

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria
Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación
Multiplicación *in vitro* de plátano (*Musa × paradisiaca* L.)

Estudiantes

Elian Joel Gálvez López

Jaime Gabriel Elizalde Ochoa

Asesoras

María Alexandra Bravo, M.Sc.

Cinthya Martínez, MAE.

Honduras, julio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA MARGARITA MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ROGEL CASTILLO

Director Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figuras	6
Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos	12
Ubicación	12
Obtención Del Material Vegetal a Utilizar	12
Establecimiento <i>In Vitro</i> De Meristemas Apicales.....	12
Método De Desinfección	13
Preparación, Siembra Y Manejo Del Material Vegetal	13
Medio de Cultivo Para La Etapa De Establecimiento.....	14
Tratamientos.....	15
Multiplicación	16
Incubación.....	16
Variable Evaluada.....	16
Diseño Experimental	17
Análisis Estadístico	17
Resultados y Discusión.....	18
Establecimiento	18
Fase De Multiplicación	19
Conclusiones	22

Recomendaciones	23
-----------------------	----

Referencias	24
-------------------	----

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) para establecimiento de meristemas de plátano Musa × paradisiaca L. (var.curare enano).....	15
Cuadro 2 Tratamientos evaluados en el establecimiento in vitro de meristemas de plátano Musa × paradisiaca L. (variedad Curare enano)	16
Cuadro 3 Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) modificado para multiplicación in vitro de meristemas de plátano Musa × paradisiaca L. (var.curare enano).....	17
Cuadro 4 Promedio de brotes por meristema de plátano establecido in vitro como respuesta a AIA y BAP	20

Índice de Figuras

Figura 1. Proceso de reducción: A) Cormo de plátano traído de campo, B) Primera reducción del cormo previo su ingreso al laboratorio, C) Segunda reducción del cormo para realizar desinfección	13
Figura 2. Cortes de reducción para Proceso de establecimiento: A) Última reducción del explante, B) Explante listo para su establecimiento luego de la última reducción, C) Meristemo apical establecido in vitro en medio de cultivo estéril	14
Figura 3. Desarrollo según dosis: A) Tratamiento B4, B) Tratamiento A, C) Tratamiento T, D) Tratamiento B7A.....	21

Resumen

La propagación *in vitro* tiene una alta demanda hoy en día, exige una optimización de recursos a fin de producir de manera eficiente. El objetivo del presente proyecto fue determinar la dosis adecuada de auxinas y citoquininas o, su combinación en la etapa de establecimiento y su efecto en la producción del número de brotes por explante durante la fase de multiplicación de plátano. La variable evaluada fue el número de brotes por explante, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). Para el experimento se establecieron meristemas de plátano en el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS), suplementado con ácido indoleacético (AIA) y 6-bencilaminopurina (BAP). Se evaluaron 12 tratamientos: Un tratamiento testigo (sin hormonas), cinco dosis de BAP (4, 5, 6, 7, 8 mg/L), cinco dosis de BAP (4, 5, 6, 7, 8 mg/L) combinadas con AIA 0.2 mg/L, y un tratamiento con AIA 0.2 mg/L, se realizaron 30 repeticiones por tratamiento. El medio de cultivo se refrescó cada 21 días en todos los tratamientos por dos ocasiones en la misma formulación de establecimiento. Al día 63 todos los meristemas establecidos se transfirieron a medio de multiplicación MS suplementado con 4 mg/L BAP. Los mejores resultados se obtuvieron en el medio suplementado con 4 mg/L de BAP sin AIA, con un promedio de 8.07 brotes por explante a los 147 días de haber iniciado la etapa de multiplicación. Los tratamientos testigo con y 0.2 mg/L de AIA, mostraron una disminución en la emisión de botes en cada subcutivo. Se concluye que el mayor número de brotes se obtuvo suplementado el medio de establecimiento con 4 mg/L de BAP.

Palabras clave: Micropropagación, *in vitro*, auxinas, citoquininas, medio de cultivo.

Abstract

In vitro propagation is in high demand today, it requires optimization of resources to produce efficiently. The objective of this project was to determine the adequate dose of auxins and cytokinins, or their combination in the establishment stage and their effect on the production of the number of shoots per explant during the banana multiplication phase. The variable evaluated was the number of shoots per explant, a completely randomized design (DCA) was used. For the experiment, banana meristems were established in the culture medium of Murashige and Skoog (MS), supplemented with indoleacetic acid (IAA) and 6-benzylaminopurine (BAP). Twelve treatments were evaluated: A control treatment (without hormones), five doses of BAP (4, 5, 6, 7, 8 mg / L), five doses of BAP (4, 5, 6, 7, 8 mg / L) Combined with AIA 0.2 mg / L, and a treatment with AIA 0.2 mg / L, 30 repetitions were performed per treatment. The culture medium was refreshed every 21 days in all treatments on two occasions in the same establishment formulation. At day 63 all established meristems were transferred to MS multiplication medium supplemented with 4 mg / L BAP. The best results were obtained in the medium supplemented with 4 mg / L of BAP without IAA, with an average of 8.07 shoots per explant 147 days after starting the multiplication stage; The control treatments with and 0.2 mg / L of IAA, showed a decrease in the emission of cans in each subcutaneous. It is concluded that the highest number of shoots was obtained by supplementing the establishment medium with 4 mg / L of BAP.

Keywords: Micropropagation, *in vitro*, auxins, cytokinins, culture media.

Introducción

El origen de las musáceas es el sureste asiático. Se cree que el genoma *Balbisiana* se originó en la costa este de la India y el genoma *Acuminata* en la costa este de lo que actualmente es Malasia, Tailandia y Myanmar (Mejía Calderón 2018). El *Musa x paradisiaca* (plátano) (SIPSA 2014). Constituye una importante fuente de carbohidratos y contribuye a la seguridad alimentaria de millones de personas en África, el Caribe, Latinoamérica, Asia y el Pacífico (Roldán et al. 2002).

A nivel mundial, el plátano representa importantes rubros en términos económicos para la mayoría de los países productores, puesto que generan ingresos de divisas y constituyen fuentes permanentes y transitorias de trabajo para una parte de la población. Además, contribuyen con la seguridad y soberanía alimentaria de países en vía de desarrollo, ya que son alimentos básicos en la dieta diaria de millones de personas, tanto como alimento fresco, de cocción y procesado, ya que junto a las raíces y tubérculos aportan alrededor del 40% de la oferta de alimentos ricos en energía (Ormaza Rodríguez 2017).

El plátano se propaga por medio de material vegetativo denominado colinos, cormos, cepas o hijos; es la principal vía de transmisión de las características genéticas deseables, sin embargo, este también es el método más eficiente para la diseminación de plagas y enfermedades que hacen que el cultivo pierda rentabilidad y calidad (Palencia et al. 2006). El ‘hijo’, separado de la planta madre, cuyo punto de crecimiento central da lugar a la nueva planta y en el que todas las yemas axilares han sido eliminadas (Robinson y Galán Saúco 2012).

La micropropagación o propagación clonal *in vitro*, que se realiza a través del cultivo en ambiente controlado de un fragmento de una planta madre llamado explante. Con este procedimiento se obtiene una descendencia uniforme, es decir, plantas genéticamente idénticas, a las cuales se les denominada clones (Quintanilla Moreno 2014). La propagación *in vitro* de plátano generalmente se la realiza mediante meristemos apicales extraídos de los cormos, debido a que estos

tienen un crecimiento longitudinal y también por su totipotencia. Los meristemos se establecen en un medio de cultivo adecuado donde puede crecer una nueva planta (Ortega et al. 2010).

La composición básica de los medios de cultivo incluye sales minerales, una fuente de carbohidratos, un suplemento vitamínico y la dosis específica de reguladores de crecimiento que requiera cada fase del proceso y método de micropropagación empleado y, en caso necesario, un agente gelificante que proporcione un soporte físico al material vegetal en cultivo (Galan et al. 2018). Para el caso específico del género *Musa* se han investigado varios medios. Sin embargo, el de mejores resultados es el basal de Murashige y Skoog, en ocasiones modificado. Algunos investigadores incluyen antioxidantes como cisteína, ácido cítrico o ácido ascórbico. Además, se usan frecuentemente los medios de consistencia semisólida en vez de líquidos. Habitualmente se incluyen los reguladores de crecimiento tipo auxinas y citocininas (Sandoval et al. 1991).

Los reguladores de crecimiento vegetal son compuestos sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos, son similares a las fitohormonas y cumplen un papel importante en la regulación de diferentes procesos bioquímicos a nivel celular en los organismos vegetales (Alcantara Cortes et al. 2019). Las auxinas participan en todos los procesos de desarrollo de las plantas y, a nivel celular, intervienen en los procesos de división, elongación y diferenciación celular. Una de las características más sobresalientes de esta fitohormona es que está distribuida diferencialmente entre células y tejidos; en algunos casos se acumula localmente en una célula o un grupo de células, en otros cambia su distribución entre células y, finalmente, también puede tener una distribución diferencial en los tejidos vegetales (Garay-Arroyo et al. 2014).

Las citoquininas fueron descubiertas en la década de 1950 como factores que promueven la proliferación celular y mantienen el crecimiento de tejidos vegetales cultivados *in vitro*. Poco después de su descubrimiento Skoog y Miller propusieron que la formación de órganos en las plantas se debe al balance existente entre las citoquininas y las auxinas. Usando cultivos de tabaco, demostraron que un balance alto de auxinas favorecía la formación de raíces, mientras que un balance alto de

citoquininas favorecía la formación de tallos (Mok D y Mok M 2001). El objetivo del estudio fue determinar la dosis adecuada de auxinas y citoquininas o su combinación en la etapa de establecimiento y su efecto en el número de brotes por explante durante la fase de multiplicación.

Materiales y Método

Ubicación

El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, situado en el kilómetro 30 carretera Tegucigalpa Danlí, Valle del Yeguate, municipio de San Antonio del Oriente, Francisco Morazán, Tegucigalpa, Honduras.

Obtención Del Material Vegetal a Utilizar

Para este estudio se utilizó la variedad *Curaré enano*, el cual tiene mayor aceptación en el mercado y, tiene mayores rendimientos en campo en comparación a otras variedades, los meristemos apicales fueron extraídos de cormos de hijuelos de la plantación de plátano, ubicada en el lote Zorrales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Establecimiento *In Vitro* De Meristemos Apicales

Se seleccionaron 360 cormos utilizando como criterio, una altura de 30 cm y 20 cm de diámetro, que no presentaran daño mecánico, ni síntomas de enfermedades. Una vez clasificados, se procedió a la reducción, este procedimiento consistió en realizar cortes longitudinales y transversales de hojas superficiales y raíces, hasta conseguir aproximadamente un explante de 5 cm de ancho y 9 cm de altura, eliminando material muy expuesto al ambiente y acercándose a un material más sano, previo su ingreso al laboratorio (Figura 1).

A continuación, se ingresó el material al laboratorio para hacer una segunda reducción, se utilizó una solución de cloro durante el proceso desinfectar superficialmente el material vegetal, a medida que se fue eliminando tejido superficial no deseado, hasta conseguir un explante de 2 cm × 5 cm. Finalmente, se colocó en el medio de cultivo estéril un meristema apical con forma cilíndrica con tejido blanco e ileso (Figura 1).

Figura 1

Proceso de reducción: A) Corno de plátano traído de campo, B) Primera reducción del corno previo su ingreso al laboratorio, C) Segunda reducción del corno para realizar desinfección



Método De Desinfección

Para la desinfección del material vegetal en el laboratorio se realizó un lavado con una solución de agua y jabón durante un minuto, después se hizo una desinfección con una solución de cloro comercial al 0.50% v/v (NaOCl 4.72% de ingrediente activo), más 2 gotas del surfactante Tween® 80 por cada 100 ml de solución, durante 15 minutos siguiendo el protocolo detallado por Cronauer y Krikorian (1984).

Preparación, Siembra Y Manejo Del Material Vegetal

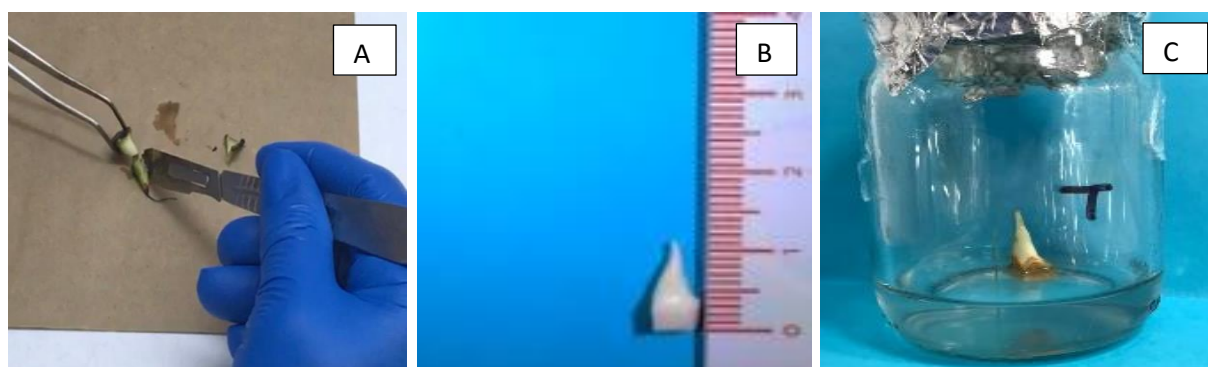
El proceso de siembra comenzó con la desinfección del material vegetal, para luego ingresar a las cámaras de flujo laminar. La cámara y el esterilizador de calor seco fueron encendidos 30 minutos antes de iniciar el trabajo, la superficie del mesón de la cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol al 70%. Además, se esterilizaron los instrumentos a utilizar, un par de pinzas y bisturí, insertándolos 30 - 60 segundos en el esterilizador de calor seco a una temperatura de 250 - 300 °C.

A continuación, se ingresó el material vegetal sumergido en la solución desinfectante a la cámara de flujo laminar, la solución se decantó y se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril para remover los restos de la solución desinfectante. Se utilizó papel estéril como base en el proceso

de corte para evitar cualquier tipo de contaminación por contacto con el mesón de la cámara. Se hizo una última reducción de los explantes, haciendo cortes alrededor del mismo hasta conseguir un explante de 0.5 cm ancho y 1cm de altura, conteniendo el meristemo apical (Figura 2). Se colocaron los meristemos en el medio de cultivo estéril, uno por contenedor.

Figura 2

Cortes de reducción para Proceso de establecimiento: A) Última reducción del explante, B) Explante listo para su establecimiento luego de la última reducción, C) Meristemo apical establecido in vitro en medio de cultivo estéril



Medio de Cultivo Para La Etapa De Establecimiento

Se utilizó medio de cultivo base de Murashige y Skoog (MS) (Cuadro 1). Además, se adicionaron la auxina, ácido indoleacético (AIA) y la citoquinina, 6-bencilaminopurina (BAP) según el tratamiento evaluado. Se utilizó el equipo pHep® para medir el pH y se ajustó hasta 5.8 con el uso de hidróxido de potasio (KOH 1M) y ácido clorhídrico (HCL 1N). Como agente gelificante se utilizó Phytigel® 1.8 g/L. Se colocó 20 mL de medio de cultivo por frasco de 100 mL, se tapó con papel aluminio y se esterilizó en el autoclave a 1 Kg/cm², durante 20 minutos a 121°C. Los meristemas permanecieron en medio de establecimiento durante 63 días. Cada 21 días se realizó refrescamiento de medio de cultivo y se eliminó el tejido fenolizado, al medio de refrescamiento se le adicionó glicina 2 mg/L y L-cisteína 2 mg/L como antioxidante.

Cuadro 1

Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) para establecimiento de meristemos de plátano Musa × paradisiaca L. (var. curare enano)

Componentes	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1900
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170
Microelementos	H ₃ BO ₃	Ácido bórico	6.2
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.83
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.3
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	Molibdato de sodio bihidratado	0.25
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.6
	FeNa EDTA	Hierro Sodio Etilendiaminotetraacético	50
Vitaminas		Inositol	100
		Tiamina	0.1
		Piridoxina	0.5
		Ácido Nicotínico	0.5
Carbohidratos		Sacarosa	30000

Nota. Tabla obtenida en (Hoyos et al. 2008)

Tratamientos

Se establecieron 12 tratamientos combinando la citoquinina BAP (6-bencilaminopurina) que promueven la proliferación celular y crecimiento de tejido vegetal, y la auxina AIA (ácido indolacético) producen un alargamiento y crecimiento celular, un tratamiento sin hormonas y otro con 0.2mg/L de AIA (Cuadro 2). La formación de órganos se debe a un balance adecuado entre ambas hormonas, por lo que, se busca la efectividad en el método de propagación evaluando diferentes concentraciones para la inducción y obtención de altas tasas de brotes viables.

Cuadro 2

Tratamientos evaluados en el establecimiento in vitro de meristemas de plátano Musa × paradisiaca

L. (variedad Curare enano)

Tratamientos	6-bencilaminopurina (BAP)	Ácido indolacético (AIA)
	mg/L	mg/L
T	0	0
B4	4	0
B5	5	0
B6	6	0
B7	7	0
B8	8	0
A	0	0.2
B4A	4	0.2
B5A	5	0.2
B6A	6	0.2
B7A	7	0.2
B8A	8	0.2

Multipliación

A los 63 días del establecimiento, los meristemas fueron transferidos a medio de multiplicación (Cuadro 3). Se separaron los brotes axilares formados de los tejidos meristemáticos, y se colocaron individualmente en frascos. Cada 21 días se realizó refrescamiento de medio de cultivo, se eliminó el tejido fenolizado y se separaron los brotes axilares formados

Incubación

En las fases de establecimiento y multiplicación los cultivos se colocaron en el cuarto de crecimiento a 25 °C, con una intensidad lumínica de 2000 Lux por lámparas fluorescentes, radiación fotosintéticamente activa de 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{segundo}$, foto periodo de 16 horas luz y una humedad relativa del 50%, los cuales fueron mantenidas en todo momento hasta finalizar el experimento.

Variable Evaluada

La variable evaluada en el experimento fue el número de brotes por meristemo.

Cuadro 3

Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) modificado para multiplicación in vitro de meristemas de plátano Musa × paradisiaca L. (var. curare enano)

Componentes	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1900
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170
Microelementos	H ₃ BO ₃	Ácido bórico	6.2
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.83
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.3
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	Molibdato de sodio bihidratado	0.25
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.6
	FeNa EDTA	Hierro Sodio Etilendiaminotetraacético	50
Vitaminas		Inositol	100
		Tiamina	0.5
		Piridoxina	0.5
		Ácido Nicotínico	0.5
Aminoácidos		Glicina	2
	Antioxidante	L-Cisteína	2
Reguladores	Citoquinina	Bencialminopurina	4
Carbohidratos		Sacarosa	30000

Nota. Tabla obtenida en (Hoyos et al. 2008)

Diseño Experimental

Se usó un diseño completamente al azar (DCA) los tratamientos evaluados fueron 12, seis dosis de BAP (0, 4, 5, 6, 7, 8 mg/L) combinadas con AIA 0.2 mg/L o sin AIA. Se evaluaron 12 tratamientos con 30 repeticiones por tratamiento, para un total de 360 unidades observacionales.

Análisis Estadístico

Se utilizó un análisis de varianza con separación de medias por el método Duncan, con una probabilidad ≤ 0.05 .

Resultados y Discusión

Establecimiento

A los 29 días de establecido el cultivo se observó el primer frasco contaminado, según Hernández y González (2010), la contaminación en los cultivos *in vitro* puede tener dos orígenes: microorganismos que colonizan la superficie o el interior del explante (endófitos) y, microorganismos introducidos durante la manipulación en el laboratorio. Al finalizar el experimento se tuvo una tasa de contaminación del 7.5% y, una tasa de mortalidad del 3.3%. La contaminación microbiana es uno de los problemas más graves en la micropropagación de especies vegetales a nivel mundial, produce cuantiosas pérdidas de material, tanto en los trabajos de investigación como en la micropropagación comercial. Existen varios factores involucrados en la contaminación del material, por lo que se debe obtener un material que no se encuentre expuesto a un ambiente totalmente vulnerable a enfermedades y contaminaciones o extraído de campo, siendo este un factor que compromete a la sanidad del cultivo al establecerlo en *in vitro*, ya que su trazabilidad va a repercutir en la sobrevivencia y tasa de contaminación, representando una pérdida de material en el proceso de la investigación.

En algunos casos el porcentaje de mortalidad está relacionado a errores que comete el operario, tales como, el mal seguimiento de los protocolos durante el establecimiento, refrescamiento y multiplicación. Los cortes realizados en los explantes provocan la liberación de compuestos fitotóxicos, oxidando el medio de cultivo en donde se desarrolla el tejido (Chavarría Castillo y López Montenegro 2010). Al momento de extraer los ápices como material vegetativo, existe un incremento en la liberación fenólica, según Chavarría Castillo y López Montenegro (2010) mencionan que los ápices provenientes de campo incrementan la producción de fenol en la fase de establecimiento. Como es el caso del plátano, los taninos y otros hidroxifenoles se encuentra naturalmente en esta planta, influyendo en la senescencia del este cultivo (Castro Sobalvarro y Maradiaga Sarantes 2015). Además, en los resultados de Caldera Caldera y López Ruiz (2002) , reflejaron que, en el medio de cultivo sin reguladores de crecimiento, los tejidos segregaron fenoles, pero no se difundieron en el

medio; mientras que a las variantes que contenían combinaciones de AIA y BAP, la producción de los ápices incrementó. Durante la fase de establecimiento no se observó formación de brotes axilares en ninguno de los tratamientos .

Fase De Multiplicación

Se observó formación de brotes en todos los tratamientos a los 63 días de haber iniciado la etapa de multiplicación, sin embargo, no hubo diferencia entre ellos, ya que hubo una similar emisión de brotes entre ellos, y una baja formación de brotes axilares debido a que recién estaban expresando la formación de brotes axilares con relación a las concentraciones de hormonas a las que fueron establecidas.

Después de 105 días del inicio de la fase de multiplicación, el tratamiento con 6 mg/L de BAP presentó el mayor número de brotes por explante. Además, la media de brotes en el tratamiento 5 mg/L de BAP disminuyó de 1.86 a 0.90 brotes por explante, esto se lo podemos atribuir a la contaminación del material y a la muerte de explantes por el mal seguimiento del protocolo al realizar un refrescamiento de medio, inclusive a consecuencia de la oxidación del cultivo.

Después de 126 días, el mayor número de brotes se obtuvo en el tratamiento 5mg/L BAP con 0.2mg/L AIA. Estudios realizados por Hoyos et al. (2008), indican que al establecer una dosis de 5 mg/L de BAP y 0.2 mg/L de AIA obtuvieron una media de brotes de 5.50, el cual se relaciona con la cantidad obtenida en el tratamiento de 5 mg/L de BAP + 0.2 mg/L de AIA con un resultado de 5.79, dando a justificar y superando la cantidad de brotes obtenida con relación al experimento antes mencionado.

Cuadro 4

Promedio de brotes por meristema de plátano establecido in vitro como respuesta a AIA y BAP

Tratamiento	Días en multiplicación			
	63	105	126	147
T	1.57 ^{n.s.}	1.00 ^d ‡	1.33 ^d	1.50 ^b
B4	1.80	1.29 ^{cd}	4.87 ^{abc}	8.07 ^a
B5	1.86	0.90 ^d	2.73 ^{abcd}	5.36 ^{ab}
B6	1.54	2.12 ^a	3.00 ^{abcd}	4.75 ^{ab}
B7	1.25	1.40 ^{bcd}	2.22 ^{bcd}	4.50 ^{ab}
B8	1.81	1.07 ^d	3.47 ^{abcd}	7.21 ^a
A	1.00	1.14 ^d	1.14 ^d	1.00 ^b
B4A	1.60	1.29 ^{cd}	5.25 ^{ab}	7.30 ^a
B5A	1.67	1.51 ^{bcd}	5.79 ^a	7.31 ^a
B6A	1.59	1.28 ^{cd}	2.13 ^{bcd}	5.00 ^{ab}
B7A	2.20	1.87 ^{abc}	3.10 ^{abcd}	7.60 ^a
B8A	1.50	1.89 ^{ab}	1.88 ^{cd}	4.75 ^{ab}
% CV	3.95	3.04	10.21	13.18
Probabilidad	0.5465	< 0.0001	0.0027	0.0169

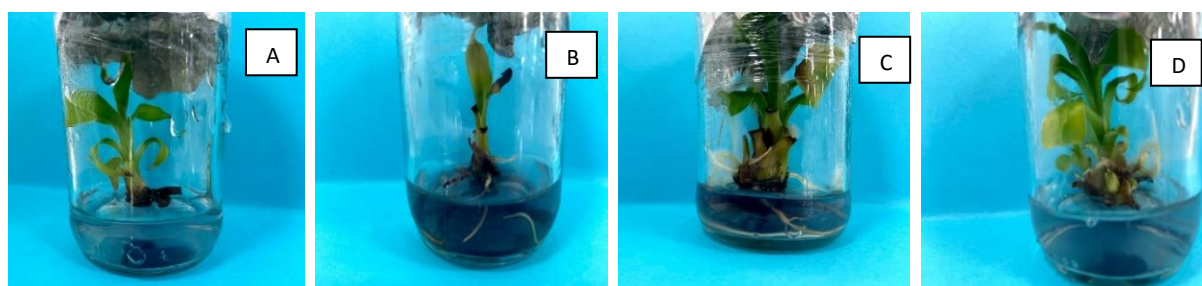
A los 147 días, el tratamiento con 4mg/L BAP presentó el mayor número de brotes (8.07 brotes por explante), además el tratamiento testigo presento una disminución en el número de brotes debido a la perdida por contaminación y muerte de material. El balance auxinas-citoquininas es determinante en el coeficiente de multiplicación, por lo que al lograr un balance adecuado es posible alcanzar elevadas tasas de proliferación aumentando la efectividad del método de micropropagación (Téllez et al. 2011), como es el caso del tratamiento de 7 mg/L de BAP con 0.2 mg/L de AIA, que tiene un promedio de 7.60 brotes por explante, siendo este un buen balance entre hormonas para lograr mejores resultados, a pesar de que no es el mejor tratamiento (Cuadro 4).

Los tratamientos testigo (sin fitohormonas) y 0.2 mg/L AIA presentaron el menor número de brotes entre todos los tratamientos, además, fue evidente que la emisión de brotes disminuyó en cada subcultivo en el medio de cultivo sin adición de AIA y BAP, debido a la ausencia, insuficiencia en la síntesis endógena de reguladores de crecimiento o, ineficiencia en el suministro de fitohormonas que promuevan el crecimiento, elongación y formación de brotes, siendo así, fundamental el

requerimiento de hormonas para la obtención de un alto coeficiente de multiplicación, un alto contenido de citoquininas puede generar un incremento en la formación de brotes y, acompañado con auxinas para un incremento y desarrollo de tejido vegetal, al suministrar una concentración ideal entre ambas hormonas en un medio de cultivo se podría acelerar y mejorar el crecimiento vegetal.

Figura 3

Desarrollo según dosis: A) Tratamiento B4, B) Tratamiento A, C) Tratamiento T, D) Tratamiento B7A



Conclusión

Se determinó que para obtener el mayor número de brotes por explante en la fase de multiplicación, se debe suplementar al medio de establecimiento con 4 mg/L de BAP, siendo esta una concentración que excluye el uso de otras hormonas y obteniendo el mayor número de brotes axilares, con relación a los tratamientos que presentaron resultados estadísticamente similares, pero haciendo uso de las AIA y BAP.

Recomendaciones

Se recomienda continuar con las fases de enraizamiento, aclimatación y llevar las plantas a campo. Así mismo, se recomienda tomar en consideración el origen del material vegetal, ya que, podría ser un factor que influye en la contaminación y pérdida de tejido durante el experimento. Además, se recomienda evaluar la disminución del uso de hormonas al suplementarlo en el medio de cultivo, con el fin de minimizar costos en la producción de plantas por medio de la propagación *in vitro* y obteniendo altas tasas de proliferación.

Referencias

- Alcantara Cortes JS, Acero Godoy J, Alcántara Cortés JD, Sánchez Mora RM. 2019. Principales reguladores hormoanles y sus interacciones en el crecimiento vegetal. NOVA; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 17(32):109–129. <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/1036/1425>.
- Caldera Caldera LA, López Ruiz JF. nov. 2002. Mejoramiento de la eficiencia de propagación *in vitro* de plátano (Musa AAB cv. Enano) [Tesis]. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía; [consultado el 2 de jun. de 2021]. <https://repositorio.una.edu.ni/1835/1/tnf30c146m.pdf>.
- Castro Sobalvarro SE, Maradiaga Sarantes EE. nov. 2015. Micropropagación tradicional y Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal del cultivar de plátano (Musa spp.) CEMSA 3/4 [Tesis]. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, Facultad de agronomía; [consultado el 18 de may. de 2021]. <https://repositorio.una.edu.ni/3282/1/tnf02c355.pdf>.
- Chavarría Castillo D, López Montenegro GJ. sep. 2010. Micropropagación de ápices caulinares en Plátano (Musa spp. AAB) cultivar Curare Gigante [Tesis]. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomia; [consultado el 11 de may. de 2021]. <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf02c512m.pdf>.
- Cronauer SS, Krikorian A. 1984. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 19(2):234–235. <https://www.musalit.org/seeMore.php?id=8702>.
- Galan V, Rangel A, Lopez J, Hernandez JBP, Sandoval J, Rocha HS. 2018. Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. Revista Brasileira de Fruticultura. 40(4):1–22. doi:10.1590/0100-29452018574.
- Garay-Arroyo A, La Paz Sánchez Md, García-Ponce B, Álvarez-Buylla E, Gutiérrez C. 2014. La homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de Arabidopsis thaliana. Revista de

- Educación Bioquímica; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 33(1):13–22. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952014000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Hernández Y, González MED. 2010. Efectos de la Contaminación Microbiana y Oxidación Fenólica en el Establecimiento in vitro de Frutales Perennes. Scielo; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 31(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400015&lng=es&tlng=es.
- Hoyos JL, Perea Roman C, Velasco R. 2008. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano dominico hartón (*Musa* AAB Simmonds). Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAADialnet; [consultado el 9 de jun. de 2021]. 6(2):99–104. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6118007>.
- Mejía Calderón G. 2018. Cultivo de Plátano (*Musa paradisiaca*). El Salvador: Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal Enrique Álvarez Córdova; [actualizado 23.03.19; consultado el 11 de feb. de 2021]. http://centa.gob.sv/docs/guias/frutales/Guia%20Centa_Platano%202019.pdf.
- Mok D, Mok M. 2001. Cytokinin metabolism and action. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 52:89–118. eng. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.89.
- Ormaza Rodríguez MM. jun. 2017. Influencia de Tres Niveles de Carmabida sobre la Inducción de Hijuelos de Plátano (*Musa* AAB Simmonds) en el Valle del Río Carrizal [Tesis]. Calceta, Ecuador: Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ingeniería Agrícola; [consultado el 11 de feb. de 2021]. <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/539/1/TA65.pdf>.
- Ortega N, Korneva S, Ruiz O, Santos E, Peralta E. 2010. Obtención de Multimeristemas y Callos de Diferentes Variedades de Banano y Plátano (*Musa* spp.) a partir de "Meristemas Apicales" y "Scaps". Revista Tecnológica ESPOL; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 23(1):99–104. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10971/1/>

Obtenci%C3%B3n%20de%20Multimeristemas%20y%20callos%20de%20diferentes%20variedades%20de%20banano.pdf.

Palencia G, Gómez R, Martín J. 2006. Manejo Sostenible del Cultivo del Plátano. Luz María Calles Hoyos. Bucaramanga, Colombia: Produmedios. 28 p. ISBN: 978-958-8311-18-0; [consultado el 13 de jun. de 2021]. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/12888/44209_56458.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Quintanilla Moreno KM. 2014. Micropropagación de Plátano enano (*Musa spp*) utilizando manos de flores masculinas inmaduras con diferentes concentraciones de desinfectantes y reguladores de crecimiento. Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible; [consultado el 11 de feb. de 2021]. 3:51–59. <https://doi.org/10.5377/payds.v3i0.3971>.

Robinson JC, Galán Saúco V. 2012. Plátanos y bananas. Madrid: Mundi-Prensa. ISBN: 9788484765424.

Roldán D, Salazar M, Tejada M, Peña Y. 2002. Caracterización de la Cadena de Plátano en Colombia. Bogotá, Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural; [actualizado 04.2004; consultado el 11 de feb. de 2021]. <http://repiica.iica.int/docs/b0040e/b0040e.pdf>.

Sandoval J, Bernes G, Pérez L. 1991. Micropropagación de Plátano y Banano (*Musa* AAB, AAA) en el CATIE. Costa Rica: Centro Agrónomo Tropical de Investigación y Enseñanza. Informe técnico Informe no. 186; [consultado el 11 de feb. de 2021]. http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/3124/Micropropagacion_de_platano_y_banano.pdf?sequence=1.

[SIPSA] Sistema de Información de Precios y Abastecimiento del Sector Agropecuario. 2014. El cultivo del plátano (*Musa paradisiaca*), un importante alimento para el mundo. Colombia: SIPSA. Insumo y Factores Asociados a la Producción Agropecuaria Informe no. 22; [consultado el 11 de feb. de 2021]. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_abr_2014.pdf.

Téllez E, Rodríguez L, Alvarado K. 2011. Evaluación de la metodología para la multiplicación *in vitro* de plátano *Musa* sp. Hombre Ciencia y Tecnología; [consultado el 23 de abr. de 2021]. (58):1–8. <http://www.ciencia.gtmo.inf.cu/index.php/http/article/download/204/193>.