

**MICROPROPAGACIÓN DE PIFÁ (*Bactris gasipaes* H.B.K.)
PANAMÁ, 2002-2003.**

**MICROPROPAGATION OF PEACH PALM (*Bactris gasipaes* H.B.K.)
PANAMÁ, 2002-2003.**

*Heidi Hernández Ibarra*¹; *Priscila Alvarado de González*²

INTRODUCCIÓN

El pifá (*Bactris gasipaes* H.B.K.) es una palmera americana, originaria de la región amazónica de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú, que es cultivada desde tiempos pre-hispánicos en toda América tropical. Tiene un alto valor nutritivo. La porción comestible de la fruta contiene minerales (calcio, fósforo, hierro), vitaminas (caroteno, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico), proteínas, ácidos grasos y fibra natural. Por su alto contenido de caroteno (0.29 -2.7 g) y proteína (340 – 633 mg) es un componente importante en la dieta de las poblaciones rurales de América tropical; además su proteína contiene siete de los ocho aminoácidos esenciales (treonina 2.5%/g N; valina, 2.7%; metionina, 1.3%; isoleucina, 1.7%; leucina, 2.6%; fenilalanina, 1.3%; lisina, 4.6%). La nuez contiene 8.8% de proteína, 31% de grasas, 20.8 % de almidón y 18% de fibra cruda (Morton, 1987).

Esta palmera se reproduce por semillas y muestra auto incompatibilidad natural, por lo tanto, las poblaciones naturales son muy heterogéneas. Esto explica la gran variabilidad de las características de las plantas y los frutos. Utilizando semilla sexual no es posible reproducir una planta con características sobresalientes; la reproducción mediante hijuelos es lenta y aporta un limitado número de individuos, dificultando el establecimiento de parcelas comerciales con genotipos uniformes y productivos.

Algunos investigadores han intentado la clonación de pifá, usando la comprobada técnica de micropropagación, teniendo resultados importantes, pero, sin haber

¹ Estudiante Tesista, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Panamá.

² Bióloga, M.Sc. Genética, Investigadora Laboratorio de Agrobiotecnología. IDIAP Centro de Investigación Agropecuaria Central, e-mail: idiap_div@cwpanama.net

llegado a desarrollar un protocolo eficiente y reproducible (Arias, 1985; Astorga y Araya, 1995). Con el objetivo de desarrollar una metodología para la propagación *in vitro* de pifá (*Bactris gasipaes* H.B.K.), se estableció un ensayo para determinar un tratamiento eficiente de desinfección, controlar la fenolización y regenerar plantas por organogénesis directa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Agrobiotecnología del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), en Divisa, provincia de Herrera, entre marzo de 2002 y febrero de 2003.

Se colectaron hijuelos basales de palmas adultas y plántulas provenientes de semillas germinadas en los sitios de colecta, en las provincias de Chiriquí, Veraguas y Coclé. Las plántulas y los hijuelos se lavaron con abundante agua y jabón para eliminar la tierra y los restos de material vegetativo, se redujeron a 5-6 cm de longitud; nuevamente se lavaron tres veces con jabón líquido y enjuagaron con abundante agua.

Para la desinfección superficial de los explantes se utilizaron funguicidas y bactericidas orgánicos (Lonlife, Bioctoc), antibióticos (estreptomina, gentamicina, kanamicina y rifampicina) e hipoclorito de calcio. Los agentes desinfectantes se usaron solos y en mezclas, sumergiendo

los explantes por 10 ó 20 minutos. Los antibióticos también se usaron diluidos en el medio de cultivo o aplicados en papel filtro. Debido a la alta fenolización encontrada se probó adicionar al medio ácido cítrico, ácido ascórbico o carbón activado. Se probaron dos medios para el cultivo de los explantes: Murashige y Skoog (1962) con 2 mg/l de BAP y Gamborg B5 (197) con 14 mg/l BAP y 5 mg/l ANA. Los explantes se mantuvieron por 10 días a luz indirecta y después a la luz directa. La temperatura de cultivo fue de 25°C, 2000 lux de iluminación y fotoperiodo de 12 horas luz.

Las sobrevivencia y la fenolización fueron evaluadas a los 15, 22, 45 y 60 días después de siembra. El diseño experimental fue completamente al azar, con tres réplicas de cinco unidades experimentales cada una. Los datos fueron transformados a raíz cuadrada de $x + 1$ y se hizo un análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El lavado de los explantes en los extractos naturales parece tener poco efecto en el control de la contaminación, al igual que el baño de los explantes en antibióticos. El agente desinfectante que mostró cierto control sobre los contaminantes del pifá fue el hipoclorito de calcio (10 y 20%) aplicado durante 20 minutos.

Desde la primera semana de cultivo fue evidente el crecimiento de hongos y

bacterias, ya que la contaminación a los 10 días de cultivo osciló entre 20 y 100%, en los distintos tratamientos. En algunos tratamientos apareció un halo bacterial en el medio de cultivo, cuatro días después de la siembra de los explantes; sin embargo, en los primeros 15 días de cultivo, los microorganismos contaminantes no afectaron la sobrevivencia de los explantes, pues en algunos tratamientos hubo 100 % de explantes vivos. En esta etapa los explantes presentaban coloración verde y los folíolos se extendieron.

En las siguientes evaluaciones de la sobrevivencia (22, 45 y 60 días después de siembra) era notorio el deterioro de los explantes causado por los contaminantes y la fenolización. El análisis de varianza para la variable sobrevivencia (15, 22, 45 y 60 días) mostró diferencias significativas entre los tratamientos.

Los mayores porcentajes de sobrevivencia de explantes a los 60 días de cultivo se obtuvieron en los tratamientos T16 y T17, consistentes en la desinfección con hipoclorito de calcio al 20 y 10%, respectivamente, durante 20 minutos en ambos casos. En estos dos tratamientos se agregó el antibiótico kanamicina (10 mg/l) al medio de cultivo, factor que pudo haber influido en la sobrevivencia pues hubo mayor control de la contaminación. En el tratamiento T16 hubo 40% de explantes vivos a los 60 días, mientras que el T17 tuvo 26%.

Otro tratamiento que controló la contaminación fue el T4 (Na OCl 10% por 10 minutos y kanamicina y rifampicina aplicados en papel filtro), con 20% de brotes vivos y sanos a los 60 días.

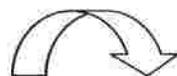
En este estudio se enfatizó en el control de los microorganismos contaminantes debido a la alta frecuencia con que se presentó el problema. Otros investigadores destacan este factor como uno de los más influyentes en el cultivo *in vitro* del pifá (Pinedo, 1987). Su control es difícil y está relacionado con el estado fitosanitario de las plantas donantes y la ineficiencia de las soluciones desinfectantes.

A los 22 días de cultivo, la tasa de sobrevivencia se redujo, tanto por efecto de las bacterias como por la fenolización del explante, por lo cual se usaron antioxidantes como los ácidos ascórbico y cítrico, en dosis de 20 mg/lit, ambos agregados al medio. Estos no redujeron la oxidación, ni solos ni en mezcla. Se logró reducir los niveles de fenolización cuando se agregó 5 g/lit de carbón activado, coincidiendo con los resultados de Astorga y Araya (1995). Algunos explantes presentaron clorosis en la base del explante, posiblemente por efecto del antibiótico al cual fueron expuestos.

El medio de cultivo Gamborg B5 con 14 mg/lit de BAP y 5 mg/lit de ANA favoreció el desarrollo de los explantes, y se observó el alargamiento de los brotes y la formación de protuberancias semejantes a yemas axilares.



FIGURAS 1 Y 2. DESARROLLO DE LA HOJA DE ÁPICES DE PIFÁ A LOS 45 Y 60 DÍAS DE CULTIVO.



FIGURAS 3. ÁPICE CON HOJAS PLEGADAS. SE DISTINGUEN LAS ESPINAS.

CONCLUSIONES

- ✱ El uso de hipoclorito de sodio al 20%, con una exposición de 20 minutos, redujo en un 60% la contaminación de los explantes.
- ✱ El comportamiento inicial del pifá en los diferentes tratamientos fue similar, con respecto a la contaminación y fenolización, pero una vez sustituido el medio MS por el Gamborg B5 con la adición de carbón activado (5g/lit) y el antibiótico kanamicina (10 mg/lit) se mejoró la respuesta.
- ✱ La contaminación bacteriana fue una de las principales limitantes para establecer el cultivo aséptico del pifá. La presencia marcada de la bacteria endógena en el cultivo *in vitro* puede deberse a las condiciones óptimas del medio de cultivo para el crecimiento profuso del microorganismo, ya que en campo no produce daños visibles a las plantas. Los hijuelos utilizados no presentaban ninguna sintomatología de infección por bacteria, ni en las hojas ni en los tallos.

BIBLIOGRAFÍA

- ARIAS M., O. 1985. Propagación vegetativa por cultivo de tejidos de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). *Asbana* (Costa Rica) 24 (9): 24-27.
- ASTORGA, C.; ARAYA, W. 1995. Propagación vegetativa *in vitro* de Pejibaye. Informe Bianual. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. s.p.
- MORTON, J. 1987. Pejibaye. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. pp. 12-14. In www.Hort.purdue.edu/newcrop/morton/pejibaye.html.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- GAMBORG, O.; MILLER, R. A.; OJIMAK, K. 1968. Nutrient requirement of suspension culture of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50: 151-158.
- PINEDO, M. H. 1987. Organogénesis Directa en Ápices Caulinares de Pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Tesis *Magister Scientiae*, CATIE, Turrialba, Costa Rica. 110 p.