

**Propagación *in vitro* de Banano
(*Musa acuminata*) -variedades Gros Michel y
Williams- a partir de meristema**

Erick Limbert Ubilla Navarro

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Propagación *in vitro* de Banano
(*Musa acuminata*)-variedades Gros Michel y
Williams- a partir de meristema**

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

Presentado por

Erick Limbert Ubilla Navarro

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2016

Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata*) -variedades Gros Michel y Williams- a partir de meristema

Erick Limbert Ubilla Navarro

Resumen. El banano es un cultivo de importancia alimenticia debido a su gran contenido de vitaminas y minerales. La *Musa acuminata* tradicionalmente se propaga en forma vegetativa por cormos. Uno de los principales problemas que presenta propagarlo convencionalmente es que la tasa de multiplicación es baja. Los objetivos de este estudio fueron, evaluar el medio más favorable para el establecimiento *in vitro* en dos variedades de banano Gros Michel y Williams, y determinar el medio más favorable para la multiplicación en la fase de subcultivos I y II en dos variedades de banano Gros Michel y Williams. Los medios evaluados fueron los de Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001). Se usó un DCA, con dos tratamientos y dos repeticiones y 25 unidades experimentales por repetición. Se realizó una prueba *t* para determinar si las diferencias son significativas. Se observó el porcentaje más alto de meristemas establecidos en el medio de Colmenares y Giménez (2001) en la variedad Williams. En la variedad Gros Michel no se observó diferencia significativa en el porcentaje de meristemas establecidos en los dos medios. En la multiplicación los mejores resultados se obtuvieron en el medio de Krikorian y Cronauer (1983) en las dos variedades, alcanzando 2.97 y 3.11 brotes por explante en el subcultivo I y II respectivamente en Gros Michel y 3.34 y 2.93 brotes por explante en el subcultivo I y II en Williams.

Palabras clave: Agua de coco, BAP, explantes, micropropagación.

Abstract. Banana is an important food crop due to its high content of vitamins and minerals. The *Musa acuminata* traditionally propagated vegetatively in corms. One of the main problems is that conventionally propagate multiplication rate is low. The objectives of this study were to evaluate the most favorable media culture for the establishment *in vitro* in two varieties of banana Gros Michel and Williams, and determine the most favorable media culture for multiplication of subcultures in phase I and II in two varieties of banana Gros Michel and Williams. The media culture evaluated were Krikorian and Cronauer (1983) and Colmenares and Giménez (2001). A DCA, with two treatments with two replications was used and 25 experimental units per replication. A *t* test was performed to determine whether the differences are significant. The highest percentage of meristems established in the middle Colmenares and Giménez (2001) observed the variety Williams. In the variety Gros Michel no significant difference in the percentage of meristems established in the two media was found. In the multiplication stage the best results were obtained in the media of Krikorian and Cronauer (1983) in both varieties, reaching 2.97 and 3.11 shoots per explant in subculturing I and II respectively in Gros Michel, 3.34 and 2.93 shoots per explant in subculturing I and II in Williams.

Keywords: BAP, Coconut water, explants, micropropagation.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros y figuras.....	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
4 CONCLUSIONES	13
5 RECOMENDACIONES.....	14
6 LITERATURA CITADA.....	15

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Krikorian y Cronauer para el establecimiento <i>in vitro</i> de meristemos de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams.	5
2. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Colmenares y Giménez para el establecimiento <i>in vitro</i> de meristemos de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams.	6
3. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Colmenares y Giménez para multiplicación de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams.	8
4. Meristemos establecidos <i>in vitro</i> de los explantes de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de establecimiento.	10
5. Brotes por explante de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de multiplicación subcultivo I.	11
6. Brotes por explante de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de multiplicación Subcultivo II.	12

1. Cortes y eliminación del seudotallo de <i>Musa acuminata</i> antes del establecimiento <i>in vitro</i>	4
2. Siembra del meristemo apical de <i>Musa acuminata</i> en el medio de establecimiento .	4
3. Meristemos de <i>Musa acuminata</i> , variedades Gros Michel y Williams 21 días luego del establecimiento <i>in vitro</i>	9
4. Brotes de <i>Musa acuminata</i> a los 21 días después de refrescar el medio, etapa de multiplicación.	10

1. INTRODUCCIÓN

El banano pertenece a la familia de las Musáceas, es una fruta originaria del Sureste del continente asiático, gracias a su gran contenido nutricional de potasio, hierro y vitaminas, es muy importante como fuente alimenticia de las personas (Garrido Ramírez et al. 2011). Es un cultivo tropical de mucha importancia económica y alimentaria, además de ser el cuarto cultivo más importante del mundo, es una gran fuente de empleos e ingresos a todos aquellos que se dedican a producir este fruto (Álvarez et al. 2013).

Los principales productores de banano son India, China-Continental, Filipinas, Brasil y Ecuador. Entre los años de 2012 a 2014 hubo una disminución en la producción, área cosechada y rendimiento del banano en América del Sur (FAOSTAT 2016). Esto es debido al cambio climático en los últimos años, que han intensificado los ataques de plagas y enfermedades (Ortega et al. 2010).

El banano es atacado por diferentes tipos enfermedades por hongos, bacterias y virus, entre las enfermedades causadas por hongos, se encuentran Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* (FOC raza 1 y recientemente raza 4) (Álvarez et al. 2013).

La propagación *in vitro* es la técnica en la cual se extrae una pequeña parte de la planta (explantes) y se cultiva en condiciones asépticas en un medio de cultivo, formado por macronutrientes, micronutrientes, carbohidratos, vitaminas, reguladores de crecimiento y a veces aminoácidos, todo esto debe estar bajo ambiente controlado (Sandoval et al. 1991). Esta técnica comprende las etapas de iniciación o establecimiento, multiplicación, enraizamiento y endurecimiento (Rodríguez Burgos 2013).

La propagación *in vitro* de *Musa acuminata* generalmente se la realiza por meristemos apicales extraídos de los cormos, debido a que estos meristemos 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).

Para la micropropagación los cormos tienen que ser cortados y desinfectados antes de extraer y sembrar el meristemo apical. Por cada meristemo se pueden producir hasta 1000 plantas *in vitro*. Estas van a ser aclimatadas a alta humedad y luz relativamente baja y por último transferidas al vivero para ser cultivadas y trasplantarlos llevar al campo para la producción (FAO 2013).

El banano tradicionalmente se propaga en forma vegetativa por cormos, estos son separados para sembrarlos, unos de los principales problemas que presenta propagarlos con este método es que la tasa de multiplicación es muy baja, pero aún más grave es el aumento de la población de insectos y otras plagas en la plantación. Por esta razón la propagación *in vitro* es una de las alternativas para la obtención de plantas sanas (libres de patógenos), a diferencia del método tradicional que pueden traer problemas fitosanitarios (Sandoval et al. 1991).

Los objetivos de este estudio fueron, evaluar el medio más favorable para el establecimiento *in vitro* en dos variedades de banano Gros Michel y Williams y determinar el medio más favorable para la multiplicación en la fase de subcultivos I y II en dos variedades de banano Gros Michel y Williams.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. El estudio se realizó en los meses de junio a septiembre del año 2016 en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Establecimiento *in vitro* de meristemos apicales. El material vegetal fue extraído de cormos de hijuelos de la plantación de la Escuela Agrícola Panamericana ubicada en Zona Tres. Para el experimento se seleccionó y recolectó cormos de hijuelos de las variedades Gros Michel y Williams de 50 a 60 centímetros de altura.

La recolección de los explantes para ambas variedades se realizó cortando el pseudotallo a una altura aproximada de 10 cm por encima de la inserción de la hoja en el cormo basal. Después se eliminaron las raíces del cormo hasta que se observaron los tejidos blancos internos. A continuación, se removieron la base externa de las hojas del cormo, hasta obtener aproximadamente un cono de un cm de longitud que contiene el meristemo apical (Krikorian y Cronauer 1983).

Desinfección del material vegetal. La desinfección de los explantes consistió en un lavado con agua y jabón suave por un minuto, luego se los sumergió en una solución de cloro comercial al 0.5% v/v (NaOCl 4.72% de ingrediente activo) se agregaron dos gotas de Tween 80 por cada 100 mL de solución desinfectante y por 10 minutos se sumergieron los cormos en la solución (Krikorian y Cronauer 1983).

Preparación, siembra y manejo del material vegetal. La siembra se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, esta se desinfectó con etanol al 70% y encendió 15 minutos antes de la siembra. Los bisturís y pinzas que se usaron para el procedimiento se lavaron con agua y jabón y desinfectaron con etanol al 70% y esterilizaron en los esterilizadores de calor seco a 250 °C por 15 segundos.

Los cormos se trasladaron al cuarto de transferencia y en condiciones de asepsia (cámara de flujo laminar) se los enjuagó tres veces con agua destilada estéril, se eliminaron los primordios foliares hasta obtener un cono de 2-3 mm de longitud, se conservó siempre un mínimo de la base para poder manipular fácilmente el meristemo (Figura 1). Se colocó un explante por frasco y además se aseguró que la base del explante quedara en contacto con el medio (Figura 2).

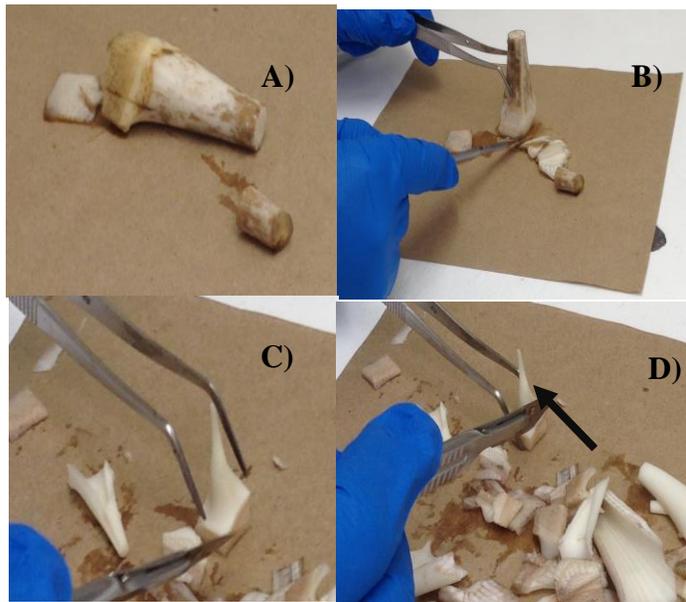


Figura 1. Cortes y eliminación del pseudotallo de *Musa acuminata* antes del establecimiento *in vitro*. A) Meristemo rodeado por hojas que forman el pseudotallo luego de la desinfección, B) Corte longitudinal de las hojas que cubren el pseudotallo, C) meristemo con dos capas de pseudotallo, D) Meristemo apical descubierto señalado con flecha.

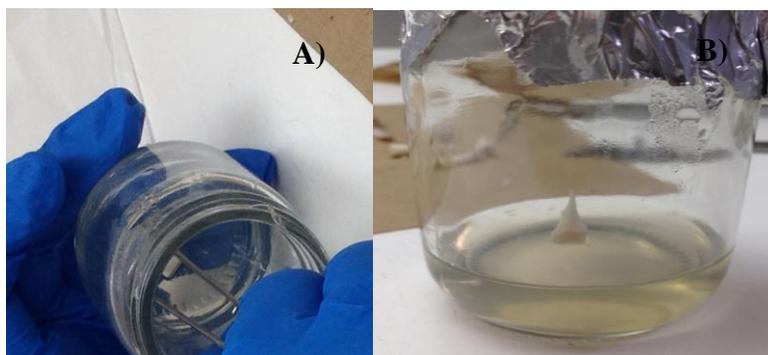


Figura 2. Siembra del meristemo apical de *Musa acuminata* en el medio de establecimiento, A) Colocación del meristemo apical en el medio de cultivo, B) Meristemo en el medio de cultivo de establecimiento.

Medio de cultivo. Se utilizaron los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001). Estos son medios basados en el de Murashige y Skoog (MS). Los medios fueron solidificados con 1.8 g L^{-1} de Phytigel[®], el pH se ajustó a 5.8 con KOH o HCl, luego fue esterilizado en autoclave a 121 °C , a 15 PSI por 20 minutos.

Medio de Krikorian y Cronauer (1983). Medio basal de Murashige y Skoog (MS) modificado y suplementado con 5 mg L^{-1} de BAP y 40 g L^{-1} de sacarosa (Cuadro 1).

Medio de Colmenares y Giménez (2001). Medio basal de Murashige y Skoog (MS) modificado y suplementado con 60 mg L⁻¹ de cisteína, 100 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 1mg L⁻¹ pantotenato de calcio, 0.01 mg L⁻¹ de biotina, 1mg L⁻¹ de tiamina, 15% de agua de coco y 40 g L⁻¹ de sacarosa (Cuadro 2).

Cuadro 1. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Krikorian y Cronauer para el establecimiento *in vitro* de meristemos de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams.

Componentes	Fórmula	Nombre Común	mg L⁻¹
Macro elementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650.000
Micro elementos	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	Sal férrica sódica de ácido Etilendiaminotetraacético	50.000
Compuestos Orgánicos		Tiamina- HCl	1.000
		Inositol	100.000
		BAP	5.000
		Sacarosa	40,000.000

Fuente: Krikorian y Cronauer (1983)

Cuadro 2. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Colmenares y Giménez para el establecimiento *in vitro* de meristemas de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams.

Componentes	Fórmula	Nombre Común	mg L ⁻¹
Macro elementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650.000
Micro elementos	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	Sal férrica sódica de ácido Etilendiaminotetraacético	50.000
Compuestos Orgánicos		Tiamina- HCl	1.000
		Inositol	100.000
		Cisteína	60.000
		Ácido Ascórbico	100.000
		Pantotenado de calcio	1.000
		Biotina	0.010
		Agua de Coco	150.000
		Sacarosa	40,000.000

Fuente: Colmenares y Giménez (2001)

Incubación. Las condiciones de incubación en el cuarto de crecimiento fueron de 24 °C, con una humedad relativa de 70%, con intensidad lumínica de 2000 Lux y un fotoperiodo de 16 horas luz por lámparas fluorescentes, estas condiciones se mantuvieron en todo el experimento.

Variables medidas. Los explantes sembrados se observaron a los 42 días. La variable medida fue el porcentaje de meristemas establecidos.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico. Se utilizó un Diseño Completo al Azar con dos tratamientos, dos repeticiones por tratamiento, 25 unidades experimentales por repetición. Se usó una prueba *t* para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.3[®]).

Inducción/multiplicación de brotes. Dentro de la cámara de flujo laminar se separaron los brotes del explante, además se realizó un corte longitudinal del explante principal, se colocó un brote por frasco, la incubación fue en las mismas condiciones del establecimiento.

Medio de cultivo. Para la inducción y multiplicación de brotes se utilizaron los medios recomendados para esta fase por Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001). Estos son medios basados en el de Murashige y Skoog (MS). Los medios fueron solidificados con 1.8 g L⁻¹ de Phytigel[®], el pH se ajustó a 5.8 con KOH o HCl, luego fue esterilizado en autoclave a 121 °C, a 15 PSI por 20 minutos.

Medio Krikorian y Cronauer (1983). Sales Murashige y Skoog (MS) suplementado con 1 mg L⁻¹ de tiamina, 5 mg L⁻¹ de BAP y 40 g L⁻¹ de sacarosa (Cuadro 1).

Medio Colmenares y Giménez (2001). Sales Murashige y Skoog (MS) suplementado con 60 mg L⁻¹ de cisteína, 100 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 1 mg L⁻¹ pantotenato de calcio, 0.01 mg L⁻¹ biotina, 1 mg L⁻¹ tiamina, 5 mg L⁻¹ BAP y 30 g L⁻¹ de sacarosa (Cuadro 3).

Variables medidas. Se evaluó el número de brotes obtenidos a partir de cada explante del subcultivo I (a los 21 días) y subcultivo II (a los 21 días).

Diseño Experimental y Análisis Estadístico. Se utilizó un Diseño Completo al Azar con dos tratamientos, dos repeticiones por tratamiento, 92 unidades experimentales para la variedad Gros Michel y 74 unidades experimentales para la variedad Williams en el medio de Krikorian y Cronauer (1983), para el medio de Colmenares y Giménez (2001) fueron 74 unidades experimentales para la variedad Gros Michel y 91 unidades experimentales para la variedad Williams. Se usó una prueba *t* para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.3[®]).

Cuadro 3. Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado por Colmenares y Giménez para multiplicación de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams.

Componentes	Fórmula	Nombre Común	mg L⁻¹
Macro elementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1650.000
Micro elementos	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
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido Etilendiaminotetraacético	50.000
Compuestos Orgánicos		Tiamina- HCl	1.000
		Inositol	100.000
		Cisteína	60.000
		Ácido Ascórbico	100.000
		Pantotenado de calcio	1.000
		Biotina	0.010
		BAP	5.000
		Sacarosa	30,000.000

Fuente: Colmenares y Giménez (2001)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento *in vitro* de meristemos apicales. La respuesta general de las dos variedades 21 días después establecimiento fue cambio de color y agrandamiento de los meristemos (Figura 3).

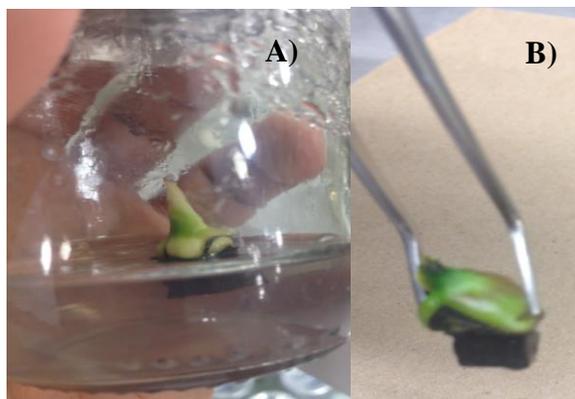


Figura 3. Meristemos de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams 21 días después del establecimiento *in vitro*, A) Explante antes de exponerlo, para removerle la primera hoja, B) Explante fuera del frasco para remover la primera hoja.

En la etapa de establecimiento el medio de Colmenares y Giménez, dio los mejores resultados obteniendo un mayor porcentaje de meristemos establecidos en la variedad Williams. El agua de coco es un promotor de crecimiento vegetal, contiene compuestos orgánicos como citoquininas (Yong et al. 2009). Esta puede ser la razón por la que en este experimento el medio de Colmenares y Giménez (2001) suplementado con agua de coco, obtuvo un mayor porcentaje de meristemos establecidos en esta variedad. Para la variedad Gros Michel no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los medios (Cuadro 4).

Cuadro 4. Meristemas establecidos *in vitro* de los explantes de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de establecimiento.

Variedad	Medio de cultivo	Unidades Experimentales (N)	Meristemas Establecidos (%)
Gros Michel	Krikorian y Cronauer (1983)	50	62 ^{n.s.}
	Colmenares y Giménez (2001)	50	74 ^{n.s.}
Williams	Krikorian y Cronauer (1983)	50	64b [¥]
	Colmenares y Giménez (2001)	50	98a

^{n.s.} no existe diferencia estadísticamente significativa, según la prueba *t* ($P \leq 0.05$).

[¥] Los tratamientos con distintas letras son significativamente diferentes, según la prueba *t* ($P \leq 0.05$).

Inducción/multiplicación de brotes Subcultivo I. Se observó que tanto la variedad Gros Michel como la Williams respondieron mejor al Medio de Krikorian y Cronauer (1983) en cuanto al promedio de número de brotes por explante (Cuadro 5).



Figura 4. Brotes de *Musa acuminata* a los 21 días después de refrescar el medio, etapa de multiplicación. Laboratorio de cultivo de tejido vegetal Zamorano, Honduras.

Cuadro 5. Brotes por explante de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de multiplicación subcultivo I.

Variedad	Medio de cultivo	Unidades Experimentales (N)	Brotes/explante
Gros Michel			
	Krikorian y Cronauer (1983)	31	2.97a [¥]
	Colmenares y Giménez (2001)	37	2.00b
Williams			
	Krikorian y Cronauer (1983)	32	3.34 ^a
	Colmenares y Giménez (2001)	49	1.98b

[¥] Los tratamientos con distintas letras son significativamente diferentes, según la prueba *t* ($P \leq 0.05$).

Talengera et al. (1994), reportaron un promedio de 2.6 brote por explante para la variedad Gros Michel, usando en el Medio de Murashige-Skoog modificado con 4.5 mgL^{-1} de BAP y 0.186 mg L^{-1} de ANA, en la multiplicación subcultivo I. Si se comparan estos resultados con los obtenidos en este estudio se puede ver que no es necesario el uso ANA en los medios de cultivos. El BAP es un inductor de brotes meristematicos axilares, que inhibe el crecimiento apical en el cultivo del banano (Madhulatha et al. 2004).

Montenegro-Juárez et al. (2014), en la variedad Williams obtuvieron un promedio de 3.3 brotes por explante usando 20 % de agua de coco, en comparación los 1.98 brotes por explante del medio de Colmenares y Giménez (2001), con estos resultados se puede observar que, si se aumenta el porcentaje de agua de coco, probablemente incrementaría el numero brotes por explante.

Multiplicación Subcultivo II. Se observó que tanto la variedad Gros Michel como la Williams respondieron mejor al Medio de Krikorian y Cronauer (1983) en cuanto al promedio de número de brotes por explante (Cuadro 6).

Cuadro 6. Brotes por explante de *Musa acuminata*, variedades Gros Michel y Williams en los medios Krikorian y Cronauer (1983) y Colmenares y Giménez (2001) en la etapa de multiplicación Subcultivo II.

Variedad	Medio de cultivo	Unidades Experimentales (N)	Brotes/explante
Gros Michel			
	Krikorian y Cronauer (1983)	92	3.11a [¥]
	Colmenares y Giménez (2001)	74	1.99b
Williams			
	Krikorian y Cronauer (1983)	107	2.93 ^a
	Colmenares y Giménez (2001)	91	1.88b

[¥] Los tratamientos con distintas letras son significativamente diferentes, según la prueba *t* ($P \leq 0.05$).

Para el subcultivo II, en la variedad Gros Michel, Talengera et al. (1994), usando el medio basal de Medio de Murashige-Skoog modificado con 4.5 mg L^{-1} de BAP, reportaron 3.9 brotes por explante el cual fue superior a los 3.11 brotes por explante obtenidos en este estudio en el medio de Krikorian y Cronauer (1983). Es probable que si se disminuye la cantidad de BAP se obtendrá una mayor cantidad de brotes por explante.

Una de las citoquininas más usada en el cultivo *in vitro* es el BAP, Escandón et al. (2003) observaron que disminuyendo las concentraciones de BAP se puede obtener mejores resultados en cuanto a la inducción de desarrollo de yemas y en la formación normal de los brotes.

4. CONCLUSIONES

- Para el establecimiento *in vitro* de banano variedad Williams es favorable usar el medio de Colmenares y Giménez (2001). Para la variedad Gros Michel se puede usar los medios Colmenares y Giménez (2001) o Krikorian y Cronauer (1983).
- La mejor tasa de multiplicación en subcultivos I y II en las variedades Gros Michel y Williams se obtuvo con el Medio de Krikorian y Cronauer (1983).

5. RECOMENDACIONES

- Continuar con el experimento en los subcultivos siguientes y en las etapas de enraizamiento y aclimatación para observar el comportamiento en dichas etapas.
- Usar el medio de Colmenares y Giménez (2001) para el establecimiento de los meristemas aumentando el porcentaje de agua de coco.
- Para la etapa de la multiplicación evaluar el medio de Krikorian y Cronauer (1983), disminuyendo la dosis de BAP.

6. LITERATURA CITADA

- Álvarez E, Ceballos G, Gañan L, Rodríguez D, González S, Pantoja A. 2013. Producción de material de 'siembra' limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano. Cali (Colombia). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). p. 2. [internet]. [Consultado 2016 septiembre 13]. <http://www.fao.org/3/a-as090s.pdf>.
- Colmenares M, Giménez C. 2001. New strategies for shoot induction in musa. Latin-American meeting on plant Biotechnology. Goiania-Goias (Brasil). REDBIO. p. 468-477.
- Escandón AS, Ferrari P, Facciuto G, Soto S, Hagiwara JC, Acevedo A. 2003. Combinación de técnicas *in vitro* y *ex vitro* para la micropropagación de Santa Rita (hibr.) Una arbustiva de relevancia ornamental. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. RIA Revista de Investigaciones Agropecuarias. Volumen 32. No 1. Buenos Aires (Argentina). p. 111-122.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2013. Material de Propagación de calidad declarada. Estudio FAO Producción y Protección vegetal No 195. Roma (Italia). p. 17-19.
- FAOSTAT (The Statistics Division of Food and Agriculture Organization). 2016. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Dirección de estadística [internet]. [Consultado 2016 septiembre 13]. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>.
- Garrido Ramírez E, Hernandez Gómez E, Noriega Cantú D. 2011. Manual de producción de banano para la región del Soconusco. Estrategia para manejo de la Sigatoka Negra. Folleto para productores N° 10. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Sur. Campo experimental Centro de Chiapas, Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas (México). p. 35.
- Krikorian A, Cronauer S. 1983. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience. 19(2). p. 234-235.
- Madhulatha P, Anbalagan M, Jayachandran S, Sakthivel N. 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth regulators on *in vitro* propagation of banana *Musa acuminata* AAA. Plant Cell Tissue Organ Cult. p.189-192.

- Montenegro Juarez FE, Rojas Idrogo C, Quevedo Calle D, Delgad Paredes GE. 2014. Efecto del sulpomag y complejos organicos como sustitutos parciales del medio de cultivo de micropropagacion de *Musa acuminata*. C.V Cavendish. Agronomía Costarricense Volumen 38, No 1. San José (Costa Rica). p. 147-159.
- Ortega N, Korvena S, Ruiz O, Santos E, Peralta E. 2010. Obtención de multimeristemas y callos de diferentes variedades de Banano y Platano *Musa acuminata* a partir de “Meristemas apicales” y “Scalps”. Revista Tecnológica ESPOL, Vol. 23, N° 1 Guayaquil (Ecuador). p. 4.
- Sandoval J, Brenes G, Pérez Sánchez L. 1991. Micropropagación de Plátano y Banano (*Musa* AAB, AAA) en el CATIE. Serie técnica, Informe técnico CATIE N° 186. Turrialba (Costa Rica). p. 2.
- SAS®, 2012. SAS User guide. Statistical Analysis Institute Inc., Cary, N.C., United States of America.
- Rodríguez Burgos PA. 2013. Cultivo de Tejidos. Módulo Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente. Contenido didáctico del curso Cultivo de Tejidos. Bogotá (Colombia). p. 34.
- Talengera D, Magambo MJS, Rubaihayo PR. 1994. Testing for a suitable culture medium for micropropagation of East African Highland Bananas. Department of Crop Science Makerere University. African Crop Science Journal, Vol. 2, No. 1. Kampala (Uganda). p. 17-21.
- Yong JW, Ge L, Ngand YF, Tan SN. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Natural Sciences Education Academic Group of Sciences, Nanyang Technological University Nanyang. Walk (Singapore). p.5144 - 5164.