

Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata* cv. “Gran enano”) en diferentes condiciones de incubación

Israel Patricio Vintimilla Ulloa

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata* cv. "Gran enano") en diferentes condiciones de incubación

Proyecto especial de graduación presentado como requisito para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Israel Patricio Vintimilla Ulloa

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2018

Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata* cv. “Gran enano”) en diferentes condiciones de incubación

Israel Patricio Vintimilla Ulloa

Resumen. Uno de los principales problemas en la propagación de banano es la propagación convencional ya que presenta una baja tasa de multiplicación, por lo que la micropropagación es una opción viable debido a su producción masiva de plantas, sin embargo, una limitante para los productores son los altos costos de estas plantas. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de tres condiciones de incubación en el establecimiento y multiplicación *in vitro* de meristemos de banano. Se evaluaron condiciones de incubación, cuarto de condiciones no controladas (CCNC) y casa malla. En todas las áreas se monitoreó: temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa. El diseño experimental fue un diseño completamente al azar y se utilizaron 70 repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron: número de explantes asépticos al día 21 y 70 y número de brotes por explante al día 42 y 70. A los días 21 y 70 no hubo diferencias entre el cuarto de incubación y el cuarto de condiciones no controladas, sin embargo, la casa malla presentó el menor porcentaje de cultivos asépticos. No se encontraron diferencias entre el cuarto de incubación y el de condiciones no controladas para el número de brotes por meristemo al día 70, por lo que se podría utilizar cualquiera de los dos cuartos para obtener resultados similares. Para el establecimiento *in vitro* en la casa malla se recomienda aislar los contenedores de las plantas que se mantienen en esta área para incrementar el número de cultivos establecidos.

Palabras clave: Casa malla, condiciones no controladas, micropropagación.

Abstract. One of the main problems in the propagation of banana is the conventional propagation since it has a low rate of multiplication, that's why micropropagation is a viable option. Due to the massive production of plants, however, a constraint for the producers are the high costs of these plants. The objective of the study was to evaluate the effect of three conditions of incubation in the establishment and *in vitro* multiplication of banana meristems. Conditions of incubation were evaluated in: incubation room a non-controlled conditions room and in a mesh house. In all areas, temperature, relative humidity, and photosynthetically active radiation were monitored. The experimental design was a completely random design and 70 repetitions per treatment were used. The variables evaluated were: the number of aseptic explants to day 21 and 70, and also the number of shoots per explant to day 42 and 70. For days 21 and 70, there were no differences between the incubation and the non-controlled conditions room, however, the mesh house presented the lowest percentage of aseptic crops. No differences were found among the incubation and the non-controlled conditions room for the number of outbreaks by meristem to day 70, so either room can be used to obtain similar results. For the *in vitro* establishment in the mesh house it is recommended to isolate containers of plants that remain in this area to increase the number of established crops.

Key words: Green house, uncontrolled conditions, micropropagation.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIÓN.....	12
5. RECOMENDACIÓN.....	13
6. LITERATURA.....	14
7. ANEXOS.....	17

INDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Medio de establecimiento y multiplicación de los meristemos de <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano".....	5
2. Promedio de temperatura (°C) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	7
3. Promedio de humedad relativa (%) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	7
4. Promedio de radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	7
5. Porcentaje de cultivos asépticos de <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano" en las áreas de incubación al día 21 y 70 de establecido <i>in vitro</i>	8
6. Promedio de brotes por meristemo de <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano" en las áreas de incubación al día 42 y 70 de establecido <i>in vitro</i>	10

Figuras	Página
1. Reducción del explante <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano" previo al establecimiento <i>in vitro</i> . (A) Explante rodeado de hojas, (B) Explante tras la primera reducción de hojas, (C) Explante reducido previo a siembra, (D) Explante establecido.....	4
2. Áreas de incubación para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano". (A) cuarto de incubación con condiciones controladas, (B) cuarto de incubación con condiciones no controladas y (C) casa malla.....	4
3. Meristemos de <i>Musa acuminata</i> cv. "Gran enano" 28 días después del establecimiento <i>in vitro</i> . (A) meristemos establecidos en cuarto de incubación, (B) meristemo establecido en cuarto de condiciones no controladas, (C) meristemo establecido en casa malla.....	9

1. Promedio de temperatura en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	16
2. Promedio de humedad Relativa (HR) en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	16
3. Promedio de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.....	17

1. INTRODUCCIÓN

El banano pertenece a la familia de las Musáceas, su origen es muy complejo y está distribuido en gran parte del continente asiático, encontrándose de manera silvestre en el sur de China, Indonesia, Nueva Guinea, India y Melanesia, mientras que en África y América no se ha registrado ninguna especie silvestre de Musa (De Langhe *et al.* 2009).

Hay evidencia de que las primeras variedades comestibles surgieron en la península Malaya, la llegada del banano al continente americano fue por los españoles quienes llevaron la primera planta a isla Española y posteriormente a México y Costa Rica, siendo las variedades Gros Michel y Cavendish las mayormente distribuidas por América latina y el Caribe (Marin *et al.* 1998).

La actividad bananera puede ser vista como un contribuyente social debido a la creación de empleos en zonas rurales, desarrollo de infraestructuras como carreteras, tratamiento de aguas, además beneficia a la seguridad alimentaria para las poblaciones en donde el banano es parte de su alimentación diaria (Dawson 2016).

Los principales productores de banano están encabezados por India y China, no obstante, la mayor parte de su producción es destinada para el consumo interno. En los resultados preliminares obtenidos del banano mundial muestran a América Latina y el Caribe como los mayores exportadores con un total de 15.40 millones de toneladas, representando un 85.55% del total, seguido por Asia con 1.90 millones de toneladas y finalmente África con 0.70 millones de toneladas (Dawson 2016; FAOSTAT 2018).

El cultivo del banano se da principalmente en el trópico y subtrópico, se puede desarrollar bien con temperaturas alrededor de 27 °C, necesita suelos profundos con preferencia franca, con un buen drenaje, así mismo, la demanda de nutrientes que tiene es alta, principalmente los requerimientos de nitrógeno y sobre todo potasio (Fernández 2006).

El banano es muy susceptible a plagas y enfermedades, entre las que más afectan a la producción es la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) que puede representar hasta un 30% de los costos de producción, nematodos principalmente (*Radopholus similis*), picudo del banano (*Cosmopolites sordidus*) y recientemente *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* raza tropical 4, esta enfermedad también es conocida como mal de Panamá, ataca principalmente a variedades de Cavendish, actualmente no presente en América (Pérez 2009; Martínez *et al.* 2011).

Para la reproducción de banano, se ha utilizado comúnmente cormos o semillas provenientes plantas élite, no obstante, este es una limitante debido a la disponibilidad de los mismos en las producciones comerciales, la tasa de multiplicación es muy baja, extrayendo un “hijuelo” por cormo (Coto 2009).

Una alternativa a la propagación convencional de banano es la micropropagación, que se refiere a la propagación de plantas en ambientes controlados, con un medio adecuado y tiene la capacidad de multiplicar material selecto a escalas comerciales (Hirosawa 1992; Olmos *et al.* 2010).

La base del cultivo de tejidos es la característica de totipotencia de las células vegetales. Para realizar cultivo de tejidos, se hace la selección de los cormos de plantas élites, se extrae el meristemo en un cuarto aséptico, se coloca en un medio aséptico y de composición química definida y a partir de este se puede inducir la formación de plantas (Cruz 2012; Munir *et al.* 2013).

Las condiciones ambientales dentro de los cuartos de incubación pueden variar de cultivo a cultivo, estas deben parecerse lo más posible a las condiciones naturales del cultivo, la temperatura del cuarto puede oscilar entre 22 y 28 °C, de manera que tanto las especies tropicales como de climas templados se puedan desarrollar adecuadamente. Las condiciones de humedad relativa deberían estar en alrededor del 70% (Marín 1997).

Por último, las condiciones de luz son importantes ya que de la calidad, intensidad y fotoperiodo se pueden dar diferentes respuestas de los explantes, ya que estas condiciones inducen diferentes reacciones enzimáticas involucradas en el desarrollo y metabolismo de la planta, generalmente se tiene una intensidad de entre 38 a 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con fotoperiodos de 16 horas luz. En el caso de la micropropagación de banano las condiciones recomendadas para el desarrollo óptimo e inducción de brotes de las yemas apicales son de temperaturas de alrededor de 25 °C con una intensidad lumínica de 38 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Gutiérrez 1996; Marín 1997).

Una de las alternativas en la micropropagación es el uso de luz natural en los cuartos de establecimiento, disminuyendo así los costos de producción. En Cuba se realizaron los primeros experimentos, en donde, además indican que las plantas sufren un menor estrés al pasar a la etapa de aclimatación (Kodym y Zapata 2001).

El objetivo de este estudio fue:

- Evaluar el efecto de tres condiciones de incubación en el establecimiento y multiplicación *in vitro* de meristemos de banano (*Musa acuminata* cv. “Gran enano”).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación.

El estudio fue realizado entre mayo y agosto de 2018, en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Establecimiento *in vitro* de meristemos apicales.

Para el material vegetal se usaron cormos de hijuelos de banano de la variedad Gran enano, obtenidos del municipio de San Manuel, Cortés, Honduras. Se seleccionaron cormos con pesos de entre 600 a 900 gr.

Previo al ingreso del material vegetal al laboratorio se realizaron cortes longitudinales y transversales en el cormo, eliminando las hojas superficiales y raíces, hasta obtener tejido blanco y sano, el tamaño de los explantes se redujo a 8 cm de altura por 4 cm de diámetro. Posteriormente en el laboratorio se volvió hacer otra reducción del material hasta finalmente dejar los explantes de forma cilíndrica con base cuadrada con 5 cm de longitud y 2 cm de diámetro.

Desinfección del material vegetal.

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/100 mL del surfactante Tween 80, durante 15 minutos (Ubilla Navarro 2016).

Preparación, siembra y manejo del material vegetal.

Posterior a la desinfección todo el material vegetal fue manipulado dentro de la cámara de flujo laminar, la misma que fue encendida con 15 minutos de anticipación, al igual que el esterilizador de calor seco. Se utilizó etanol al 70% para desinfectar la cámara de flujo laminar, los bisturí y pinzas; antes de cada corte realizado en el tejido vegetal las herramientas se esterilizaban a una temperatura de 250 °C con el esterilizador.

El material vegetal fue trasladado a las cámaras de flujo laminar, donde se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril para remover todo el excedente de la solución desinfectante, los cormos fueron reducidos en tamaño, eliminando los primordios foliares, tratando de dejar lo más expuesto el meristemo, obteniendo un tamaño de alrededor 1 cm de diámetro y 3 cm de longitud, siempre manteniendo la base del explante. Se colocó un meristemo por frasco de 100 mL el cual contenía 20 mL de medio MS.

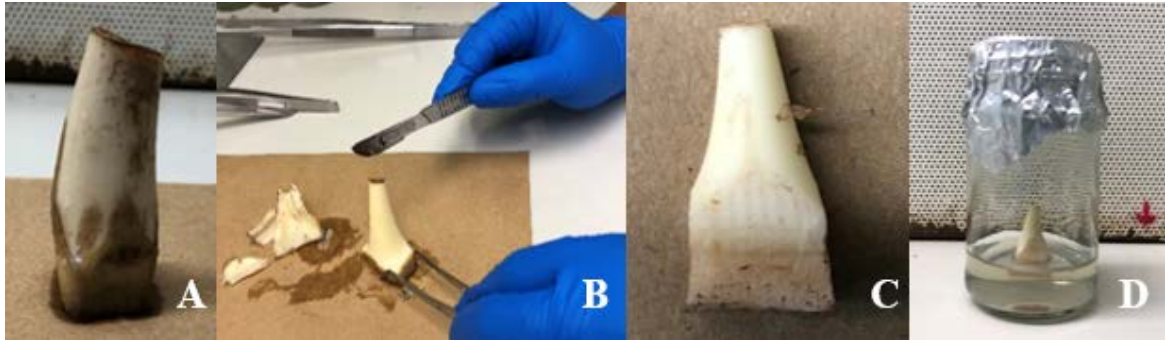


Figura 1. Reducción del explante *Musa acuminata* cv. "Gran enano" previo al establecimiento *in vitro*. (A) Explante rodeado de hojas, (B) Explante tras la primera reducción de hojas, (C) Explante reducido previo a siembra, (D) Explante establecido.

Medio de cultivo.

Se utilizó las sales minerales de Murashigue y Skoog (MS) y los suplementos de Van Duren *et al.* (1996) (Cuadro 1). Para la solidificación de los medios se utilizó Phytigel® a 1.80 g L⁻¹, el pH fue ajustado a 5.80 con 1 M de hidróxido de potasio (KOH), el medio se esterilizó a 121 °C, 15 PSI de presión por un periodo de 20 minutos.

Incubación.

Los explantes fueron incubados en los siguientes establecimientos (Figura 2):

1. Cuarto de incubación: se ubica dentro del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, este cuenta con aire acondicionado, un extractor de humedad e iluminación y no posee ninguna entrada de luz natural.
2. Cuarto de condiciones no controladas: se ubica dentro del Laboratorio de Cultivo de Tejidos, este no posee aire acondicionado ni extractor de humedad y tres entradas de luz natural.
3. Casa malla: se encuentra en el área de invernaderos de los proyectos de investigación de frijol (PIF), es una estructura metálica, con paredes y techo de malla (70% de sombra), además tiene el techo cubierto de plástico.

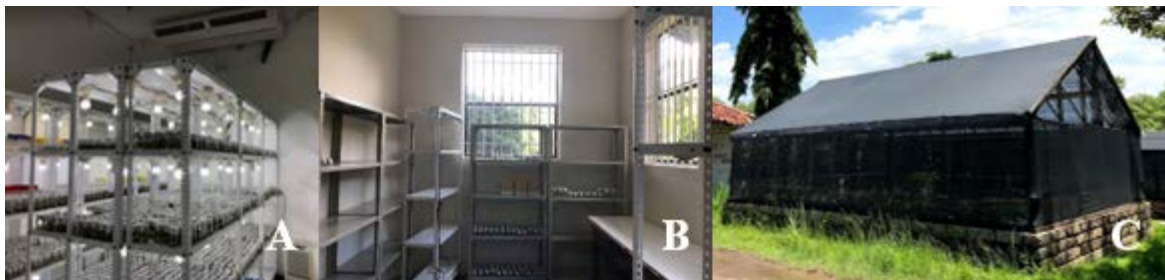


Figura 2. Áreas de incubación para el establecimiento *in vitro* de *Musa acuminata* cv. "Gran enano". (A) cuarto de incubación con condiciones controladas, (B) cuarto de incubación con condiciones no controladas y (C) casa malla.

Las condiciones ambientales monitoreadas fueron: temperatura, humedad relativa (HR) y radiación fotosintéticamente activa (PAR), para la toma de datos se utilizó un higrómetro, un termómetro y un equipo “quantum PAR meter” de Active eye® respectivamente para cada variable climática. El monitoreo se realizó a las 6:50 am, 9:50 am, 12:50 pm y 3:50 pm.

Cuadro 1. Medio de establecimiento y multiplicación de los meristemos de *Musa acuminata* cv. "Gran enano".

Componentes	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
Microelementos	H ₃ BO ₃	Ácido bórico	6.200
	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	0.830
	MnSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
	FeNa EDTA	Etilendiaminotetraacético	50.000
Vitaminas		Inositol	100.000
		Tiamina	1.000
		Ácido Nicotínico	0.500
		Piridoxina	0.500
		Cisteína	40.000
Fitohormona		BAP	4.500
Carbohidratos		Sacarosa	40000.000

Fuente: Van Duren *et al.* (1996)

Multiplicación.

De cada uno de los explantes se separaron los brotes formados al día 42 del establecimiento, además se realizó una limpieza del tejido necrótico de los brotes nuevos y del explante principal, los brotes fueron colocados en frascos de 200 ml con 30 ml de medio, con la formulación descrita en el (Cuadro1); así mismo, los brotes se colocaron en las condiciones de incubación fueron las descritas anteriormente.

Variables medidas.

Se evaluó el número de explantes asépticos al día 21 y al día 70 y número de brotes formados por explante establecido al día 42 y al día 70.

Diseño experimental.

Se realizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (tres condiciones de incubación) y 70 repeticiones por tratamiento.

Análisis estadístico.

Se realizó análisis de varianza y separación de medias mediante la prueba Duncan ($P \leq 0.05$), los datos fueron analizados por el programa estadístico "Statistical Analysis System" (SAS) versión 9.4.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Áreas de incubación.

En la casa malla se registraron las mayores temperaturas las mismas que fueron entre 9:50 a.m. y 12:50 p.m. registrando datos mayores a los 30 °C, mientras que a las 6:50 a.m. se registraron las más bajas. En el cuarto de incubación y cuarto de condiciones no controladas se encontraron temperaturas más constantes a lo largo del día, siendo 23 y 26 °C respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedio de temperatura (°C) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.

Hora	Áreas de incubación		
	Cuarto Incubación	Cuarto de condiciones no controladas	Casa malla
6:50 a.m.	23.70	25.34	25.29
9:50 a.m.	23.57	26.50	32.08
12:50 p.m.	23.60	26.10	31.51
3:50 p.m.	23.67	26.00	28.94

La humedad relativa encontrada en el cuarto de incubación fue la más constante, sin presentar mayores cambios a lo largo del día, para el cuarto de condiciones no controladas de igual manera no hubo mayor variación de la humedad relativa. La casa malla fue la que presentó la mayor variabilidad, en donde, a las 6:50 a.m. mostró la humedad relativa más alta, lo que está relacionado con las bajas temperaturas presentadas a esas horas, ya que el punto de saturación del ambiente es menor a bajas temperaturas, por lo que el ambiente con menor vapor de agua se satura más rápido, mientras que a mayores temperaturas el punto de saturación aumenta lo por lo que para llegar a su saturación requerirá de una mayor cantidad de vapor de agua, tal como se puede observar a las 9:50 y 12:50 en donde la humedad relativa es la más baja (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de humedad relativa (%) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.

Hora	Áreas de incubación		
	Cuarto Incubación	Cuarto de condiciones no controladas	Casa malla
6:50 am	61.46	71.61	79.60
9:50 am	60.86	67.57	55.44
12:50 pm	61.02	68.53	55.33
3:50 pm	60.98	68.49	62.51

La intensidad lumínica más alta se registró a las 9:50, superando más de dos veces lo sugerido por Munir *et al.* (2013) y más de cinco veces lo establecido por Kaçar *et al.* (2010), mientras que el pico más bajo se presentó a las 3:50 pm. El cuarto de incubación está dentro de lo sugerido por Munir *et al.* (2013), mientras que el cuarto de condiciones no controladas con Kaçar *et al.* (2010) (Cuadro 4.)

Cuadro 4. Promedio de radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en áreas de incubación mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.

Hora	Áreas de incubación		
	Cuarto Incubación	Cuarto de condiciones no controladas	Casa malla
6:50 am	32	48	65
9:50 am	32	47	171
12:50 pm	32	47	107
3:50 pm	34	47	49

Cultivos asépticos.

A los días 21 y 70 después del establecimiento no hubo diferencias para el porcentaje de cultivos asépticos entre el cuarto de incubación y el cuarto de condiciones no controladas, sin embargo, la casa malla presentó el menor porcentaje. Esto se debe a las condiciones de la casa malla la cual tenía temperaturas de hasta 42.6 °C y una humedad relativa de hasta 99%, lo que favoreció al desarrollo de microorganismos en los cultivos.

Cuadro 5. Porcentaje de cultivos asépticos de *Musa acuminata* cv. "Gran enano" en las áreas de incubación al día 21 y 70 de establecido *in vitro*.

Áreas de incubación	Día 21	Día 70
Cuarto de incubación	62a	40a
Cuarto de condiciones no controladas	58a	52a
Casa malla	27b	10b

Los tratamientos con letras distintas son significativamente diferentes, según la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Establecimiento *in vitro* de meristemos apicales.

Los meristemos presentaron un cambio de coloración, obteniendo colores más claros en los cuartos de crecimiento no controlado y casa malla (Figura 3), en donde no fueron controladas las condiciones ambientales, así mismo, también se encontraron explantes con una coloración café o pardeamiento en las hojas. Por último, en los frascos se pudo notar gran condensación, todo lo detallado anteriormente coincide por lo descrito por Kodym y Zapata (1998), Kodym *et al.* (2000) y por Kodym y Zapata (2001), en donde describen haber encontrado las mismas características mencionadas.

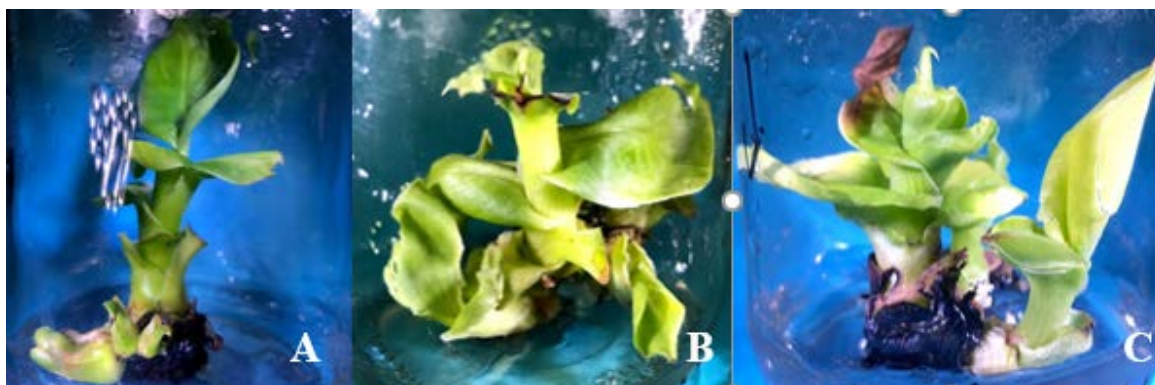


Figura 3. Meristemos de *Musa acuminata* cv. "Gran enano" 28 días después del establecimiento *in vitro*. (A) meristemos establecidos en cuarto de incubación, (B) meristemo establecido en cuarto de condiciones no controladas, (C) meristemo establecido en casa malla.

Las condiciones normales de PAR en los cuartos de incubación para banano son de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ según lo descrito por Kaçar *et al.* (2010), así mismo Munir *et al.* (2013) expresa que para especies frutales lo recomendado es de $38 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En el cuarto de incubación (Cuadro 2) y cuarto de condiciones no controladas (Cuadro 3), se obtuvieron niveles menores a lo sugerido por Kaçar *et al.* (2009), sin embargo, el cuarto de condiciones no controladas supera lo establecido por Munir *et al.* (2013). La casa malla presentó niveles

muy superiores a lo establecido por Munir *et al.* (2013) y Kaçar *et al.* (2009), tal como se observa en el Cuadro 4.

El pardeamiento de las hojas, se debe a la intensidad lumínica que los meristemos recibieron teniendo un PAR de hasta $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la casa malla y de $52 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en el cuarto de condiciones no controladas, lo que creo la quema del tejido vegetativo, lo que es un daño en sistema fotosintético de la planta, este efecto pudo haber sido intensificado por la condensación alrededor del frasco creando un efecto lupa (Kodym y Zapata (1998); Kodym y Zapata (2001)).

La coloración más clara en los explantes establecidos en el cuarto de condiciones no controladas y la casa malla, está relacionado la absorción de hierro, ya que el FeNaEDTA es foto sensible por lo que el hierro proporcionado no llega en su totalidad a la planta. El quelato absorbe los rayos UV y el agente quelatante se fotodegrada formando ácido glicoxílico, CO_2 , formaldehído y residuos aminos, así mismo, el hierro (Fe) se vuelve insoluble (Albano y Miller (2001); Kodym y Zapata (2001)).

Para la variable de brotes por meristemos establecido no se encontró diferencia estadística al día 42 entre las áreas de incubación, según Kodym y Zapata (2001) obtuvieron una media de 2.70 brotes/meristemo en el cuarto de incubación, en el cuarto de condiciones no controladas obtuvieron una media de 3.50 brotes/meristemo, los datos fueron tomados a los 21 días de refrescado el medio. Así mismo, Kodym *et al.* (2000) obtuvo promedios 2.60 brotes/meristemo en el cuarto de incubación y de 2.90 brotes/meristemos en el cuarto de condiciones no controladas, ambos autores afirman no haber tenido diferencias significativas entre los cuartos, lo que coincide con lo obtenido en el presente estudio, Para el día 70 no se incluyó la casa malla debido a la baja supervivencia que se obtuvo, por lo que el análisis no pudo ser realizado (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedio de brotes por meristemo de *Musa acuminata* cv. "Gran enano" en las áreas de incubación al día 42 y 70 de establecido *in vitro*.

Área de incubación	Brotes (día 42) ^{ns}	Brotes (día 70) ^{ns}
Cuarto de incubación	1.69	5.44
Cuarto de condiciones no controladas	1.38	4.33
Casa malla	1.44	—

^{ns}: Diferencia no significativa entre tratamientos.

En micropropagación convencional Alvard *et al.* (1993) obtuvieron un promedio de entre 2.2 y 3.1 brotes/meristemos realizando el conteo a los 20 días desde la primera multiplicación, Kaçar *et al.* (2010) en su investigación obtuvo un promedio de entre 2.9 y 3.1 brotes/meristemos, utilizando 2 mg L^{-1} de BA, Al-Amin *et al.* (2009) aseguran haber obtenido 0.75 brotes/meristemos, 2.75 brotes/meristemos y 6.25 brotes/meristemo por

explante con dosis de 7.5 mg/l BAP, realizando los conteos a los a 10, 20 y 30 días de establecido el explante. La diferencia en el número de brotes se debió a los días en los que se realizó las multiplicaciones y las dosis de BA utilizadas, ya que se realizó a los 21 días de refrescado el medio y 30 días después de la última multiplicación y al mantenerse mayor tiempo en el medio de cultivo ayudó a formar una mayor cantidad de brotes, además la dosis de BAP utilizada para este experimento fue de 4.5 mg L⁻¹ lo que difiere de los demás experimentos.

4. CONCLUSIÓN

- La tasa de multiplicación fue la misma para el cuarto de incubación y el cuarto de condiciones no controladas. La casa malla presentó el menor número de cultivos asépticos.

5. RECOMENDACIÓN

- Continuar con las siguientes etapas del cultivo, subcultivo tres, subcultivo cuatro, enraizamiento y aclimatación y evaluar el desempeño de las plantas en campo.

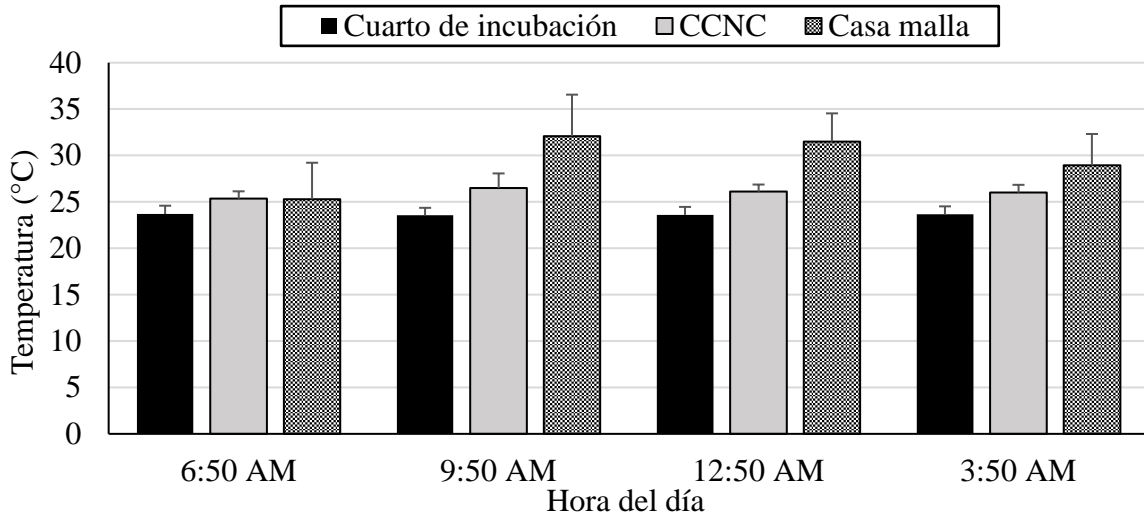
6. LITERATURA CITADA

- Al-Amin MD, Karim MR, Amin MR, Rahman S, Mamun AN. 2009. *In vitro* micropropagation of banana (*Musa spp.*). BJAR. Vol. 34 (4): 645-659.
- Albano J, Miller W. 2001. Ferric Ethylenediaminetetraacetic Acid (FeEDTA) photodegradation in commercially produced soluble fertilizers. HortScience. 1(1): 1-3.
- Alvard D, Cote F, Teisson C. 1993. Comparison of methods of liquid médium culture of banana micropropagation. PCTOC. Vol. 32: 55-60.
- Arias P, Dankers C, Liu P, Pilkauskas P. 2004. La economía mundial del banano, 1st ed. Roma (Italia): FAO; [Consultado 2018 mayo 07] ISBN 92-5-305057-8.
- Coto J. 2009. Guía para la multiplicación rápida de cormos de plátano y banano [internet], La Lima (Honduras): FHIA [Consultado 2018 may 07], 634.778—dc 20, www.fhia.org/hn/.../multiplicacion_rapida_de_cormos_de_platano_y_banano.pdf.
- Cruz F. 2012. Cultivo de tejidos vegetales (manual de prácticas). UNAM (Universidad Autónoma de México). Vol. 1: 1-39p.
- Dawson C. 2016. Banano. CNUCED (Conferencia de las Naciones Unidas sobre Comercio y Desarrollo. Roma (Italia). Vol. (1): 5-23.
- De Langhe E, Vrydaghs L, Maret P, Pierrier X, Denham T. 2009. Why bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. Ethnobotany Research and Applications. (7): 165-170.
- FAOSTAT (The Statistics Division of Food and Agriculture Organization). 2018. Situación del mercado del banano. Dirección de estadística [internet]. [Consultado 2018 may 07]. www.fao.org/fileadmin/templates/.../Bananas/.../Spanish_December_2017_update.pdf.
- Fernández A. 2006. El cultivo del banano en el Ecuador. 2da. ed. Machala (Ecuador): Editora CCC educando. 291 p.

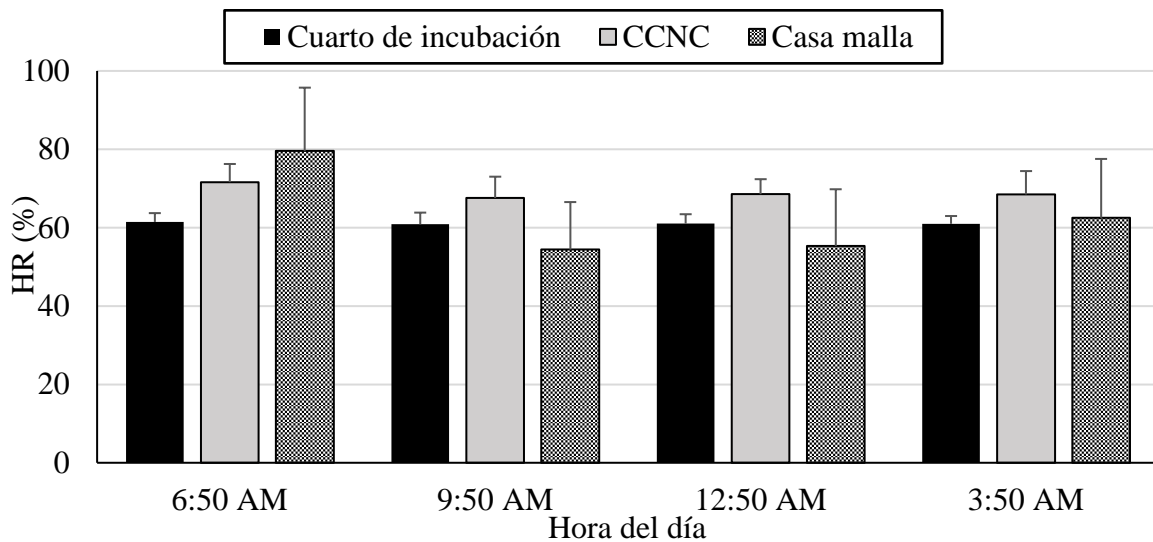
- Gutierrez J. 1996. Micropropagación *in vitro* del clon de banano (*Musa* sp.) Enano ecuatoriano (AAA) [internet]. Universidad Nacional Agraria. Managua-Nicaragua. 78p.
- Hirosawa T. 1992. *In vitro* mass propagation of rice In Kurata K y Kozai T. Transplant production systems. Yokohama. Kluwer academic publishers. p. 195-213.
- Kaçar YA, Biçen B, Varol İ, Mendi YY, Serçe S, Çetiner S. 2010. Gelling agents and culture vessels affect *in vitro* multiplication of banana plantlets. GMR. Vol. 9 (1):416-424.
- Kodym A, Hollenthoner S, Zapata J. 2000. Cost reduction in the micropropagation of banana by using tubular skylights as source for natural lighting. SIVB. Vol. 35: 237-242.
- Kodym A, Zapata J. 1998. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of Banana (*Musa acuminata* cv. "Grande naine"). PCTOC. Vol. 55: 141-145.
- Kodym A, Zapata J. 2001. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. PCTOC. Vol. 66: 67-71.
- Marín J. 1997. La Micropropagación y la mejora de especies frutales. 1era ed. Zaragoza (España): Academia de ciencias exactas, físicas, químicas y naturales, 39p.
- Marin D, Sutton T, Barker K. 1998. Dissemination of Bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. APS. Vol 82. No. 9: 964-971.
- Martinez I, Villalta R, Soto E, Murillo G, Guzmán M. 2011. Manejo de la sigatoka negra en el cultivo del banano. Corbana. 2:1-2.
- Munir MI, Muhammad A, Hussain I, Bilal H. 2013. Optimization of In Vitro micropropagation protocol for banana (*Musa sapientum* l.) under different hormonal concentrations and growth media. IJAIR. vol.2:23-24.
- Olmos SE, Luciani G, Galdeano E. 2010. Capítulo 1 Micropropagación. In: Levitus G, Echenique V, Hopp E y Mroginski L. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Buenos Aires (Argentina): INTA. p.353.
- Pérez LV. 2009. Enfermedades de banano y plátano: Análisis retrospectivo y perspectivas. Producción agropecuaria. Vol. 2 (1): 11-18.

- Ubilla Navarro EL. 2016. Propagación *in vitro* de banano (*Musa acuminata*) – variedades Gros Michel y Williams – a partir de meristema. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 23 p.
- Van Duren M, Morpurgo R, Dolezel J, Afza R. 1996. Induction and verification of autotetraploids in diploid banana (*Musa acuminata*) by *in vitro* techniques. Euphytica. Vol. (88): 25-34.

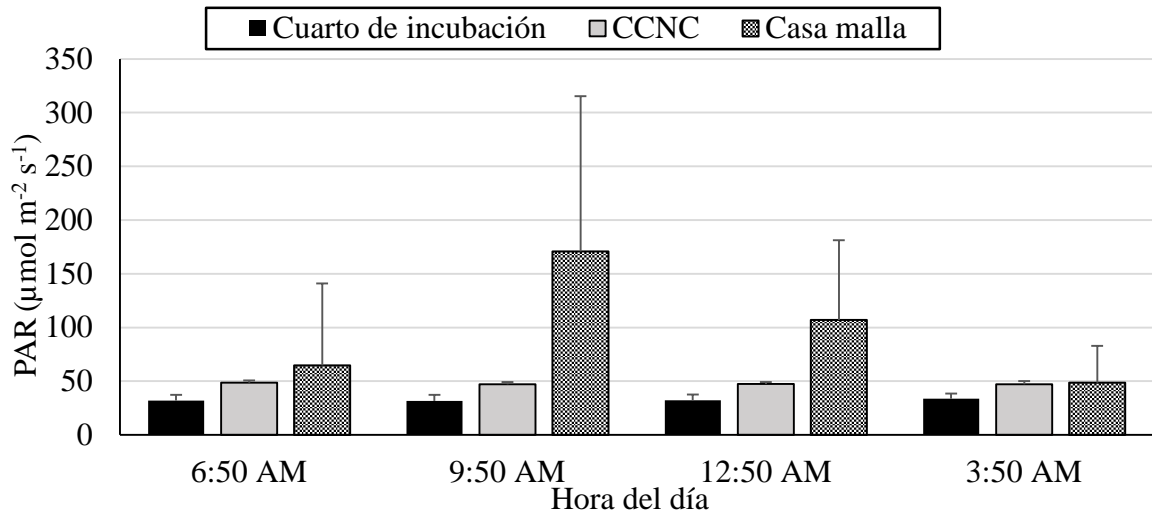
7. ANEXOS



Anexo 1. Promedio de temperatura en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.



Anexo 2. Promedio de humedad Relativa (HR) en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.



Anexo 3. Promedio de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en áreas de incubación entre mayo - agosto 2018, Zamorano, Honduras.