de reunir sólo por profesionales de amplia experiencia en este campo. Esta obra viene a llenar un vacío enorme existente en la literatura contemporánea, al proporcionar un material que tiene bases comunes tanto para el planificador, el especialista y el estudiante.

En el texto no se cubre en detalle metodologías específicas. Se menciona, sin embargo, las referencias más pertinentes para cada tópico. Quizá lo más sobresaliente es que los autores incluyen comentarios propios sobre la bondad o los inconvenientes que representa el emplear una u otra metodología.

Mención especial merecen los capítulos 11 y 12 que tratan sobre Aspectos Económicos de la Evaluación de Tierras y Manejo Automatizado de la Información, respectivamente. Estos dos tópicos se mencionan en muy contadas ocasiones en conferencias y cursos sobre el tema y se tratan con relativa profundidad.

El texto se recomienda a planificadores, cartógrafos y estudiantes y puede conseguirse a Allen & Unwin, Inc., 9 Winchester Terrace; Winchester, Massachusetts 01890 (Paper — \$ 16.95).

ALFREDO ALVARADO
FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA