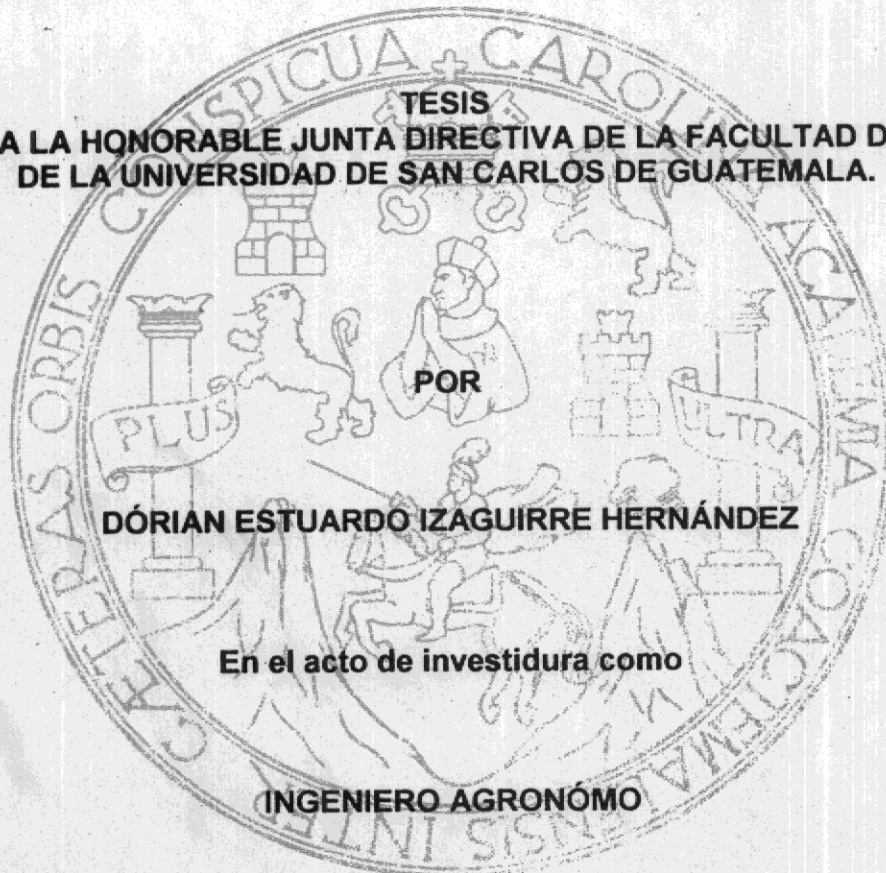


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS**

**EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACIÓN  
IN VITRO DE TRES CLONES DE BANANO (Musa acuminata Colla).**

**TESIS  
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA  
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**



**POR**

**DÓRIAN ESTUARDO IZAGUIRRE HERNÁNDEZ**

**En el acto de investidura como**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA  
EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO**

**Guatemala, julio de 2000**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**RECTOR**

**ING. AGR. EFRAIN MEDINA GUERRA**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA**

<b>DECANO</b>	<b>Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera</b>
<b>VOCAL PRIMERO</b>	<b>Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello</b>
<b>VOCAL SEGUNDO</b>	<b>Ing. Agr. William Roberto Escobar López</b>
<b>VOCAL TERCERO</b>	<b>Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández</b>
<b>VOCAL CUARTO</b>	<b>Br. Jacobo Bolvito Ramos</b>
<b>VOCAL QUINTO</b>	<b>Br. José Baldomero Sandoval Arriaza</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada</b>

Guatemala, julio de 2000

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores miembros:

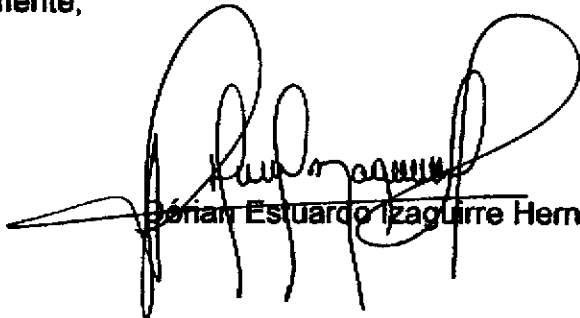
De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**"EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACIÓN IN VITRO DE TRES CLONES DE BANANO (Musa acuminata Colla)".**

Como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo.

Atentamente,



Señor Estuardo Izaguirre Hernández

## ACTO QUE DEDICO

**A:**

**DIOS**

Por iluminarme en los momentos difíciles de mi carrera y permitirme llegar a feliz término.

**MIS PADRES**

Luis V. Izaguirre Sánchez  
Violeta A. Hernández de Izaguirre  
Pilares fundamentales de mi vida, como una muestra de agradecimiento a sus esfuerzos y sacrificios.

**MI ESPOSA**

Reyna E. Mayén de Izaguirre  
Como muestra de mi amor y por los ideales que compartimos.

**MI HIJA**

Ivonne Daniela Izaguirre Mayén  
Con todo mi amor, que este triunfo sirva como un ejemplo en su largo camino por la vida.

**MIS ABUELITAS**

Anselma Sánchez Viuda de Izaguirre ( + )  
Elvira Juárez Viuda de Hernández  
Por el amor demostrado.

**MIS HERMANOS**

Rolando, Ivonne, Margoth, Diana y Carlitos  
Porque este triunfo también es de ustedes.

**MIS SOBRINOS**

Luis Estuardo y Diego José Camó Izaguirre  
Con cariño especial.

**MIS AMIGOS**

Angel Reyes, Auggie Jerónimo, Héctor Tahuico, Rocael Camó, Giovany Estrada, Walter Mus, Eddy López, Alvaro Arana, Marvin Salguero, Mauricio Figueroa, Erick Ortega.  
Como recuerdo de las experiencias compartidas y muestra de sincera amistad.

**MI FAMILIA EN GENERAL**

Respetuosamente.

## **TESIS QUE DEDICO**

**A:**

**Guatemala**

**Escuela Nacional Urbana para Varones,  
Rabinal, Baja Verapaz.**

**Instituto de Educación Básica con Orientación  
Ocupacional Industrial, Rabinal, Baja Verapaz.**

**Escuela Nacional Central de Agricultura, Bárcena, Villa  
Nueva.**

**Universidad de San Carlos de Guatemala**

**Facultad de Agronomía**

**Laboratorio de Biotecnología del  
Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas**

**Todas aquellas personas que contribuyeron en mi  
formación.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A:**

Muy sinceramente a mis asesores Ing. Agr. MSc. Héctor Alfredo Sagastume Mena e Ing. Agr. MSc. Edgar Oswaldo Franco Rivera, por su valiosa orientación en la realización del presente estudio.

Al Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, por brindarme la oportunidad de realizarme profesionalmente.

Al personal técnico y Administrativo del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, especialmente a:

Clarita, Julieta, Otto, Ivan, Chen,  
William, Don Juanito, Martín,  
Ing. Sagastume, Ing. Molina,  
Ing. Suzuki, Ing. Kamada.

Por su colaboración en la ejecución de la investigación.

BANDEGUA y COBSA, por donar el material vegetal necesario para el efecto de la investigación.

Los esposos Estrada Izaguirre y familia Camó Izaguirre, por el apoyo recibido durante mi formación profesional.

La familia Mayén García por la confianza y los consejos brindados.

## CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS	iv
INDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACION	3
4. MARCO TEORICO	4
4.1 Marco conceptual	4
4.1.1 Aspectos generales sobre el cultivo de banano	4
4.1.2 Clasificación taxonómica	5
4.1.3 Cultivo de tejidos	6
4.1.4 Aplicación del cultivo de tejidos	6
4.1.5 Historia de la micropropagación	6
4.1.6 Etapas de la micropropagación	7
4.1.7 Ventajas de la micropropagación	8
4.1.8 Componentes del medio de cultivo	8
4.1.8.A Agua	8
4.1.8.B Nutrición mineral	9
4.1.8.C Nutrición orgánica	10
4.1.8.C.a Fuente de carbono y energía	10
4.1.8.C.b Reguladores del crecimiento	10
4.1.8.C.c Vitaminas	12
4.1.8.C.d Aminoácidos y amidas	12
4.1.8.C.e Hexitoles	12
4.1.8.C.f Purinas y pirimidinas	13
4.1.8.C.g Acidos orgánicos	13
4.1.8.C.h Compuestos fenólicos	13
4.1.8.C.i Extractos naturales	13
4.1.8.D Materiales y soporte	14
4.1.8.D.a Agar	14
4.1.8.D.b Carbón activado	14
4.1.8.E Cualidades físicas del medio	14
4.1.8.E.a pH	15
4.1.8.E.b Cantidad de medio	15
4.1.8.E.c Condiciones de incubación	15
4.1.8.E.d Luz	15
4.1.8.E.e Intensidad luminosa	15
4.1.8.E.f Calidad de la luz	16
4.1.8.E.g Fotoperíodo	16
4.1.8.E.h Temperatura	16
4.1.8.E.i Intercambio de gases	17
4.1.8.F Esterilización del medio de cultivo	17
4.1.8.F.a Tiempo mínimo de autoclavado	17
4.1.8.F.b Desinfectantes comúnmente usados	18

4.1.8.F.c	Tween 20	18
4.1.8.G	Consideraciones generales	18
4.2	Marco referencial	19
4.2.1	Ubicación del experimento	19
4.2.2	Bencilaminopurina	19
4.2.3	Descripción de clones	19
4.2.3.A	Grand Nain o Gran Enano	20
4.2.3.B	Valery	21
4.2.3.C	Williams	21
4.2.4	Micropropagación en musáceas	23
5.	OBJETIVOS	24
6.	HIPOTESIS	25
7.	MATERIALES Y METODOS	25
7.1	Localización del experimento	25
7.2	Material experimental	25
7.3	Equipo e insumos	26
7.4	Niveles de bencilaminopurina evaluados	26
7.5	Tratamientos	27
7.6	Diseño experimental	27
7.7	Unidad experimental	27
7.8	Variables de respuesta	28
7.8.1	Número de brotes	28
7.8.2	Altura de brotes	28
7.8.3	Vigor de brotes	29
7.9	Manejo del experimento	29
7.9.1	Selección del material vegetal	29
7.9.2	Desinfección del material experimental	30
7.9.3	Fase de iniciación	30
7.9.4	Fase de multiplicación	31
7.9.5	Toma de datos	31
7.9.6	Análisis estadístico	33
8.	RESULTADOS Y DISCUSION	33
8.1	Gran enano	33
8.1.1	Número de brotes	37
8.1.2	Altura de brotes	40
8.1.3	Vigor de brotes	42
8.1.4	Relación entre número, altura y vigor de brotes	44
8.2	Williams	44
8.2.1	Número de brotes	48
8.2.2	Altura de brotes	51
8.2.3	Vigor de brotes	53
8.2.4	Relación entre número, altura y vigor de brotes	54
8.3	Valery	54
8.3.1	Número de brotes	69
8.3.2	Altura de brotes	62
8.3.3	Vigor de brotes	64
8.3.4	Relación entre número, altura y vigor de brotes	66
9.	CONCLUSIONES	



10.	RECOMENDACIONES	66
11.	BIBLIOGRAFIA	67
12.	APENDICE	70

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1. Tiempo mínimo requerido para esterilización de diferentes volúmenes de medio</b>	<b>17</b>
<b>Cuadro 2. Desinfectantes comúnmente usados en cultivo de tejidos de plantas</b>	<b>18</b>
<b>Cuadro 3. Tratamientos considerados en la investigación</b>	<b>27</b>
<b>Cuadro 4. Análisis de Varianza para la variable número de brotes para el clon Gran Enano</b>	<b>33</b>
<b>Cuadro 5. Medias para la variable número de brotes para el clon Gran Enano</b>	<b>34</b>
<b>Cuadro 6. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Gran Enano</b>	<b>35</b>
<b>Cuadro 7. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano</b>	<b>36</b>
<b>Cuadro 8. Parámetros estimados y prueba de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano</b>	<b>36</b>
<b>Cuadro 9. Analisis de Varianza para la variable altura de brotes para el clon Gran Enano</b>	<b>38</b>
<b>Cuadro 10. Medias para la variable altura de brotes para el clon Gran Enano</b>	<b>39</b>
<b>Cuadro 11. Análisis de Varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brote para el clon Gran Enano</b>	<b>41</b>
<b>Cuadro 12. Medias para la variable vigor de brote para el clon Gran Enano</b>	<b>41</b>
<b>Cuadro 13. Análisis de Varianza para la variable número de brotes para el clon Williams</b>	<b>44</b>
<b>Cuadro 14. Medias para la variable número de brotes para el clon Williams</b>	<b>45</b>
<b>Cuadro 15. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Williams</b>	<b>46</b>
<b>Cuadro 16. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams</b>	<b>47</b>
<b>Cuadro 17. Parámetros estimados y prueba de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams</b>	<b>47</b>

<b>Cuadro 18. Análisis de Varianza para la variable altura de brotes para el clon Williams</b>	<b>49</b>
<b>Cuadro 19. Medias para la variable altura de brotes para el clon Williams</b>	<b>50</b>
<b>Cuadro 20. Análisis de Varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brote para el clon Williams</b>	<b>51</b>
<b>Cuadro 21. Medias para la variable vigor de brote para el clon Williams</b>	<b>52</b>
<b>Cuadro 22. Análisis de Varianza para la variable número de brotes para el clon Valery</b>	<b>54</b>
<b>Cuadro 23. Medias para la variable número de brotes para el clon Valery</b>	<b>55</b>
<b>Cuadro 24. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Valery</b>	<b>56</b>
<b>Cuadro 25. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Valery</b>	<b>58</b>
<b>Cuadro 26. Parámetros estimados y prueba de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Valery</b>	<b>58</b>
<b>Cuadro 27. Análisis de Varianza para la variable altura de brotes para el clon Valery</b>	<b>60</b>
<b>Cuadro 28. Prueba de medias Duncan para la variable altura de brotes para el clon Valery</b>	<b>61</b>
<b>Cuadro 29. Análisis de Varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brotes para el clon Valery</b>	<b>62</b>
<b>Cuadro 30. Prueba de medias Duncan para la variable vigor de brote para el clon Valery</b>	<b>63</b>
<b>Cuadro 31A. Resumen de resultados para cada variable por clon, según nivel de BAP.</b>	<b>71</b>
<b>Cuadro 32A. Datos originales del clon Gran Enano</b>	<b>72</b>
<b>Cuadro 33A. Datos originales del clon Williams</b>	<b>74</b>
<b>Cuadro 34A. Datos originales del clon Valery</b>	<b>76</b>
<b>Cuadro 35A. Composición del medio Murashige y Skoog</b>	<b>78</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Número de brotes por subcultivo para el clon Gran Enano, según nivel de BAP</b>	<b>35</b>
<b>Figura 2. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano</b>	<b>37</b>
<b>Figura 3. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Gran enano, según nivel de BAP</b>	<b>40</b>
<b>Figura 4. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Gran enano, según nivel de BAP</b>	<b>42</b>
<b>Figura 5. Número de brotes por subcultivo para el clon Williams, según nivel de BAP</b>	<b>46</b>
<b>Figura 6. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams</b>	<b>48</b>
<b>Figura 7. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Williams, según nivel de BAP</b>	<b>50</b>
<b>Figura 8. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Williams, según nivel de BAP</b>	<b>53</b>
<b>Figura 9. Número de brotes por subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP</b>	<b>57</b>
<b>Figura 10. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Valery</b>	<b>59</b>
<b>Figura 11. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP</b>	<b>61</b>
<b>Figura 12. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP</b>	<b>64</b>

**"EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACION  
IN VITRO DE TRES CLONES DE BANANO (*Musa acuminata* Colla)"**

**"EFFECT OF BENCYLAMINOPURINE ON THE *IN VITRO* PROPAGATION  
FOR THREE BANANA (*Musa acuminata* Colla) CLONES"**

**RESUMEN**

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes niveles de BAP sobre la proliferación de brotes en los principales clones de banano que se cultivan actualmente en Guatemala, que son: Gran Enano, Williams y Valery. La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), con el propósito de definir y mejorar el protocolo para la micropropagación de banano, debido a la importancia que tiene el cultivo en la economía del país, generando divisas por concepto de la exportación del fruto y fuente de trabajo (5).

Cada clon fue evaluado en un experimento separado, con un diseño en bloques al azar, con cinco tratamientos, que fueron los niveles de BAP siguientes: 3, 4, 5, 6 y 7 mg/l, cada uno con diez repeticiones. El nivel estándar de BAP que se utiliza en la mayoría de laboratorios, a nivel mundial, es de 5 mg/l, sin importar el clon. Cada unidad experimental la constituyó un recipiente de cultivo, tipo magenta, de 6.25 x 6.25 x 10 centímetros, en el cual se sirvieron 50 mililitros del medio MS (Murashige y Skoog). Para evaluar el efecto de los tratamientos se consideraron tres variables de respuesta, que fueron las siguientes: número de brotes, altura de brotes y vigor de brotes, tomando datos cada 21 días, hasta subcultivar tres veces el material.

El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número, altura y vigor de brotes, en el clon Gran Enano, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al hacer un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de BAP es de 4.3 mg/l.

El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número, altura y vigor de brotes, en el clon Williams, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al realizar un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de

BAP es de 6.3 mg/l.

El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número de brotes, en el clon Valery, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al hacer un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de BAP es de 5.6 mg/l.

El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre la altura y vigor de brotes, en el clon Valery, presentaron diferencias estadísticas significativas, estableciendo que los mejores tratamientos de BAP sobre la altura y vigor de brotes fueron 3, 5 y 6; y 3, 5 y 4 mg/l, respectivamente.

Se recomienda continuar esta investigación en la línea de conocer la tasa de mutaciones que causan los diferentes niveles de BAP al final de ocho subcultivos y más allá, para lo tres clones.

## 1. INTRODUCCION

En Guatemala, el cultivo de banano en los últimos años ha venido adquiriendo importancia económica y social, incrementando cada año el número de hectáreas plantadas, a la vez demandándose mayor cantidad de plántulas de banano de los clones explotados comercialmente. Parte de la demanda es producida por métodos vegetativos que no garantizan plantaciones libres de hongos, bacterias y nemátodos; la mayor parte de estas plantas son importadas, producidas por técnicas *in vitro*, que ya en plantaciones establecidas han presentado cierta variación genética, posiblemente debido a la utilización de elevados niveles de reguladores de crecimiento o bien a la continua obtención de nuevas plántulas de banano a partir de indefinidos subcultivos (9).

Previo a un programa de propagación masiva de plántulas de banano por medio de cultivo de tejidos, es necesario determinar los niveles específicos de bencilaminopurina para los clones Gran Enano, Valery y Williams, ya que resulta ser la parte más importante dentro del proceso de producción de plántulas de banano *in vitro*.

En este trabajo se evaluaron cinco niveles de bencilaminopurina en los clones anteriormente mencionados, empleándose un diseño bloques al azar, con cinco tratamientos y 10 repeticiones por tratamiento, estudiándose tres clones en experimentos separados.

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en el kilómetro 21.5 sobre la carretera a Amatitlán, Barcena, Villa Nueva, Guatemala.

## 2. DEFINICION DEL PROBLEMA

En Guatemala, el banano se está expandiendo a mayores áreas de cultivo, reemplazando, en mayor o menor grado, a cultivos como: caña de azúcar, soya, sorgo y algodón. Predominando los clones Gran Enano, Valery y Williams, que por sus características agronómicas, tales como: racimo grande, manos compactas, sistema radicular extenso, resistencia a enfermedades y resistencia a sequía, son preferidos. (3,6).

En el país, la aplicación de la técnica de cultivo de tejidos ha tenido poco desarrollo, específicamente, en la micropropagación de plántulas de banano de potencial comercial, siendo necesario importarlas de Honduras, Costa Rica, Ecuador e Israel.(2).

Las plantas importadas, en plantaciones establecidas han presentado cierta variación genética, posiblemente debido a la utilización de elevados niveles de reguladores de crecimiento o bien a la continua obtención de nuevas plántulas de banano a partir de indefinidos subcultivos, (7).

El ICTA posee un Laboratorio de Biotecnología, el cual cuenta con la infraestructura y equipo necesario para propagar masivamente plántulas de banano mediante técnicas de cultivo *in vitro*, pero carece de protocolo para dicho proceso de producción, en la mayoría de laboratorios se utiliza el medio basal Murashige y Skoog (MS) suplementado con 5 mg/l de bencilaminopurina (BAP), pero se desconoce el nivel adecuado de BAP que promoviera la mayor cantidad de brotes para cada uno de los clones de banano antes mencionados.

Por ello, es necesario, evaluar diferentes niveles de BAP sobre la multiplicación de brotes en los clones Gran Enano, Valery y Williams.



### 3. JUSTIFICACION

El cultivo del banano en Guatemala es de gran importancia como fuente de alimento, trabajo e ingreso de divisas por exportación. En 1997 se cosechó un área de 19,000 manzanas, con una producción de 14,453,500 quintales, de lo cual se exportaron 13,286,600 quintales, generando un ingreso de divisas de 109,398,300 de Dólares Norteamericanos (9).

En el año 1999 la demanda de importación de plántulas hacia el país se estimó en 4,884,838, las cuales fueron importadas de Israel, Honduras, Ecuador y Costa Rica, producidas por técnicas *in vitro*. Erogándose Q 23,662,140.14 en concepto de divisas. (2).

Los productores de banano que importan plántulas producidas *in vitro* han encontrado muchas variaciones en las plantaciones que establecen. Esto puede ser producido por mutaciones causadas por el exceso de niveles de reguladores del crecimiento en el proceso de producción de plántulas.

El ICTA cuenta con un Laboratorio de Biotecnología, al cual productores de banano han solicitado la producción masiva de plántulas de los clones Valery, Williams y Gran Enano, que son los más utilizados en Guatemala. Para estos clones no se ha encontrado información disponible sobre el uso de la BAP con el medio basal MS, que generalmente se utiliza en el protocolo de propegación de banano. La BAP es un regulador de crecimiento que influye en la producción de brotes y también, posiblemente, es la principal causa de las variaciones que se producen en las plántulas.

Las concentraciones adecuadas de este regulador son específicas para cada clon y es importante conocer la concentración que produzca la máxima cantidad de brotes, antes de hacer una propagación masiva.

## **4. MARCO TEORICO**

### **4.1 Marco conceptual**

#### **4.1.1 Aspectos generales sobre el cultivo de banano**

El banano se considera se originó en el Sur Este Asiático. Las primeras plantas se introdujeron en las Antillas y de aquí se propagó a toda América tropical. Fue en el año 1842 que se inició su cultivo comercialmente en Guatemala por intermedio de la United Fruit Company, conocida hoy como Del Monte Fresh y Chiquita Brand (26).

De acuerdo con Soto (26), la planta de banano es herbácea con pseudotallo aéreo que se origina de un corno carnosos conocido como tallo verdadero, en el que se desarrollan numerosas yemas laterales llamadas hijos, las hojas tienen una distribución helicoidal, es decir, en forma de espiral y sus bases circundan el tallo o como, dando origen al pseudotallo. La inflorescencia es terminal y crece a través del centro del pseudotallo hasta alcanzar la superficie, luego se curva hacia el suelo.

El banano se desarrolla perfectamente en las regiones tropicales, las cuales son muy húmedas y cálidas. Su velocidad de crecimiento es muy rápido y ese vigor vegetativo sólo puede obtenerse en éste tipo de condiciones (3).

Según Champion (4), las condiciones climáticas para el cultivo de banano deben ser: una temperatura promedio de 27 grados centígrados, mayores de 15 y menores de 38 grados centígrados.

Las variedades comerciales del banano no producen semillas, y la propagación se hace por medio de hijos o chupones que salen del rizoma. La planta madre muere después de producir el racimo, pero en cada mata quedan siempre hijos de varias edades que llevan adelante la producción. Una plantación bien cuidada produce por varios años sin tener que ser replantada, (7).

#### 4.1.2 Clasificación taxonómica (29)

REINO	Plantae
SUBREINO	Embryobionta
DIVISION	Magnoliophyta
CLASE	Liliopsida
SUBCLASE	Zingiberales
FAMILIA	Musaceae
GENERO	<i>Musa</i>
SERIE	Eumusa
ESPECIE	<i>acuminata</i>
SUBGRUPO	Cavendish

Según Rowe (22), la mayor parte de los clones de banano y plátano son producto de la evolución en la serie eumusa del género *Musa*.

Roca y Mroginski (21), detallan que las teorías sobre el origen indomalayo de esos cultivares se remontan a los estudios de Kurt en 1865, y se ha demostrado que todos los bananos y plátanos comestibles se derivan de dos especies silvestres, estableciendo la clasificación *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B). Todos los bananos cultivados para la exportación tuvieron su origen en *M. acuminata*, mientras que algunos de los bananos que son preferidos para el consumo local en ciertos lugares y todos los plátanos, son híbridos de aquellas dos especies paternas. El contenido de almidones del plátano comparado con lo dulce del banano es atribuido al genoma de *M. balbisiana*.

Rowe(22), indica que, el contenido de materia seca del fruto maduro de los cultivares que contienen un tercio o más de genes de *M. balbisiana*, es alrededor de un 6% mayor que los cultivares que son *M. acuminata* puros. También define que el plátano es el nombre dado a las Musáceas que son consumidas solamente cuando están cocidas, ésta definición ha sido ampliamente utilizada para referirse a los dos grupos de triploides AAB y ABB del cultivo, cuyo fruto contiene buenas cantidades de almidón. El fruto del primer grupo es largo, curvado y se parece al banano de exportación de mayor tamaño.

Los cultivares AAB son cultivos alimenticios de importancia en el sur de la India, regiones de África Oriental, África Central y América Tropical.

Según Roca (21), la mayor parte de los esfuerzos de investigación en el género *Musa* han procurado mejorar la calidad de sus frutos, la condición de enanismo de la planta para contrarrestar su volcamiento, y la resistencia del germoplasma a las enfermedades, lo que exige a los investigadores encontrar las soluciones inmediatas a dichos problemas.

#### 4.1.3 Cultivo de tejidos

El cultivo de tejidos consiste esencialmente en el aislamiento de un explante (parte separada de un vegetal, protoplasto, célula, tejido, órgano, etc.), que se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas. La interacción de los distintos factores que intervienen en el cultivo de tejidos (explante, normas de asepsia, medios de cultivo y condiciones ambientales) determinará las respuestas que se obtengan *in vitro*. El medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962) es uno de los más usados. El cultivo de tejidos se fundamenta en varios principios, pero quizá los más importantes son la totipotencialidad celular, propuesta por Haberlandt (1902), y la hipótesis del balance hormonal, sugerida por Skoog *et al* (1957), (16).

#### 4.1.4 Aplicación del cultivo de tejidos

Roca y Mroginski (21), reconocen que el cultivo de tejidos es una herramienta invaluable para resolver los problemas sanitarios que trae consigo la propagación y el mejoramiento genético de bananos y plátanos en el mundo.

Las aplicaciones del cultivo de tejidos son numerosas y diferentes, las posibilidades en agricultura podrían resumirse en los siguientes aspectos: propagación de plantas (micropropagación), obtención de plantas libres de patógenos, mejoramiento genético de los cultivos y conservación e intercambio de germoplasma.

#### 4.1.5 Historia de la micropropagación

La técnica de generar plantas nuevas en un medio de crecimiento artificial y en condiciones asépticas, se inició con investigaciones sobre fisiología vegetal. Así mismo, estas investigaciones tomaron auge cuando Sacks (1860), y Knops (1861), observaron que los principales nutrientes de las plantas eran compuestos orgánicos, para lo cual prepararon una solución que contenía una mezcla de

ellos, esta mezcla se utilizó posteriormente por casi todos los investigadores que siguen este campo de estudio. Vockting (1878) aportó más información a este campo al estudiar el comportamiento de la formación de nuevas yemas y raíces, o yemas axilares, las cuales se colocaron en una cámara al vacío,(11).

Haberland, en 1902, aisló y cultivó tejido vegetal, utilizando aséptica (10), mientras que Kotte, en 1922, cultivó, conjuntamente con Haberland, ápices radiculares de arveja y maíz, utilizando un medio enriquecido con sales orgánicas, glucosa, peptona y varios aminoácidos. Robinson, por su parte, suplementó este medio agregando glucosa, agar y sales inorgánicas, (11).

En los años 1934-1939 White cultivó *in vitro* raíces de tomate y agregó al medio extracto de levadura y vitaminas y, conjuntamente con otros colaboradores, Gautheret y Nobecout indujeron el crecimiento de callo en un medio sintético (10).

En la década de los años cincuenta y sesenta, Skoog identificó la cinetina y reconoce su función como regulador en la iniciación de la división celular. En 1962, Murashige y Skoog desarrollaron un medio nutritivo con el que logran crecimiento rápido de tejido en tabaco. Este medio es ampliamente utilizado en cultivo *in vitro* (11).

Después de estos descubrimientos y avances en las investigaciones de cultivo de tejidos, se han llevado a cabo innumerables trabajos aplicando diferentes técnicas de cultivo *in vitro*, en muchas especies de plantas y utilizando diversos explantes. Todos estos trabajos se han orientado más que todo a la citología, fusión de protoplastos, fitomejoramiento, propagación, mutagénesis y formación de híbridos interespecíficos.

#### **4.1.6 Etapas de la micropropagación**

Las etapas que conlleva la micropropagación (Murashige, 1974) están definidas de la manera siguiente:

- A. El establecimiento aséptico del cultivo.
- B. Su multiplicación.
- C. El enraizamiento y la preparación del inóculo para su trasplante al suelo, (13).

#### **4.1.7 Ventajas de la micropropagación**

Villalobos (30), reconoce que las ventajas de la micropropagación, en comparación con los sistemas convencionales, son: el incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo; reducción del tiempo de multiplicación; posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida, a bajos costos y en tiempos económicamente costeados; mayor control sobre la sanidad del material que se propaga; intercambio de material y posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual sólo existan pocos individuos.

#### **4.1.8 Componentes del medio de cultivo**

Hurtado y Merino (11), indican que el éxito del cultivo de tejidos de plantas está influenciado por la composición química de los medio de cultivo. Se ha determinado que utilizando las sustancias químicas necesarias, y las condiciones apropiadas de nutrientes, así como su forma química adecuada, ha permitido establecer cultivos para casi todas las partes de una planta en diversas especies vegetales.

Torres (28), ha dividido los componentes del medio de cultivo en las siguientes categorías:

- Agua
- Nutrición mineral
- Nutrición orgánica
- Materiales de soporte
- Cualidades físicas del medio
- Condiciones de incubación
- Esterilización del medio de cultivo
- Consideraciones generales

##### **4.1.8.A Agua**

La calidad del agua es muy importante en cultivo de tejidos, ya que éste es el componente que entra en mayor proporción en el medio. Para mejor control se debe usar agua destilada estéril. (23).

#### 4.1.8.B Nutrición mineral

La mayoría de los medios de cultivo incluyen en su composición los elementos necesarios esenciales de la planta en el campo (11, 28).

- **Nitrógeno:** puede ser adicionado en la forma de nitrato, nitrito y amonio, dependiendo del material en cultivo. Es constituyente de aminoácidos, nucleótidos y coenzimas, tiene importancia en la síntesis protéica.
- **Fósforo:** es adicionado al medio, principalmente, como fosfato, desempeña papel importante en el metabolismo energético, en la regulación de procesos enzimáticos y en la activación de enzimas. Necesario para la síntesis del ATP. En la organogénesis está involucrado en la diferenciación de la parte aérea, pues revierte el efecto de las auxinas.
- **Potasio:** es usado en la forma de nitrato, fosfato o cloruro, es activador de varias enzimas del metabolismo de carbohidratos y proteínas. Una de las más importantes es la quinasa del piruvato, enzima involucrada en los procesos de glicólisis y respiración.
- **Magnesio:** la forma más usada es el sulfato de magnesio, es uno de los componentes de la clorofila; cofactor importante para varias reacciones enzimáticas que actúan sobre sustratos fosforilados.
- **Calcio:** adicionado, principalmente, en la forma de cloruro o nitrato, su papel es importante en el metabolismo de la planta. Altas concentraciones son necesarias para el control de la necrosis del ápice.
- **Hierro:** adicionado en la forma de quelatos de hierro, involucrado en las reacciones oxidoreducción en los organismos vivos. Esencial para la síntesis de la clorofila y es integrante del grupo protéico de las porfirinas.
- **Manganeso:** adicionado en la forma de sulfato de manganeso, esencial para la reacción de Hill en la fotosíntesis, cuando la molécula de agua es quebrada produciendo electrones y oxígeno.
- **Zinc:** es usado como sulfato de zinc, importante en las reacciones de oxidoreducción de las plantas.
- **Cobre:** usado como sulfato de cobre, constituyente de la enzima plastocianina que es importante componente del transporte electrónico.
- **Cobalto:** es usado como cloruro de cobalto y está involucrado en la expansión foliar.
- **Boro:** usado en la forma de ácido bórico, involucrado en el metabolismo de carbohidratos y ácidos nucleicos.

#### 4.1.8.C Nutrición Orgánica

Los compuestos orgánicos importantes son: los carbohidratos, sustancias reguladoras de crecimiento, vitaminas, aminoácidos y amidas, ciertas purinas y pirimidinas, y ácidos orgánicos (28).

##### 4.1.8.C.a Fuente de carbono y energía

Al extraer parte de la planta y cultivarla *in vitro* las células no son fotosintéticamente activas y necesitan de carbohidratos para su crecimiento y desarrollo. La utilización de determinado azúcar depende del proceso en cuestión.

Muchas veces, azúcares que son inefectivos en el crecimiento de callo, inducen la iniciación de brotaciones adventicias y la embriogénesis somática. Ball (1953), mostró que al autoclavar azúcares a 120 grados centígrados, durante una hora, se hidrolisa parcialmente la sacarosa y, esta alteración hace que el crecimiento del tejido sea estimulado. Estas observaciones fueron confirmadas por Street (1957).

Los carbohidratos más comúnmente usados son: la sacarosa, glucosa y fructosa, en los niveles de 2 a 5% (p/v). La concentración de 3% es la más usada. Concentraciones de sacarosa de 6 a 12% pueden ser usadas en determinadas situaciones, por ejemplo, en cultivo de embriones y anteras, en tanto que el nivel de 1.5% es usado en cultivo de protoplastos.

El azúcar es purificado con acetato, para precipitar impurezas, y puede contener alto nivel de zinc que es tóxico para el tejido. Glucosa y fructosa deben ser esterilizados en frío, a través de un filtro. (28).

##### 4.1.8.C.b Reguladores de crecimiento

Las hormonas son, por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores, que influyen sobre el crecimiento y desarrollo; que actúan generalmente en lugar diferente en donde son producidas y se encuentran presentes y activas en muy pequeñas cantidades. También se han desarrollado otro tipo de hormonas sintéticas que pueden tener un efecto semejante a las naturales (23).

El control químico de la diferenciación de parte aérea en cultivo de callo de *Nicotiana* fue



establecido por Skoog y Tsui (1948). En sus observaciones la auxina inhibía la formación de yemas, en tanto que la adenina y/o fosfato inorgánico revertía este efecto estimulando brotación. Este fue el punto de partida para que Skoog y Miller (1957) constataran que el proceso de organogénesis *in vitro* era controlado por sustancias hormonales. Ellos observaron que el desenvolvimiento de la parte aérea, raíz o callo era determinado por el balance entre auxinas y citocininas. Medio con concentraciones relativamente altas de auxina y bajas de citocinina favorecía el enraizamiento y el balance inverso promovía la formación de la parte aérea. Concentraciones iguales propician la producción de callo.

Las auxinas y las citocininas son componentes importantes en el control de la morfogénesis *in vitro*. Las concentraciones de las auxinas en los medios varían de 0.01 a 10 mg/l. Las auxinas más usadas son ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). El AIA es la auxina natural menos estable, siendo destruido a pH bajo. La luz también descompone esta auxina, en una reacción denominada oxidación catalítica, después de 12 días de exposición a intensidad luminosa de 1500 lux, 10 - 15% de AIA fue descompuesto.

Las auxinas 2,4-D y ANA son sintéticas y tienen efectos semejantes a las auxinas de ocurrencia natural. Las auxinas son disueltas en NaOH 1N, se usa 0.3 ml de esta base para disolver 10 mg de auxina.

Las citocininas son derivadas de la adenina y tienen un papel fundamental en la diferenciación y regeneración de plantas en la mayoría de las especies. Inducen la división celular, proliferación y morfogénesis de la parte aérea. Las citocininas más usadas en cultivo de tejidos son: la cinetina (CIN), benciladenina (BA) o bencilaminopurina (BAP) y zeatina (Zea). Las concentraciones recomendadas de estas sustancias varían de 0.03 a 30 mg/l. La cinetina y zeatina son considerados termoestables, una vez que ningún producto de su descomposición fue observado después de ser autoclavadas a 120 grados centígrados durante una hora (Dekhujzer, 1971). Las citocininas son disueltas en HCl 1N. Se utiliza 0.3 ml de éste ácido para disolver 10 mg de citocinina. Las hormonas y las sustancias reguladoras de crecimiento no deben ser disueltas en alcohol, pues este producto tiene efecto inhibitor en la morfogénesis (28).

#### 4.1.8.C.c Vitaminas

Las plantas verdes se consideran normalmente autótrofas para las vitaminas, pero puede ser necesario añadir al medio algunas de ellas, hasta cuando los cultivos crezcan o se hayan vuelto verdes, (12).

Torres (28), opina que las vitaminas son compuestos orgánicos que en bajas concentraciones desempeñan funciones reguladoras catalíticas en el metabolismo celular. La mayoría de las plantas superiores son capaces de sintetizar la totalidad de las vitaminas necesarias para su crecimiento normal. La vitamina más comúnmente usada en cultivo de tejidos es la tiamina (B<sub>1</sub>). La tiamina es soluble en agua. Otras vitaminas utilizadas incluyen ácido nicotínico (B<sub>3</sub>) y piridoxina (B<sub>6</sub>). La esterilización en frío es recomendada para estudios específicos de estas sustancias (Tentam, 1971). Es difícil estudiar los efectos de las vitaminas en las plantas, porque éstas las producen (11). Las vitaminas más usadas en cultivo de tejidos son:

- Tiamina (vitamina B<sub>1</sub>): su importancia en el metabolismo celular es debido a su papel como coenzima en la descarboxilación de los cetoácidos.
- Acido nicotínico (vitamina B<sub>3</sub>): es un componente de las coenzimas NAD y NADP, importantes en la transferencia de hidrógeno.
- Piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>), forma parte del piridoxal-fosfato, coenzima importante en el metabolismo de aminoácidos. Las reacciones de transmisión y descarboxilación son funciones importantes de esta vitamina.

#### 4.1.8.C.d Aminoácidos y amidas

Los aminoácidos y las amidas tienen importancia en la amplificación de las respuestas morfogénicas, proporcionando mayor crecimiento celular y facilitando la diferenciación en el sentido de la regeneración, (28).

#### 4.1.8.C.e Hexitoles

El más usado es el inositol. Es considerado un estimulador de procesos de crecimiento *in vitro* y puede servir como fuente de carbohidrato. Desempeña un papel importante en el transporte del

azúcar, en la nutrición mineral, en el metabolismo de carbohidratos, en la estructura de membranas, formación de pared celular y el estrés fisiológico (11, 28).

#### **4.1.8.C.f Purinas y pirimidinas**

Generalmente se ha reconocido que la levadura, la malta y los extractos selectos de tejidos, al igual que el endosperma líquido, pueden suministrar purinas o pirimidinas, (12).

La adenina o sulfato de adenina estimulan el crecimiento de brotación *in vitro*. La concentración usada varía de 40 a 160 mg/l (28).

#### **4.1.8.C.g Acidos orgánicos**

El ácido ascórbico y el ácido cítrico son usados para prevenir el oscurecimiento de tejidos extraídos de plantas. Las soluciones antioxidantes son preparadas usando una mezcla de 100 mg de ácido ascórbico y 150 mg de ácido cítrico, disuelto en un litro de agua. Esta solución no debe ser autoclavada y su esterilización es en filtro bacteriológico de 0.22 ó 0.45 micras. La adición de 2000 mg/l de ácido ascórbico también estimula el crecimiento de callo (28).

#### **4.1.8.C.h Compuestos fenólicos**

Muchos derivados fenólicos promueven el desenvolvimiento de la parte aérea e iniciación de raíces. La diferenciación de la parte aérea es estimulada por compuestos fenólicos (mono-OH). Estas sustancias actúan en la degradación oxidativa del ácido indolacético (AIA). Por otro lado, compuestos fenólicos (bi-OH) inhiben la degradación oxidativa del AIA, teniendo efecto benéfico en el enraizamiento (28).

#### **4.1.8.C.i Extractos naturales**

Torres (28), opina que son preparaciones obtenidas de productos naturales, de composición indefinida, que sirven para enriquecer el medio de cultivo. Entre los extractos naturales más utilizados se encuentran los siguientes:

- Leche de coco: es el endosperma de coco (*Cocos nucifera*), que debe estar en la fase

gelatinosa. Es un suplemento bastante usado. Se recomienda que sea esterilizado en frío.

- Agua de coco: es el endosperma líquido de *Cocos nucifera*.
- Extracto de levaduras: es extraído con alcohol, conteniendo en su composición productos solubles en este solvente. Es fuente de aminoácidos y vitaminas.

#### **4.1.8.D Materiales de soporte**

##### **4.1.8.D.a Agar**

El agar es uno de los componentes más impuros en cultivo de tejidos, es un polisacárido de algas marinas. El agar debe ser de buena calidad, la concentración usada varía de 0.6% a 1% (de 6 a 10 g/l). El agar impuro es constituido de polisacáridos, aminoácidos, sales, azúcar, debiendo ser lavado con agua destilada antes de ser usado. El agar es alcalino, líquido a temperatura de 80 grados centígrados y se solidifica a 40 grados centígrados.

Otros productos gelificantes, como el Gelrite y Phytagei. Son más puros que el agar. Son provenientes de fermentaciones bacterianas. Usados en la concentración de 0.2% (2 g/l). Estos productos pueden causar vitrificación en algunas especies (27, 28).

##### **4.1.8.D.b Carbón activado**

Es utilizado para eliminar sustancias tóxicas producidas por el explante *in vitro*. Las concentraciones es en torno de 0.3% (3 g/l). El producto debe ser bastante fino. Es usado cuando ocurre el obscurecimiento de tejido *in vitro*, decoloración de medio de cultivo, formación de callo en la fase de enraizamiento de propágulos, o cuando el crecimiento del tejido es inhibido. Adsorve productos provenientes del metabolismo, así como sustancias hormonales y vitaminas. Se sugiere, en algunos casos, aumentar la concentración de auxina, en la presencia de carbón activado. La pureza de este producto es variable (28).

##### **4.1.8.E Cualidades físicas del medio**

Las cualidades físicas del medio de cultivo, a semejanza de la composición química, pueden

desempeñar un papel importante en el establecimiento de un cultivo *in vitro*. Hay especies cuyos explantes se desenvuelven mejor en medio líquido, otros en medio sólido, un tercer grupo responden mejor en medio líquido con soporte de papel de filtro. En la utilización de medio sólido se debe considerar la concentración y pureza del agente gelificante (28).

#### **4.1.8.E.a pH**

El crecimiento de tejido *in vitro* es mejor en pH 5.0. Se recomienda este valor para formulaciones líquidas. En medios gelificados con agar, el pH debe ser ajustado a 5.8, pues en pH 5.0, ocurre la hidrólisis de polisacáridos. En pH 6.0-6.2 se verifica la precipitación de sales (28).

El pH se ajusta con NaOH o HCl 1 N o 0.1 N.

El pH varía durante el período de incubación.

#### **4.1.8.E.b Cantidad de medio**

Como regla general, cuanto menor es el explante, menor la cantidad de medio a ser utilizado. Entretanto, en cultivos establecidos, la tasa de crecimiento es directamente proporcional a la cantidad de medio, (28).

#### **4.1.8.E.c Condiciones de incubación**

Deben ser consideradas las exigencias de luz, temperatura y acumulación de productos tóxicos en el medio (28).

#### **4.1.8.E.d Luz**

No ocurre diferenciación de parte aérea en cultivos mantenidos en obscuridad. Las tres características: luz/intensidad, período de exposición y calidad, son fundamentales (28).

#### **4.1.8.E.e Intensidad luminosa**

La fase inicial de desenvolvimiento del explante *in vitro* requiere baja intensidad luminosa (1000

lux). En la fase de multiplicación de parte aérea las exigencias son de 1000 a 3000 lux. En el pretransplante, aclimatación, se recomienda de 3000 a 10000 lux. En esta última fase el propágulo se prepara para la fotosíntesis (28).

#### **4.1.8.E.f Calidad de la luz**

La calidad del espectro de la lámpara utilizada es de suma importancia en la iniciación de parte aérea y raíz en cultivo *in vitro*. Las lámparas recomendadas deben ser fluorescentes blanco-frías, gro-lux u otros tipos de lámparas con emisiones en las regiones del rojo (430 nm) y azul (660). Estas regiones del espectro influyen los procesos morfogénicos.

La región del azul es crítica para la inducción de la parte aérea. La iniciación de raíces adventicias es estimulada por luz roja. En cultivo de tejidos, cuando se persigue la multiplicación de plantas, las lámparas deben contener dosis adecuadas de luz azul y roja, pues ambas están involucradas en la iniciación de parte aérea y raíz.

Las lámparas fluorescentes deben ser cambiadas cada seis meses (28).

#### **4.1.8.E.g Fotoperíodo**

Las exigencias en fotoperíodo deben ser satisfechas. El inicio de determinado proceso morfogénico sólo se manifiesta cuando los cultivos están expuestos a una adecuada longitud del día. En general, 16 horas de iluminación y 1000 lux de intensidad luminosa, se utilizan para una gran cantidad de especies, utilizándose lámparas fluorescentes blanco frías o gro lux. La mantención de los cultivos bajo iluminación constante no es recomendable (28).

#### **4.1.8.E.h Temperatura**

Deben ser considerados los aspectos de fluctuación diurna versus temperatura constante. Las plantas en su habitat natural no se desenvuelven en temperatura constante. En cultivo de tejidos el uso de temperatura constante se debe a la mantención de diferentes especies cultivadas en la misma cámara de crecimiento. Algunos procesos morfogénicos exigen fluctuaciones diurnas de temperaturas. Las exigencias de temperatura para el desenvolvimiento de la planta en condiciones naturales deben ser consideradas como punto de partida para establecer un cultivo *in vitro* de las

especies en cuestión. Se debe tener siempre en mente que los requerimientos son un reflejo de lo que ocurre *in vivo* (28).

#### 4.1.8.E.i Intercambio gaseoso

Las plantas producen oxígeno, gas carbónico, aldehído y otros volátiles. En la naturaleza estos productos son disipados en la atmósfera. El etileno acelera la senescencia, abscisión foliar y maduración. El alcohol en altas concentraciones induce la formación de callo. El cultivo de tejidos es un sistema cerrado. La acumulación de CO<sub>2</sub> en altas concentraciones conduce a la anaerobiosis, fermentación y producción de alcoholes. En algunos casos, altas concentraciones de gas carbónico induce disturbios en el crecimiento y desarrollo de la planta *in vitro* (28).

#### 4.1.8.F Esterilización del medio de cultivo

##### 4.1.8.F.a Tiempo mínimo de autoclavado

El medio de cultivo de tejidos de plantas son generalmente esterilizados y autoclavados a 121 grados centígrados y 1.05 kilogramos por centímetro cuadrado de presión. El tiempo requerido para esterilización depende del volumen del medio en el recipiente, tal como se muestra en el cuadro 1 (24).

**Cuadro 1. Tiempo mínimo requerido para esterilización de diferentes volúmenes de medio.**

VOLUMEN DE MEDIO POR RECIPIENTE (ml)	TIEMPO MINIMO DE AUTOCLAVADO (minutos)
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

#### 4.1.8.F.b Desinfectantes comúnmente usados

La contaminación bacterial y por hongos es detrimental en el cultivo de tejidos, los explantes son esterilizados en soluciones desinfectantes, (24). Se presentan en el cuadro 2 los desinfectantes comúnmente usados, con su concentración y tiempo de exposición requeridos para preservar los explantes libres de contaminación microbial.

**Cuadro 2. Desinfectantes comúnmente usados en cultivo de tejidos de plantas.**

DESINFECTANTE	CONCENTRACION (%)	TIEMPO DE EXPOSICION (minutos)
Hipoclorito de calcio	9 - 10	5 - 30
Hipoclorito de sodio	0.5 - 5	5 - 30
Agua oxigenada	3 - 12	5 - 15
Alcohol etílico	70 - 95	5 - 15
Nitrato de plata	1	5 - 30
Cloruro de mercurio	0.1 - 1	2 - 10

#### 1.8.F.c Tween 20

El Tween 20 es un surfactante, utilizado para romper la tensión superficial y favorecer la penetración, se agrega a razón de una gota por 50 ml de desinfectante, el ingrediente activo es el polioxetilensorbitano monolaurato, con una densidad de 1.11 kg/l (13).

#### 4.1.8.G Consideraciones generales

La inclusión de fungicidas y bactericidas no es aconsejable, pudiendo tener efectos fitotóxicos para el explante (Thurston, 1979),(28).

Algunas veces, fallas en el establecimiento del cultivo *in vitro* se debe a los problemas con el medio de cultivo. Se debe tener cuidado con los componentes usados en mayor cantidad (agar, azúcar y agua), con el ajuste preciso de pH y con el tiempo de autoclavado. El medio, después de



esterilizado, debe ser retirado del autoclave para evitar el cocimiento del mismo.

El agar liquidifica a temperatura de 80 grados centígrados y solidifica a temperatura ambiente (28).

## **4.2 MARCO REFERENCIAL**

### **4.2.1 Ubicación del experimento**

El experimento fue realizado en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), el cual se encuentra ubicado en el kilómetro 21.5 de la carretera a Amatitlán, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala.

### **4.2.2 Bencilaminopurina**

La 6-bencilaminopurina es una aminopurina, derivada de la adenina. El nombre comercial es BA o BAP. Su peso molecular es de 225.26 y su fórmula química es  $C_{12}H_{11}N_5$ . Pertenece al grupo de las citocininas, y es muy utilizada en cultivo de tejidos, (25).

### **4.2.3 Descripción de clones**

#### **4.2.3.A Grand Nain o Gran Enano**

El clon Gran Enano es una planta semienana de gran vigor, con pseudotallo de aproximadamente 2.50 metros de altura, de color verde intenso y pigmentado de negro en condiciones de alta humedad, tiene un aspecto cónico y con una fuerte tendencia a inclinarse hacia el lado del racimo producido por el sobrepeso de este. Cuando hay suficiente humedad en el suelo, y está libre o protegido contra vientos, conserva esa posición sin llegar a quebrarse o desraizarse. Las hojas de este clon son cortas y amplias, el área foliar es muy extensa y desordenada, con peciolo muy cortos y robustos, los falsos entrenudos en la mayoría de las veces no se aprecian por estar tan unidos (6).

El racimo producido por éste clon es generalmente grande, de aspecto cilíndrico, las manos son muy compactas en todo el racimo, característica que le da al racimo un aspecto corto y grueso. Los dedos son más curvos que los del clon Valery, así mismo al madurarse el fruto, la pulpa es un poco

más acuosa y menos aromática que el Valery (6).

El corno es grande, con sistema radicular extenso, las raíces son gruesas y fuertes, lo que permite anclarse muy bien al suelo, debido a eso las plantas del clon Gran Enano son poco susceptibles al volcamiento, por lo que ha sustituido en las plantaciones comerciales de Guatemala al clon Valery, pero en los últimos años ha mostrado susceptibilidad a los cambios bruscos climáticos, presentando malformaciones en los dedos y problemas de fruta corta, lo que causa un efecto directo en la calidad de la fruta. Así mismo, es muy susceptible a nemátodos y a la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). (3)

#### 4.2.3.B Valery

Este clon desplazó al clon Gros Michel a finales de la década de los 60, debido a que las plantaciones comerciales más importantes del mundo (Gros Michel) fueron eliminadas por la enfermedad Mal de Panamá causada por (*Fusarium oxisporium*), aunque Valery es más susceptible a la Sigatoka, es controlable a un costo variable pero económico, en cambio para el Mal de Panamá, no hay control económico conocido, describe Soto (26).

El clon Valery es una planta semigigante, con pseudotallo pigmentado de negro, de 2.90 a 3.20 metros de altura, medianamente robusto, con hojas más largas y más angostas que las de Williams y Gran Enano, los peciolo son cortos y robustos pero más largos que los de Gran Enano. El racimo es largo, las primeras manos se encuentran más separadas unas de otras, los dedos se encuentran más o menos rectos en hilera interna y curvos en la externa.

Según Contreras (6), el período de emergencia de la planta hasta floración es de aproximadamente 168 días y de la floración a la madurez fisiológica es de 133 días y el ciclo total está comprendido en 302 días, aproximadamente.

El clon Valery es altamente resistente al Mal de Panamá, pero muy susceptible a nemátodos. En México es uno de los clones de mayor importancia comercial. Es una planta que, hasta cierto límite, tiene amplio poder de adaptación en variados tipos de suelos. Soporta con mayor ventaja períodos prolongados de sequía y excesos de humedad, características que representan su aceptable calidad y resistencia al manejo (6).

#### 4.2.3.C Williams

Este clon presenta una altura intermedia, siendo superior a Gran Enano y menor que Valery. Tolera temperaturas más bajas, se adapta bien a las regiones frescas y a la mayoría de los suelos. (3).

El clon Williams ha sido recientemente introducido a nuestro país, cubriendo áreas muy pequeñas en las plantaciones comerciales, mostrando muy buenas características en producción y calidad de la fruta.

Boche (3), determinó que el porcentaje de fruta de primera calidad en el clon Williams es superior al clon Gran Enano, así también, el índice de curvatura de dedos y distanciamiento entre manos es superior a Gran Enano, por lo que puede esperarse mejor aprovechamiento de la fruta debido a que estos dos factores influyen en la calidad para exportación.

#### 4.2.4 Micropropagación en musáceas

Lopez (18), en el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala, evaluó el efecto de diferentes niveles de BAP bajo dos métodos de micropropagación sobre los cultivares de plátano Cuernos y Hembra. Para su efecto, se utilizó el medio MS, el cual, para la fase de iniciación se suplementó con 1 mg/l de bencilaminopurina, 2.5 g/l de agar más 600 mg/l de carbón activado. Para la fase de multiplicación se utilizaron diferentes niveles de bencilaminopurina, siendo: 2, 3, 4 y 5 mg/l, adicionando al medio, además, 2.5 g/l de Phytigel como solidificador, bajo la metodología descrita por el Fondo Hondureño de Investigación Agrícola (FHIA) y la desarrollada en Taiwán, por el Instituto de Investigación del Banano. Sobresaliendo la metodología taiwanesa con un promedio de 11.5 brotes para el cultivar Cuernos, y nueve brotes para el cultivar Hembra. Con la metodología propuesta por el FHIA se obtuvo una media de 4 brotes para el cultivar Hembra y 4.5 para el Cuernos.

En Brasil, Alves (1) utilizó explantes de cinco milímetros cúbicos provenientes de yemas laterales de banano Prata (AAB). Fueron establecidos con 28 días de incubación en un medio MS suplementado con cinco miligramos por litro de BA. Posteriormente fueron trasladados a un nuevo medio de multiplicación con distintos niveles de BA (2.5, 5.0 y 7.5 mg/l). Fueron obtenidos de dos a cuatro brotes por cada explante utilizando 2.5 mg/l de BA. Los brotes fueron inducidos a enraizamiento con la mitad de la concentración de sales minerales del medio MS, complementado con 0.1, 1.0 y 5.0 mg/l de ácido indolbutírico (AIB) y 0.25% de carbón activado. Los enraizamientos

ocurrieron después de siete días con cinco miligramos por litro de AIB.

Ramirez (20), micropropagó ápices meristemáticos de dos cultivares de plátano, el FHIA-21 y el Criollo. Para el efecto utilizó el medio de iniciación MS con un miligramo por litro de BA, más 600 mg/l de carbón activado. En la etapa de multiplicación aumentó el nivel de BA a cinco miligramos por litro y para el medio de enraizamiento eliminó los reguladores, siempre utilizando medio MS y solamente adicionó 600 mg/l de carbón activado. Los resultados que obtuvo fueron de 5 brotes para el cultivar FHIA-21 y 4.5 brotes por explante para el Criollo.

Los investigadores Chen y Lin (31) obtuvieron plantas de banano Giant Cavendish, originadas de brotes adventicios, utilizando el mismo medio descrito por Lee y Hwang, solo que cambiaron la citocinina, ya que en lugar de BA utilizaron dos miligramos por litro de cinetina. Alrededor de cinco a diez brotes proliferaron por cada explante, después de seis a ocho semanas de incubación a 25 grados centígrados.

Ovalle (19), micropropagó plantas de plátano del clon Criollo Amarillo. Dicha investigación fue realizada en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, ubicado en Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala. Para su efecto, se utilizó el medio básico MS complementado con diferentes niveles de BAP, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0 y como testigo 0 mg/l de BAP. Bajo las condiciones en que se trabajó se obtuvo una tasa de proliferación de 2.64 brotes con el nivel de 3.0 mg/l de BAP.

Vuysteke (32), micropropagó ápices meristemáticos del cultivar de banano "Nzizi". Para el efecto utilizó los siguientes tratamientos: 4.5, 11.26, 22.53 mg/l de BAP, estableciendo los explantes intacto, aplicando un cuarto tratamiento con 4.5 mg/l de BAP, con la diferencia de que se hirió longitudinalmente, rompiendo la dominancia apical. Obteniendo los siguientes resultados, 5.7, 14.9, 16.7 y 16.7 brotes por explante.

## 5. OBJETIVOS

### General

Determinar cual es el nivel de bencilaminopurina (BAP) que produce el mejor efecto sobre las principales variables de respuesta para la propagación *in vitro* de los clones de banano Gran Enano, Valery y Williams.

### Específicos

- a) Cuantificar el número de brotes inducidos por diferentes niveles de BAP, para los tres clones en estudio.
- b) Medir la altura de brotes inducidos por diferentes niveles de BAP, para los tres clones en estudio.
- c) Establecer el vigor de brotes inducidos por diferentes niveles de BAP, para los tres clones en estudio.

## **6. HIPOTESIS**

- a) Al menos un nivel de BAP induce una mayor proliferación de brotes para cada clon en estudio.
- b) Al menos un nivel de BAP induce una mayor altura de brotes para cada clon en estudio.
- c) Al menos un nivel de BAP induce un mayor vigor de brotes para cada clon en estudio.

## **7. MATERIALES Y METODOS**

### **7.1. Localización del experimento**

La presente investigación fue realizada en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en el kilómetro 21.5 de la carretera a Amatitlán, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala.

### **7.2. Material experimental**

Para el efecto de la investigación se seleccionó en el campo el material vegetal de los clones Gran Enano, Valery y Williams, procedentes de la zona bananera del norte del país, en el departamento de Izabal.

### **7.3. Equipo e insumos**

- Pala
- Cuchillo
- Jabón neutral
- Beaker
- Pulverizador
- Hipoclorito de sodio al 5.2 y 3%
- Agua destilada estéril
- Tubos de cultivo de 25 x 150 mm
- Recipientes de cultivo tipo Magenta<sup>R</sup>
- Reactivos químicos
- Cajas petri de aluminio
- Dos juegos de pinzas
- Dos juegos de mango y hoja de bisturí
- Potenciómetro
- Autoclave
- Balanza analítica

- Magnetos
- Agitador magnético
- Dispensador manual de medios
- Cámara de flujo laminar
- Mechero
- Pipetas serológicas

#### **7.4. Niveles de bencilaminopurina evaluados**

Se utilizó como medio básico el de Murashige y Skoog (MS), con niveles de bencilaminopurina de tres, cuatro, cinco, seis y siete miligramos de BAP por litro.

#### **7.5. Tratamientos**

Los tratamientos fueron determinados por los cinco niveles de BAP, los tratamientos evaluados fueron cinco, con 10 repeticiones cada uno, sumando un total de 50 unidades experimentales por clon. Cada clon fue trabajado en un experimento separado. Ordenándose como se observa en el cuadro 3.



**Cuadro 3. Tratamientos considerados en la investigación.**

NUMERO DE TRATAMIENTO	CLON	BAP (mg/l)
1	Williams	3
2	Williams	4
3	Williams	5
4	Williams	6
5	Williams	7
1	Valery	3
2	Valery	4
3	Valery	5
4	Valery	6
5	Valery	7
1	Gran Enano	3
2	Gran Enano	4
3	Gran Enano	5
4	Gran Enano	6
5	Gran Enano	7

### 7.6. Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó en la investigación fue bloques al azar, cada bloque lo constituyó un día de trabajo, equivalente a una repetición por día, durante diez días.

### 7.7. Unidad Experimental

La unidad experimental la constituyó un recipiente de cultivo tipo Magenta de 6.25 x 6.25 x 10 centímetros, en el cual se pusieron 50 mililitros de medio de multiplicación.

### 7.8. Variables de respuesta

Para cada clon, como un experimento separado, se evaluaron las siguientes variables:

### 7.8.1. Número de brotes

Para la toma de datos se realizó un subcultivo cada 21 días, contando el número de brotes total por subcultivo, hasta subcultivar tres veces el material. Para obtener el número de brotes del subcultivo uno, se dividió el total de brotes por unidad experimental de cada tratamiento entre explantes iniciales por unidad experimental de cada tratamiento; para obtener el número de brotes del subcultivo dos, se dividió el total de brotes por unidad experimental de cada tratamiento entre el total de brotes por unidad experimental de cada tratamiento del subcultivo uno; para obtener el número de brotes del subcultivo 3, se dividió el total de brotes por unidad experimental de cada tratamiento entre el total de brotes por unidad experimental de cada tratamiento del subcultivo dos. Para determinar el número de brotes por tratamiento de cada clon, se sumaron los valores obtenidos por subcultivo y se dividieron entre tres.

### 7.8.2. Altura de brote

En cada subcultivo se midió la altura por brote en cada unidad experimental de tratamiento, para establecer la relación entre altura y número de brotes. Para el efecto se midió de la base del brote a la unión de las hojas superiores.

### 7.8.3. Vigor de brote

En cada subcultivo se observó el vigor de brote de cada unidad experimental por tratamiento, para determinar la relación entre número, altura y vigor de brote. Esta variable se reportó a criterio personal de acuerdo a la siguiente escala:

VIGOR DE BROTE	VALOR EN LA ESCALA
Débil	1
Vigoroso	2
Muy vigoroso	3

## **7.9. Manejo del experimento**

En esta investigación se evaluaron cinco niveles de BAP en los clones Gran Enano, Valery y Williams, cada clon fue evaluado independientemente, en cada clon se realizó la fase de iniciación, previo a montar el ensayo en sí, a manera de eliminar los riesgos de perder datos en su establecimiento a causa de contaminación por bacterias endógenas presentes en el material vegetal procedente del campo.

### **7.9.1. Selección del material vegetal**

En el campo se seleccionó el material vegetal que se utilizó como explante, que consistió en obtener preferentemente hijos de espada, con una altura entre 50 y 70 centímetros, obtenidos de cormos de plantas madre vigorosas que no mostraron síntomas de enfermedad. Una vez se recolectó el material, se procedió a eliminar parte del pseudotallo y a su traslado al laboratorio, tratando de mantenerlo en condición fresca.

### **7.9.2. Desinfección del material experimental**

Se procedió a lavar los cormos con agua corriente y jabón neutral y a eliminar las raíces. Posteriormente se eliminaron las vainas foliares hasta lograr reducir los cormos a dimensiones de cinco centímetros de diámetro por cinco centímetros de largo, ésta actividad se realizó fuera del laboratorio. El material obtenido se ingresó al laboratorio en donde se continuó con el proceso de desinfección en la forma siguiente:

- Inmersión de los explantes, durante 15 minutos, con agitación constante, en cloro comercial (5.2% de hipoclorito de sodio), al cual se le adicionaron gotas de Tween 20, a razón de una gota por cada 50 ml de cloro.
- Con la finalidad de eliminar los residuos de cloro, se procedió a lavar con agua destilada estéril, tres veces consecutivas, por un tiempo de cinco minutos, con agitación constante.

Bajo todas las medidas de asepsia, se introdujo el material a la cámara de flujo laminar, donde se procedió a eliminar otras capas, hasta lograr una dimensión del explante de dos centímetros de diámetro por dos centímetros de largo, conteniendo parte del corno, así también vainas foliares

envolventes del meristemo. Finalmente, se sometió a una segunda desinfección dentro de la cámara de flujo laminar, de la siguiente manera:

- Inmersión en hipoclorito de sodio al 3%, durante 10 minutos, con agitación constante.
- Tres lavadas con agua destilada estéril.

Una vez desinfectado el material, se colocó el explante sobre una caja petri de aluminio y, con el uso de bisturí y pinza, se procedió a remover capa por capa del explante, tomando las medidas de asepsia, los explantes fueron reducidos para su siembra hasta una porción de un centímetro cúbico.

Cada uno de los ápices, conforme fueron llevados a las dimensiones requeridas, se sembraron en el medio de iniciación que a continuación se detalla:

### **7.9.3. Fase de iniciación**

Los ápices se sembraron en tubos de cultivo conteniendo el medio basal de Murashige y Skoog (1962), suplementado con dos miligramos de BAP por litro, más dos gramos de Phytigel<sup>R</sup> por litro.

Los explantes fueron incubados en el cuarto de crecimiento bajo las siguientes condiciones:

- Intensidad lumínica: 1,000 lux.
- Fotoperíodo: 16 horas de luz por 8 de oscuridad.
- Temperatura:  $25 \pm 2$  grados centígrados.

### **7.9.4. Fase de multiplicación**

Después de 21 días, los ápices meristemáticos presentaron una coloración verde, aumentaron de diámetro basal y presentaron dominancia apical. Dichas características indicaban que estaban apropiados para cortarse longitudinalmente en dos. Previo al corte simétrico, se retiró una capa del explante, cada parte fue tomada como un nuevo explante, que se sembró en un medio basal Murashige y Skoog (1962), suplementado con diferentes niveles de bencilaminopurina (3, 4, 5, 6 y 7 mg/l) y dos gramos de gelificante Phytigel<sup>R</sup> por litro.

Las condiciones de incubación en el cuarto de crecimiento fueron las siguientes:

- Intensidad lumínica: 3,000 lux.
- Temperatura:  $25 \pm 2$  grados centígrados.
- Fotoperíodo: 16 horas luz y 8 de oscuridad.

Posteriormente, se hicieron tres subcultivos, realizados cada 21 días. Al término de cada subcultivo se procedió a la toma de datos y trasladar los explantes en grupos de 2 a 3 brotes a un medio fresco de Murashige y Skoog (1962) con igual concentración de BAP al que tenían en el medio del cual provenían.

#### 7.9.5. Toma de datos

Cada 21 días, a partir de la siembra en el medio de multiplicación, se anotó, para cada unidad experimental, el número y altura de brote, así como también su vigor.

#### 7.9.6. Análisis estadístico

El análisis de los datos de las variables número de brotes y altura de brotes para cada clon se hizo utilizando el modelo correspondiente al diseño bloques al azar, modelo que a continuación se presenta:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Donde:

- $Y_{ij}$  = Variable respuesta de la  $ij$ -ésima unidad experimental
- $\mu$  = Efecto de la media general
- $T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel de bencilaminopurina
- $B_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo bloque
- $E_{ij}$  = Error experimental asociado a la  $ij$ -ésima unidad experimental

En el caso de la variable vigor de brotes se realizó un análisis de varianza de dos clasificaciones por rango de Friedman. Para la comparación de medias de los tratamientos, se utilizó la prueba de Duncan al 10%.

Para cada uno de los clones en el caso de la variable número de brotes se practicó una regresión cuadrática que predice el tratamiento con el cual se obtiene el mayor número de brotes por explante.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSION

### 8.1. CLON GRAN ENANO

#### 8.1.1. Número de brotes

El análisis de varianza para la variable número de brotes no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos aplicados (cuadro 4), lo que indica que los diferentes niveles evaluados de bencilaminopurina (BAP), afectaron similarmente en cuanto a la brotación. El clon Gran Enano para ser micropropagado se puede utilizar cualquiera de los tratamientos evaluados. El tratamiento con 4 mg/l de BAP presentó el mejor comportamiento en cuanto al número de brotes por subcultivo (3.59), 0.71 brotes por encima del tratamiento con 6 mg/l de BAP (2.88), el cual se comportó deficientemente en base al resto de tratamientos en relación a la variable número de brotes por explante, según las medias aritméticas, los tratamientos con 7, 5, 3 mg/l de BAP, se encuentran por debajo del tratamiento con 4 mg/l de BAP, en ese mismo orden, con diferencias de 0.03, 0.22 y 0.5 brotes, respectivamente.

**CUADRO 4. Análisis de varianza para la variable número de brotes para el clon Gran Enano.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloques	9	5.00	0.55	0.82	0.5979 ns
Tratamientos	4	3.75	0.94	1.39	0.2562 ns
Error	36	24.27	0.67		
Total	49	33.02			

Fc = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = No existe diferencia significativa.

En el cuadro 5 se presentan las medias para la variable número de brotes por cada tratamiento de BAP. El número de brotes obtenidos por explante fue satisfactorio para el clon Gran Enano, ya que de acuerdo con la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) (8), la tasa de multiplicación para otros cultivares de banano y plátano oscila entre dos a cuatro brotes por explante, utilizándose una concentración de 5 mg/l de BAP. Con el clon Gran Enano se obtuvo

3.59 brotes por explante, subcultivado con el tratamiento de 4 mg/l de BAP, obteniéndose buen número de brotes por subcultivo y con una concentración de BAP por debajo de la utilizada por la FHIA, ya que se logró reducir ésta, en un 1 mg/l de BAP, característica que le da relevancia a los resultados de la investigación, ya que la concentración de bencilaminopurina está directamente relacionada con el grado de mutabilidad posible a darse.

En la figura 1 se puede observar la tendencia a seguir por los tratamientos evaluados, con respecto al número de brotes obtenidos por explante y en cada subcultivo por nivel de BAP, donde se puede apreciar que con 3 a 4 mg/l de BAP, presentó un incremento en el número de brotes, en los dos posteriores incrementos de la concentración de BAP, 5 y 6 mg/l, se observó una declinación en el número de brotes, el cual finalmente tendió a subir nuevamente con la aplicación del tratamiento con 7 mg/l de BAP. De acuerdo con los resultados obtenidos, con base en los niveles evaluados, el clon de banano Gran Enano, no tiene una concentración adecuada, ya que según el análisis de varianza practicado, todos los tratamientos son iguales, pero con base en las medias, el tratamiento con 4 mg/l de BAP, obtuvo una respuesta, sobre la cual el número de brotes no pudo ser incrementado, con la utilización de concentraciones mayores a ésta.

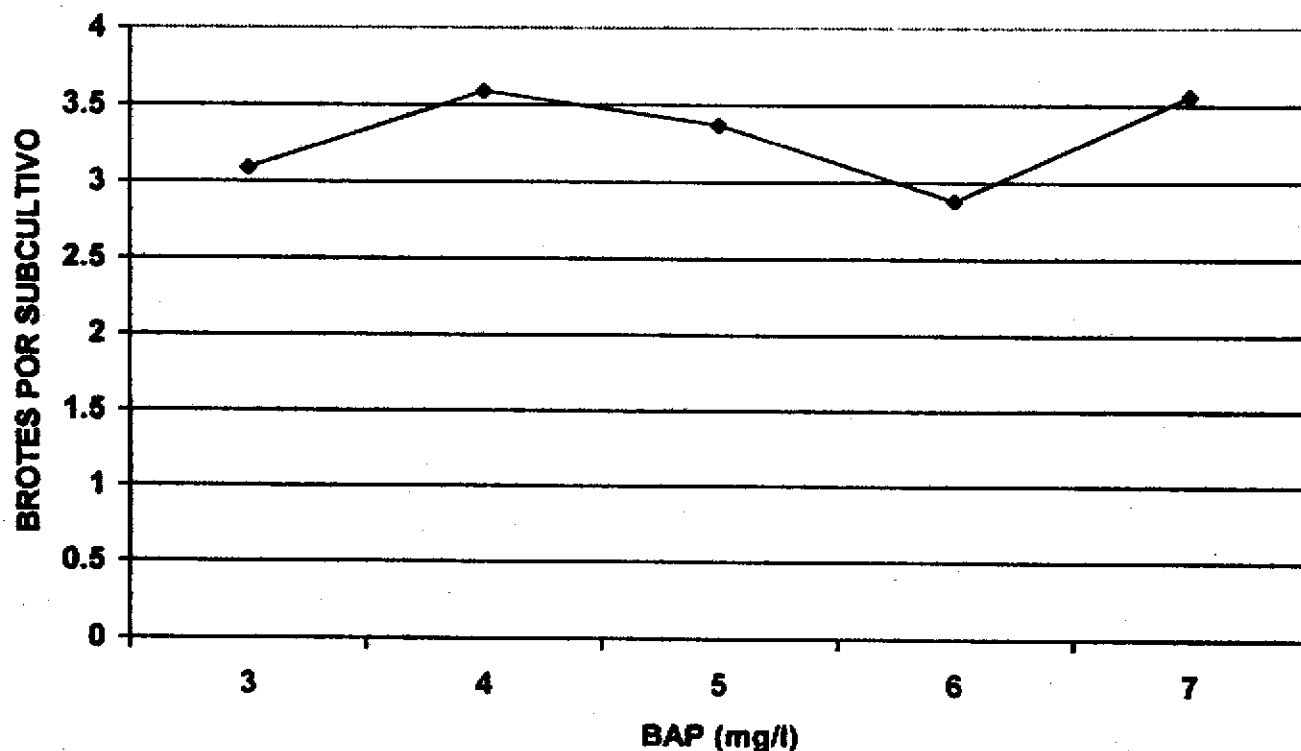
**Cuadro 5. Medias para la variable número de brotes para el clon Gran Enano.**

BAP (mg/l)	NUMERO DE BROTES
4	3.59
7	3.56
5	3.37
3	3.09
6	2.88

Si analizamos el número de brotes por explante de los tratamientos con 4 y 3 mg/l de BAP, la diferencia de 0.5 brotes, estadísticamente no es significativa. El cuadro 6 nos permite visualizar la importancia del número de brotes por nivel de BAP, donde, se proyecta teóricamente, del cuarto hasta el octavo subcultivo, ya que dentro de la investigación únicamente se trabajaron los tres primeros subcultivos, este cuadro se elaboró considerando hasta un octavo subcultivo, ya que son



los que normalmente se realizan en la micropropagación masiva de banano, a partir de un explante inicial.



**Figura 1. Número de brotes por subcultivo para el clon Gran Enano, según nivel de BAP.**  
Nota: Los subcultivos se realizaron cada 21 días.

**Cuadro 6. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Gran Enano.**

BAP (mg/l)	TASA	SUBC. 1	SUBC. 2	SUBC. 3	SUBC. 4	SUBC. 5	SUBC. 6	SUBC. 7	SUBC. 8
4	3.59	3.59	12.94	46.57	168	603	2170	7886	28086
7	3.56	3.56	12.72	45.38	162	576	2080	7347	26287
5	3.37	3.37	11.39	38.44	130	438	1478	4998	16934
3	3.09	3.09	9.69	29.73	92	285	884	2739	8486
6	2.88	2.88	8.34	24.08	70	201	560	1676	4839

SUBC. = subcultivo

El análisis de varianza de la regresión entre los niveles de bencilaminopurina, con 3, 4 y 5 mg/l de BAP, y su respectivo número de brotes, mostró que existe alta significancia, tanto para el componente lineal como para el cuadrático (cuadro 7), lo cual nos indica que existe un modelo que ajusta una regresión cuadrática. El modelo encontrado para la regresión cuadrática, de acuerdo con el cuadro 8, es el siguiente:

$$\text{Número de brotes} = 1.619\text{BAP} - 0.187\text{BAP}^2$$

**Cuadro 7. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
<b>Modelo</b>	2	339.10	169.55	209.57	0.0001**
<b>Lineal</b>	1	329.01	329.01	406.66	0.0001**
<b>Cuadrático</b>	1	10.09	10.09	12.47	0.0015**
<b>Error</b>	28	22.65	0.81		
<b>Total no corregido</b>	30	361.75			

R-Cuadrado= 0.9374      C.V.= 26.79

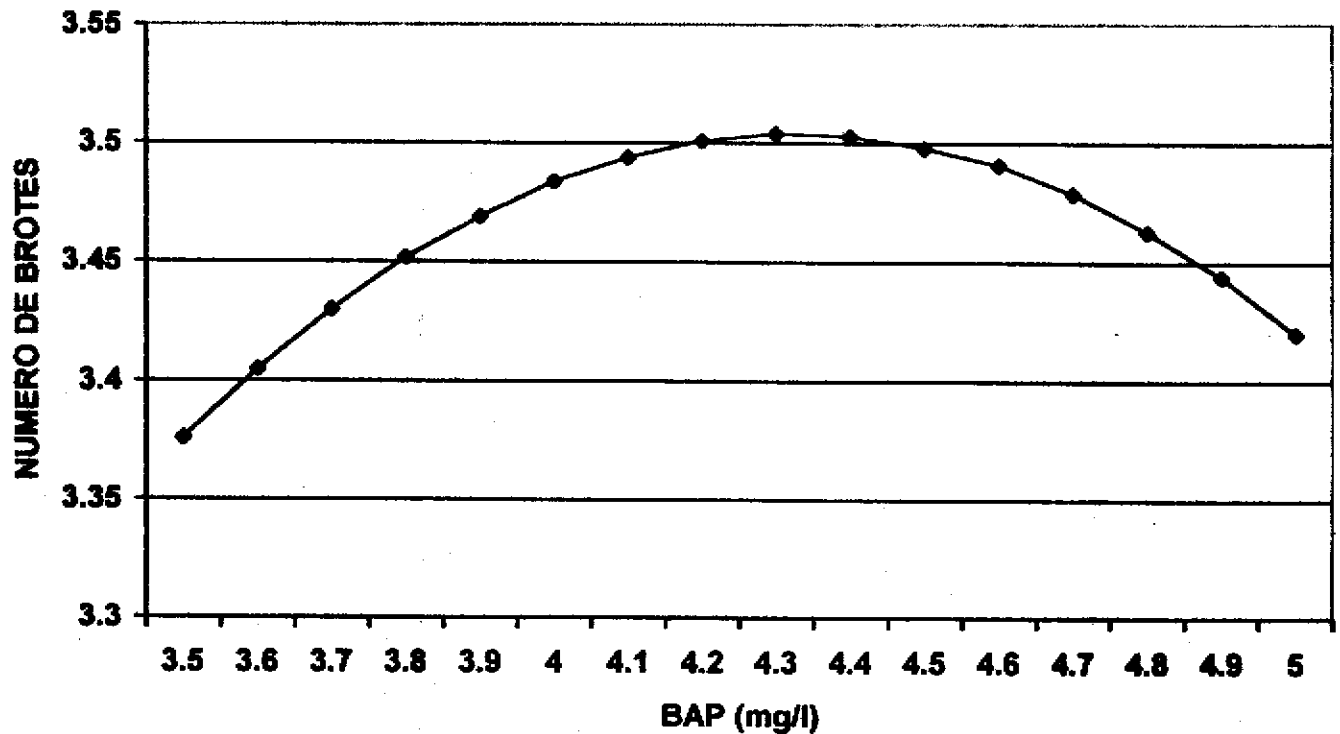
\*\* = Existen diferencias altamente significativas

**Cuadro 8. Parámetros estimados y pruebas de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano.**

Parámetro	Estimado	T Para Ho: Parámetro=0	Pr> valor de T absoluto	Error Estándar del Estimado
<b>Lineal</b>	1.618672912	6.97	0.0001	0.23216221
<b>Cuadrático</b>	-0.186918334	-3.53	0.0015	0.05292843

Según la regresión cuadrática practicada entre los niveles de BAP y la variable número de brotes, podemos observar la tendencia a seguir en el gráfico de líneas (figura 2), prediciéndose que el tratamiento con 4.3 mg/l de BAP es con el que se obtiene el mayor número de brotes, con

3.51 brotes por explante.



**Figura 2. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano.**

### 8.1.2. Altura de brotes

El comportamiento de los tratamientos respecto a la variable altura de brotes fue muy similar, es decir, no hay efecto de los tratamientos en lo que respecta a esta variable. Estadísticamente los cinco tratamientos son iguales, debido a que no hubo diferencia significativa para tratamientos en el análisis de varianza (cuadro 9) practicado a los datos obtenidos de la variable altura de brotes.

**Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable altura de brotes para el clon Gran Enano.**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloque	9	2.10	0.23	1.42	0.2169 <i>ns</i>
Tratamientos	4	0.63	0.15	0.94	0.4512 <i>ns</i>
Error	36	6.10	0.16		
Total	49	8.80			

Fc = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

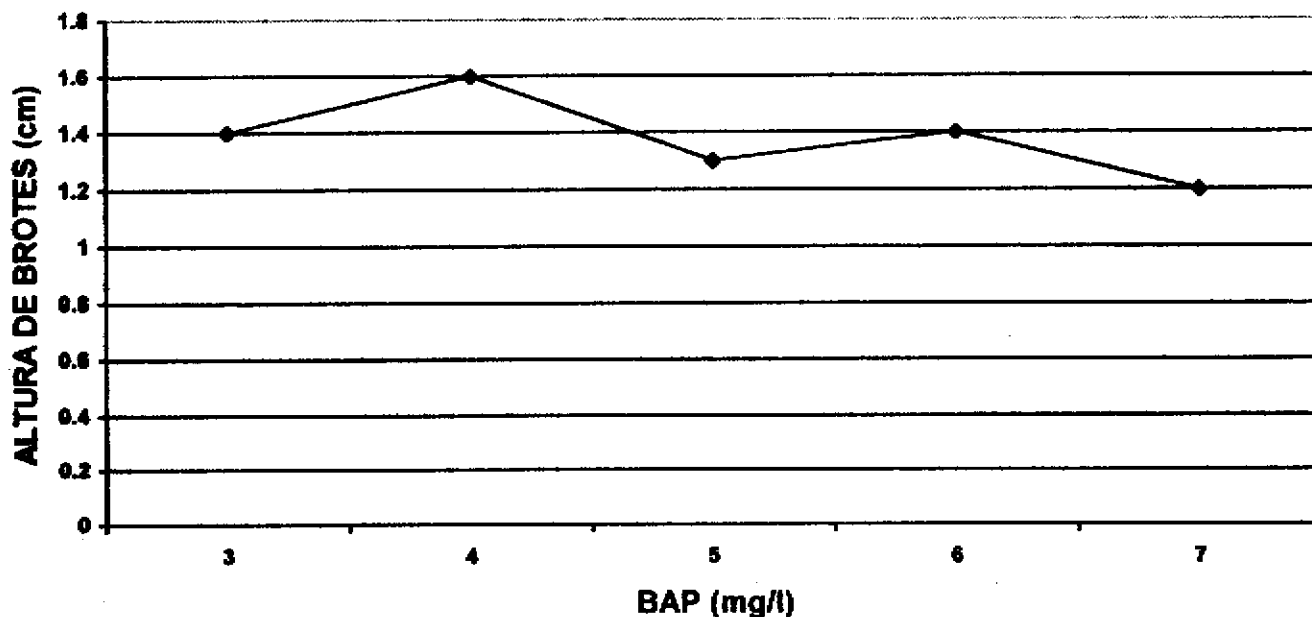
ns = No existe diferencia significativa.

En el cuadro 10 se presentan las medias de la variable altura de brotes en función de los distintos tratamientos aplicados. La altura de brote que se obtuvo en los tratamientos aplicados en la fase de multiplicación del clon Gran Enano es baja, comparativamente con los resultados obtenidos por Ramirez (20), en micropropagación de plátano, evaluando los materiales FHIA 21 y Criollo, con la concentración de BAP que normalmente se utiliza a nivel comercial, 5 mg/l de BAP, citando 2.8 y 3.9 centímetros, respectivamente. El clon Gran Enano alcanzó una altura de 1.6 centímetros con el tratamiento 4 mg/l de BAP, aparentemente, resultan ser mejores los resultados obtenidos con los materiales FHIA 21 y criollo, con la diferencia de que en el clon Gran Enano dicha altura se obtuvo con una concentración de 1 mg/l de BAP menor a la utilizada por éstos, característica que le da relevancia al estudio, puesto que de esta manera reducimos en cierta manera las probabilidades de apareamiento de mutantes y también los costos en la utilización del regulador de crecimiento. La altura de brotes, es una variable que no representa mayor importancia dentro del estudio, en la fase de multiplicación, puesto que la podemos mejorar dentro de la fase nueve, la cual consiste en reducir la concentración de bencilaminopurina a 2 mg/l, a manera de disminuir la fase multiplicativa de brotes e inducir mayor desarrollo en altura y así poder prepararlas para la fase de enraizamiento donde entran a funcionar las auxinas.

**Cuadro 10. Medias para la variable altura de brotes para el clon Gran Enano.**

<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ALTURA DE BROTES (cm)</b>
4	1.6
6	1.4
3	1.4
5	1.3
7	1.2

En la figura 3 se puede observar la tendencia a seguir por la variable altura de brotes, según los diferentes niveles de bencilaminopurina evaluados. Dicho gráfico no manifiesta mayor variación con la aplicación de los tratamientos 3 y 4 mg/l de BAP, presentando un leve incremento en altura, el cual tiende a bajar con la concentración 5 mg/l de BAP, un posterior incremento en la concentración de BAP a 6 mg/l, produjo igual altura de brote que el tratamiento con 3 mg/l de BAP, para finalmente ponerse por debajo de todos los tratamientos con la concentración de 7 mg/l de BAP. La tendencia general que se observa en el gráfico es que a mayor cantidad de BAP aplicada menor es la altura de brotes.



**Figura 3. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Gran Enano, según nivel de BAP**

### 8.1.3. Vigor de brote

La BAP presentó un buen efecto sobre el comportamiento de la variable vigorosidad, obteniendo en todos los tratamientos aplicados, 5, 6, 4, 3 y 7 mg/l de BAP, brotes con apariencia vigorosa, debido a que obtuvieron los siguientes valores dentro de la escala de vigor, 3.4, 3.15, 3.00, 2.95 y 2.50, respectivamente, situándolos entre vigorosos a muy vigorosos.

Mediante el análisis de varianza por rango de Friedman realizado (cuadro 11) se puede establecer que no hay diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, lo cual nos indica que los mismos presentan valores similares, estadísticamente. En el cuadro 12 se presentan las medias de tratamientos para la variable vigor de brotes en función de los distintos tratamientos.

**Cuadro 11. Análisis de varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brote para el clon Gran Enano.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F <sub>c</sub>	Pr > F <sub>c</sub>
Bloque	9	0.00	0.00	0.00	1.00 <sub>ns</sub>
Tratamientos	4	4.35	1.08	0.54	0.71 <sub>ns</sub>
Error	36	73.15	2.03		
Total	49	77.50			

F<sub>c</sub> = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = No existe diferencia significativa.

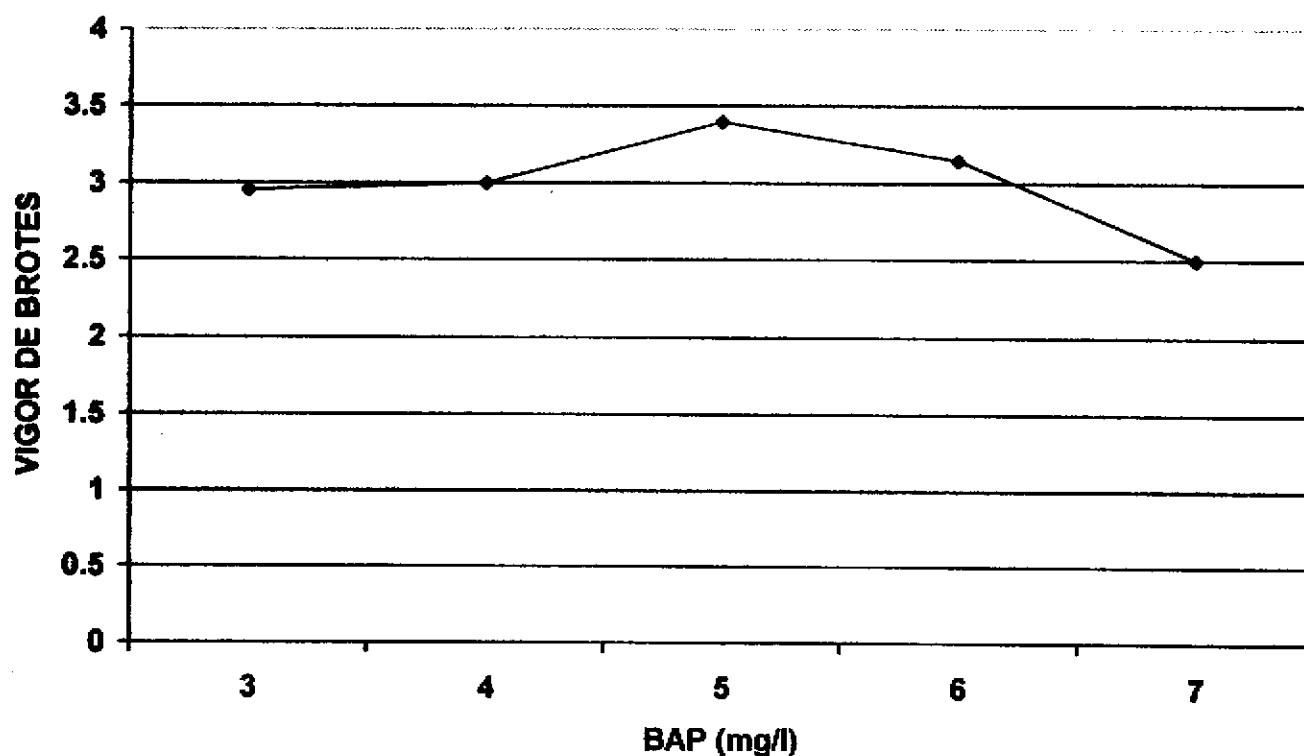
En términos generales se puede decir que todos los tratamientos fueron satisfactorios en cuanto a su vigor, para los diferentes niveles de BAP, característica que adquiere relevancia a nivel comercial en la micropropagación masiva del clon Gran Enano, ya que es posible obtener un lote de brotes atractivos con calidad uniforme.

En la figura 4 se presenta el comportamiento de la variable vigor de brotes en función de los distintos niveles de BAP aplicados, el incremento en la concentración de BAP a 4 mg/l de BAP produjo el mismo efecto que 3 mg/l de BAP, posteriormente se observó una leve tendencia a mejorar el vigor de brotes con el tratamiento 5 mg/l de BAP, vigor que se afecta con la aplicación del tratamiento 6 mg/l de BAP y, más aún, se ve afectado bruscamente con el incremento de la concentración a 7 mg/l de BAP.

**Cuadro 12. Medias para la variable vigor de brote para el clon Gran Enano.**

BAP (mg/l)	VIGOR DE BROTES
5	3.40
6	3.15
3	2.95
4	3.00
7	2.50

\* Escala de vigor de brotes: 1-Débil 2-vigoroso 3-muy vigoroso



**Figura 4. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Gran Enano, según nivel de BAP.**

NOTA: 1-44ml 2-vigoroso 3-muy vigoroso

#### 8.1.4. Relación entre número, altura y vigor de brotes

Según el análisis estadístico que se le realizó a cada una de las variables de respuesta, todos los tratamientos tienen un efecto igual sobre el comportamiento de las mismas, en vista de ello, se debe optar por elegir el tratamiento que represente menos costo según los promedios de tratamientos. El tratamiento con 4 mg/l de BAP, fue el que se comportó mejor, con respecto a la variable número de brotes (3.59), característica muy importante para el estudio del clon, en cuanto a vigor obtuvo resultados de vigoroso, es decir, presentó un vigor normal, en relación a la altura de brotes sobresalió ante los demás tratamientos. Debido a que el nivel de BAP utilizado en este tratamiento es menor que el utilizado normalmente en forma comercial (5 mg/l de BAP), es una buena alternativa para propagar este clon, ya que no sólo produce una mayor tasa de multiplicación sino que también, probablemente, una menor tasa de mutaciones al cabo de ocho subcultivos, debido a que existe una relación entre el nivel de BAP, número de subcultivos y tasa



de mutaciones. Cuanto mayor es el nivel de BAP y el número de subcultivos, mayor es la tasa de mutaciones. Con el tratamiento de 7 mg/l de BAP se observó que presentó un valor alto en cuanto a su número de brotes y bajo en relación a vigor y altura de brote, en relación a esta última variable no se le resta importancia pero no es tan determinante en los resultados, ya que este parámetro se puede mejorar en la fase de enraizamiento. El tratamiento con 6 mg/l de BAP obtuvo una buena altura de brote, así también su vigor es aceptable, con una diferencia de 0.71 brotes del tratamiento con 4 mg de BAP por litro, se califica como bueno, con la única salvedad, de que 0.71 brotes en cientos de explantes por subcultivo, son miles de plántulas de banano (cuadro 6). Posiblemente tenga un mayor porcentaje de mutaciones que el tratamiento con 4 mg/l de BAP.

## 8.2. CLON WILLIAMS

### 8.2.1. Número de brotes

La variable número de brotes fue objeto de un análisis de varianza a partir de los registros obtenidos en la toma de datos (cuadro 13), definiendo el efecto de los cinco tratamientos como similares, ya que no mostró significancia con respecto al nivel establecido de 5%. La bencilaminopurina (BAP), tuvo efecto en la proliferación de brotes. Según las medias de tratamientos para la variable número de brotes (cuadro 14), el tratamiento 6 mg/l de BAP alcanzó el más alto valor en la inducción de brotes, con 4.25 brotes, así mismo, se presenta, en orden descendente, el comportamiento de los tratamientos 7, 4, 3 y 5 mg/l de BAP con 3.58, 3.49, 3.44, y 3.38 brotes, respectivamente. La diferencia entre los tratamientos 6 y 5 mg/l de BAP es de 0.87 brotes, considerados estadísticamente iguales, pero si observamos el cuadro 15, el cual muestra una progresión del número de brotes por nivel de BAP, donde se proyectó teóricamente, del cuarto al octavo subcultivo, ya que la investigación, comprende los primeros tres subcultivos, considerando en total, los ocho subcultivos que normalmente se realizan a nivel comercial, partiendo de un explante inicial en la micropropagación de banano, tenemos que al final de seis meses, subcultivando cada 21 días, obtendremos una diferencia de 90,452 brotes entre los tratamientos 6 y 5 mg/l de BAP, según la progresión y sin considerar la contaminación.

**Cuadro 13. Análisis de varianza para la variable número de brotes para el clon Williams.**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloques	9	7.88	0.87	0.83	0.5922 ns
Tratamientos	4	5.05	1.26	1.20	0.3281 ns
Error	36	37.92	1.05		
Total	49	50.85			

Fc = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = no existe diferencias significativas.

El número de brotes alcanzados con los diferentes tratamientos para el clon Williams es

satisfactorio, ya que de acuerdo con Ovalle (19), la tasa de multiplicación para el cultivar de plátano Criollo Amarillo es 2.64 brotes por explante con una concentración de 3 mg/l de BAP.

A pesar de que el análisis de varianza no mostró significancia entre tratamientos, la bencilaminopurina tuvo efecto en la inducción de brotes y según las medias de tratamientos, con el clon Williams se alcanzó un máximo en relación al número de brotes con el tratamiento 6 mg/l de BAP, pero con base en la experiencia obtenida el Laboratorio Agrícola Comercial Xantogua<sup>1</sup>, recomienda que la concentración de la BAP a utilizar no debe exceder de 5 mg/l, debido a que niveles superiores a éste, incrementan las probabilidades de incidir en un mayor número de plántulas mutantes, por tal razón, el tratamiento con 4 mg/l de BAP, se considera como la mejor alternativa para uso inmediato, ya que produjo 3.49 brotes por explante, por encima de la tasa de multiplicación que alcanzó Ovalle con el clon Criollo Amarillo y con una concentración menor a la utilizada normalmente.

**Cuadro 14. Medias para la variable número de brotes para el clon Williams.**

BAP (mg/l)	NUMERO DE BROTES
6	4.25
7	3.58
4	3.49
3	3.44
5	3.38

1

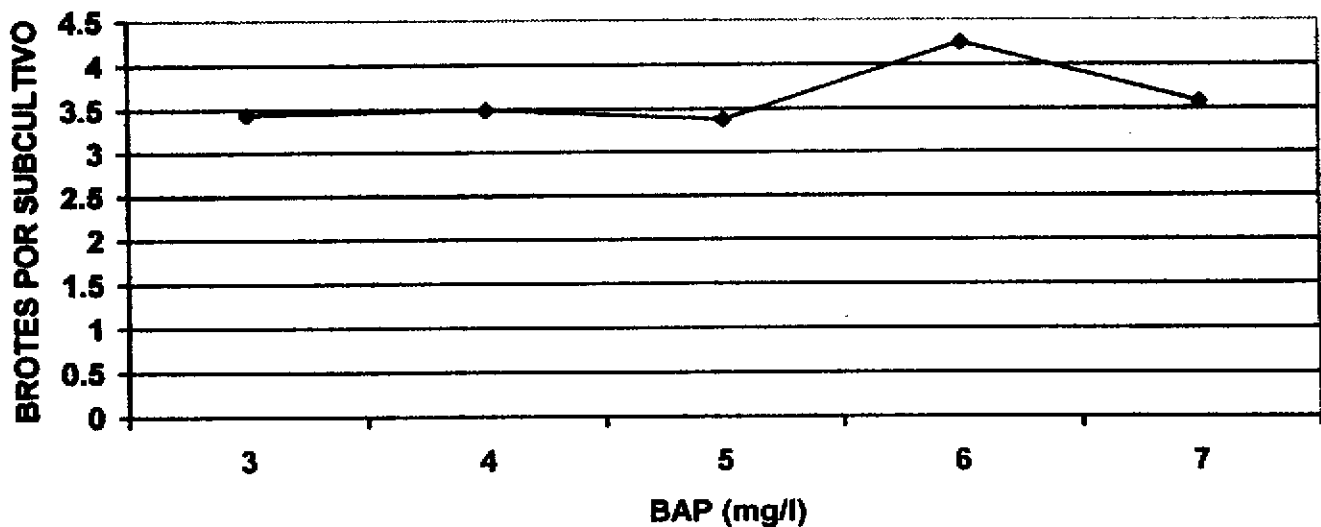
<sup>1</sup> Entrevista personal con encargados del Laboratorio Agrícola Comercial Xantogua.

**Cuadro 15. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Williams.**

BAP (mg/l)	Tasa	Subc. 1	Subc. 2	Subc. 3	Subc. 4	Subc. 5	Subc. 6	Subc. 7	Subc. 8
8	4.25	4.25	18.12	77.14	328	1398	6961	25335	107862
7	3.58	3.58	12.86	46.22	186	595	2137	7670	27529
4	3.49	3.49	12.18	42.60	148	516	1807	6306	22009
3	3.44	3.44	11.89	41.02	142	488	1683	5908	20934
5	3.38	3.38	11.48	38.92	132	447	1515	5135	17401

**Subc.= Subcultivo**

En la figura 5, el gráfico de líneas presenta la tendencia a seguir por la variable número de brotes, según los niveles de BAP aplicados, observándose con la aplicación del tratamiento 4 mg/l de BAP, un leve incremento en el número de brotes, a partir del obtenido con el tratamiento 3 mg/l de BAP, seguidamente, con el aumento de la concentración a 5 mg/l de BAP, se mantiene estable, posteriormente se observó un incremento en brotes con la aplicación del tratamiento 6 mg/l de BAP, que al final tiende a bajar con el tratamiento 7 mg/l de BAP.



**Figura 5. Número de brotes por subcultivo para el clon Williams, según nivel de BAP.**  
**NOTA: los subcultivos se hicieron cada 21 días.**

El análisis de varianza de la regresión entre los niveles de bencilaminopurina, con 5, 6 y 7 mg/l de BAP, y su respectivo número de brotes, mostró que existe alta significancia, para el componente lineal y significancia para el componente cuadrático (cuadro 16), lo cual nos indica que existe un modelo que ajusta una regresión cuadrática. El modelo encontrado para la regresión cuadrática, de acuerdo con el cuadro 17, es el siguiente:

$$\text{Número de brotes} = 1.209\text{BAP} - 0.096\text{BAP}^2$$

**Cuadro 16. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Modelo	2	421.88	210.94	143.89	0.0001**
Lineal	1	415.59	415.59	283.09	0.0001**
Cuadrático	1	6.29	6.29	4.28	0.0478*
Error	28	41.11	1.47		
Total no corregido	30	462.99			

R-Cuadrado= 0.9112 C.V.= 32.35

\*\* = Existen diferencias altamente significativas

\* = Existen diferencias significativas

**Cuadro 17. Parámetros estimados y pruebas de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams.**

Parámetro	Estimado	T Para Ho: Parámetro=0	Pr> valor de T absoluto	Error Estándar del Estimado
Lineal	1.209327967	4.18	0.0003	0.28882510
Cuadrático	-0.095633211	-2.07	0.0478	0.04620513

Según la regresión cuadrática practicada entre los niveles de BAP y la variable número de brotes, podemos observar la tendencia a seguir en el gráfico de líneas (figura 6), prediciéndose

que el tratamiento con 6.3 mg/l de BAP es con el que se obtiene el mayor número de brotes, con 3.82 brotes por explante.

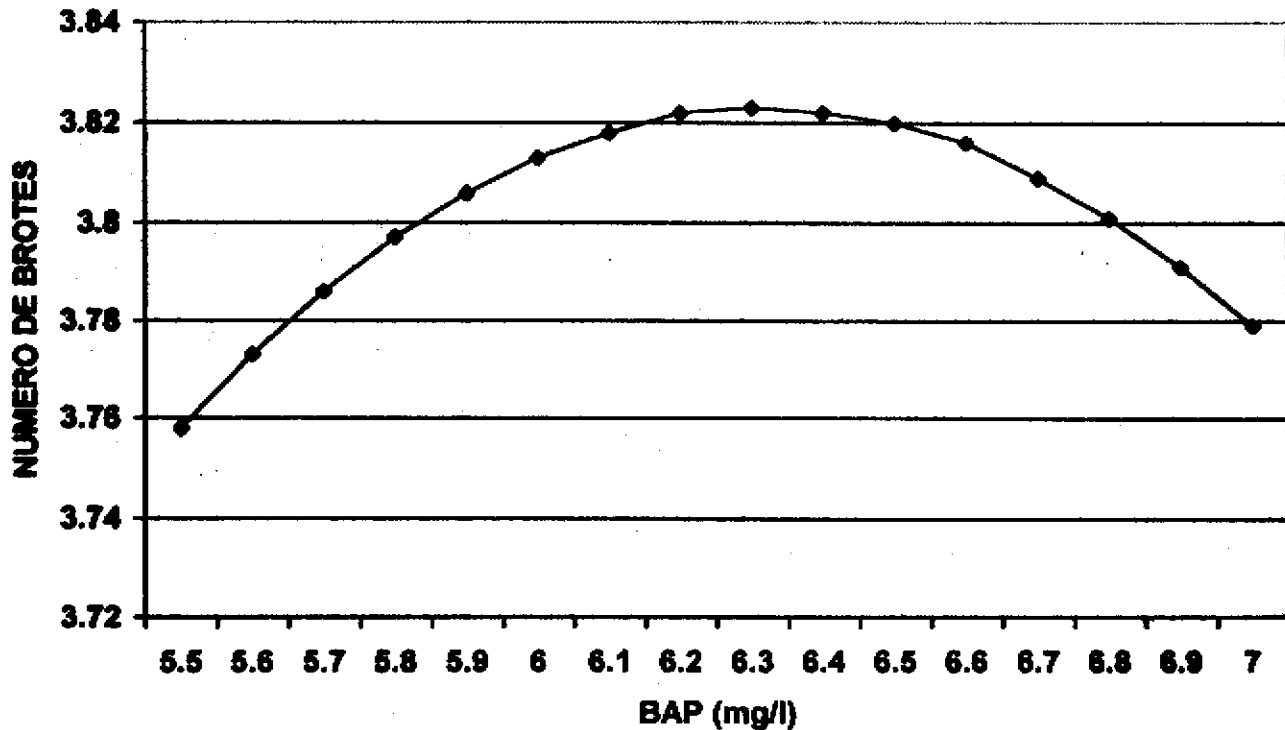


Figura 6. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Williams.

### 8.2.2 Altura de brotes

La variable altura de brotes, según las medias de tratamientos, fue influenciada muy similarmente por los diferentes niveles de bencilaminopurina, el tratamiento 3 mg/l de BAP se encuentra por encima de los restantes por una diferencia de 0.1 centímetros, ya que este alcanzó una altura de 1.5 centímetros por brote, mientras 6, 4, 5 y 7 mg de BAP por litro coincidieron con 1.4 centímetros por brote (figura 7). Estadísticamente todos los tratamientos son iguales, indicado por el análisis de varianza (cuadro 18). En el cuadro 19 se presentan las medias de los tratamientos para la variable altura de brote por nivel de BAP aplicado.

Cuadro 18. Análisis de varianza para la variable altura de brotes para el clon Williams.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F <sub>c</sub>	Pr > F <sub>c</sub>
Bloques	9	0.37	0.041	0.90	0.5341 <sub>ns</sub>
Tratamientos	4	0.19	0.047	1.05	0.3944 <sub>ns</sub>
Error	36	1.65	0.046		
Total	49	2.21			

F<sub>c</sub> = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = No existe diferencias significativas.

La altura de brote que se obtuvo en el clon Williams en los distintos tratamientos aplicados en la fase de multiplicación no muestra significancia, según el ANDEVA, a pesar de todo la bencilaminopurina tuvo efecto en la altura, la cual es baja, comparativamente con los resultados obtenidos por Ramirez (20), en micropropagación de plátano, evaluando los materiales FHIA 21 y Criollo, con la concentración de BAP que normalmente se utiliza a nivel comercial (5 mg/l de BAP), citando 2.8 y 3.9 centímetros, respectivamente.

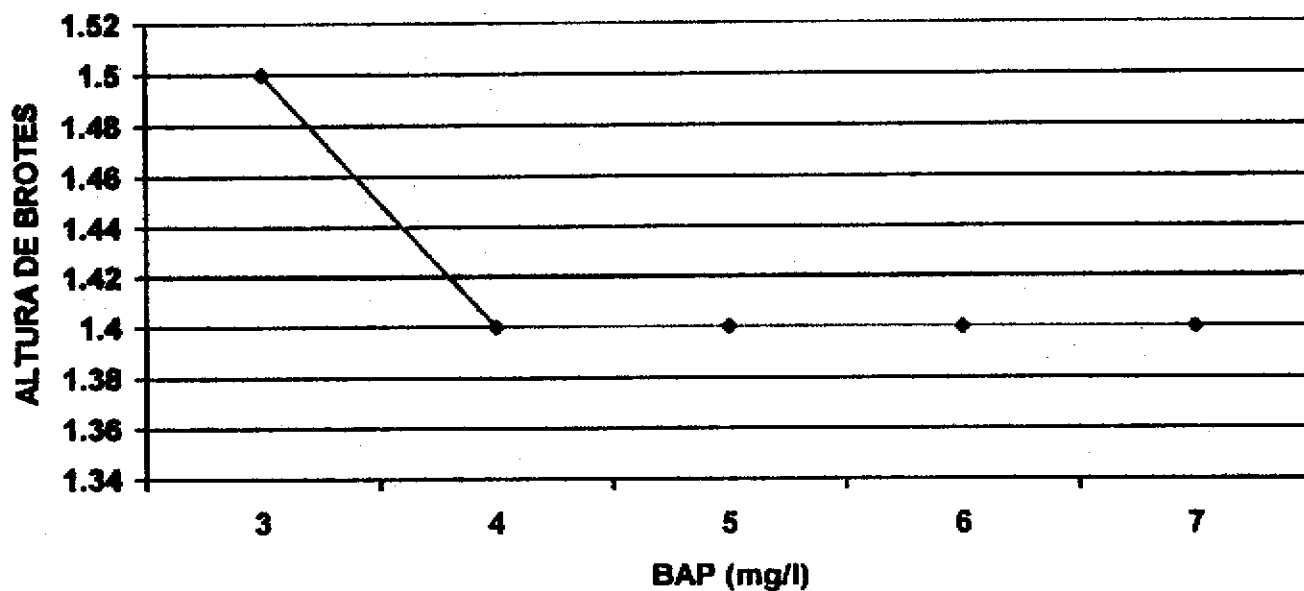
El tratamiento con el cual el clon Williams alcanzó su máxima altura de brote fue 3 mg/l de BAP, con una altura de 1.5 centímetros, con la limitante de que este tratamiento produjo un pobre rendimiento en cuanto a la variable de máxima importancia para el estudio, siendo ésta el número de brotes por explante, razón por la cual deja de ser una buena alternativa para micropropagar dicho clon, el resto de los tratamientos coincidieron en cuanto a su altura, con 1.4 centímetros, en vista de ello, nos es posible elegir el tratamiento con 4 mg/l de BAP, ya que igualmente indujo una aceptable brotación por explante, aparentemente resultan ser mejores los resultados obtenidos con los materiales FHIA 21 y criollo, con la diferencia de que en el clon Williams, dicha altura se obtuvo con una concentración de 1 mg/l de BAP menor a la utilizada por éstos, característica que le da relevancia al estudio, puesto que de esta manera reducimos en cierta manera las probabilidades de apareamiento de mutantes y también los costos en la utilización del regulador de crecimiento. La altura de brotes es una variable que no es determinante en la fase de multiplicación, aunque no se le pretende restar importancia dentro del estudio, pero podemos incrementarla en la fase nueve, la cual consiste en reducir la concentración de bencilaminopurina a 2 mg/l, a manera de disminuir la fase multiplicativa de brotes e inducir mayor desarrollo en altura y así poder prepararlos para la

fase de enraizamiento donde entran a funcionar las auxinas.

**Cuadro 19. Medias para la variable altura de brotes para el clon Williams.**

BAP (mg/l)	ALTURA DE BROTES (cm)
3	1.5
6	1.4
4	1.4
5	1.4
7	1.4

En la figura 7 se presenta el comportamiento de la variable altura de brotes en función de los distintos niveles de BAP aplicados, la concentración 3 mg/l de BAP produjo una altura superior a la obtenida por el resto de tratamientos (4, 5, 6 y 7 mg/l de BAP), los cuales se comportaron de igual manera respecto a la variable en mención.



**Figura 7. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon williams, según nivel de BAP.**



### 8.2.3. Vigor de brote

La bencilaminopurina (BAP) presentó un buen efecto sobre el comportamiento de la variable vigorosidad, según los niveles de BAP. Obteniendo en todos los tratamientos aplicados (6, 7, 5, 3 y 4 mg/l de BAP) brotes con apariencia vigorosa, debido a que obtuvieron los siguientes valores dentro de la escala de vigor: 3.35, 3.10, 3.00, 2.95 y 2.60, respectivamente, situándolos entre vigorosos a muy vigorosos. Mediante el análisis de varianza por rangos de Friedman realizado (cuadro 20) se puede establecer que no hay significancia entre los tratamientos evaluados, lo cual nos indica que los mismos presentan valores similares, estadísticamente. En el cuadro 21 se presentan las medias de tratamiento para la variable vigor de brote por nivel de BAP.

**Cuadro 20. Análisis de varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brote para el clon Williams.**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloque	9	0.00	0.00	0.00	1.00 <sub>ns</sub>
Tratamientos	4	2.95	0.74	0.43	0.78 <sub>ns</sub>
Error	36	61.55	1.71		
Total	49	64.50			

ns= No existe diferencias significativas.

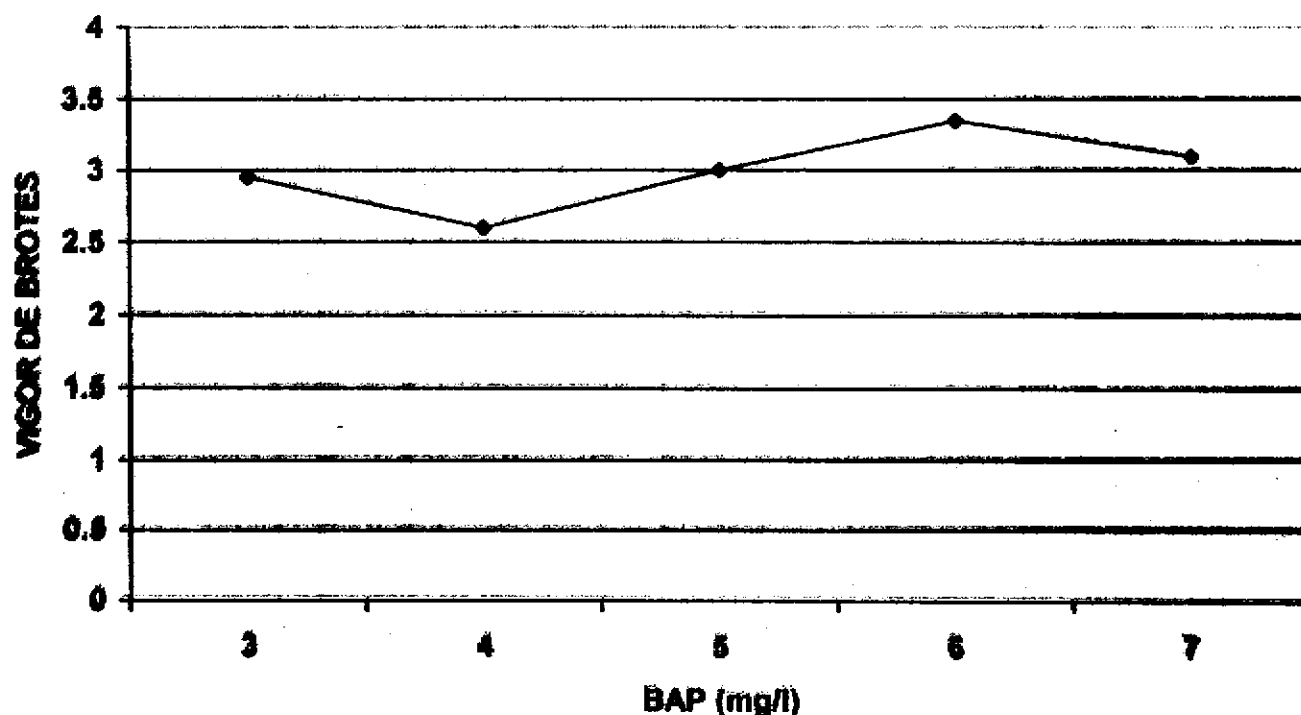
En términos generales, se puede decir que todos los tratamientos fueron satisfactorios en cuanto a su vigor, para los diferentes niveles de BAP, característica, que presenta relevancia a nivel comercial en la micropropagación masiva del clon Williams, ya que es posible obtener un lote de brotes atractivos, con calidad uniforme.

**Cuadro 21. Medias para la variable vigor de brote para el clon Williams.**

<b>BAP (mg/l)</b>	<b>VIGOR DE BROTE*</b>
6	3.35
7	3.10
5	3.00
3	2.95
4	2.60

\* Escala de vigor: 1-débil 2-vigoroso 3-muy vigoroso

En la figura 8 se presenta el comportamiento de la variable vigor de brotes en función de los distintos niveles de BAP aplicados, el incremento en la concentración de BAP a 4 mg/l de BAP produjo una baja en la vigorosidad de brotes, con respecto al tratamiento con 3 mg/l de BAP, posteriormente se observó una leve tendencia a mejorar el vigor de brotes con el tratamiento 5 mg/l de BAP, vigor que se incrementó levemente aún más, con la aplicación del tratamiento 6 mg/l de BAP, al aplicar el tratamiento 7 mg/l de BAP se observó un comportamiento parecido al obtenido por el tratamiento 5 mg/l de BAP.



**Figura 8. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Williams, según nivel de BAP.**

**NOTA:** 1-debil 2-vigorese 3-muy vigorese

#### **8.2.4. Relación entre número, altura y vigor de brote**

Según el análisis estadístico que se le realizó a cada una de las variables de respuesta, todos los tratamientos tienen un efecto igual sobre el comportamiento de las micemas, en vista de ello, se debe optar por elegir el tratamiento que represente menor costo en la utilización del regulador de crecimiento según los promedios de tratamientos. El tratamiento con 6 mg/l de BAP, presentó el mejor comportamiento, comparativamente, con respecto a los demás tratamientos, considerando las tres variables de importancia para el estudio. Tanto en número de brotes (4.25) como en vigor de brotes (3.35), fue el mejor, con resultados favorables para el fin de la investigación. En cuanto a altura de brotes su comportamiento fue similar a los otros tratamientos. Debido a que el nivel de 6 mg/l de BAP es mayor que el utilizado normalmente (5 mg/l) para propagación comercial, es necesario hacer estudios para determinar si incrementa la tasa de mutaciones, respecto al tratamiento con 4 mg/l de BAP.

### 8.3 CLON VALERY

#### 8.3.1 Número de brotes

Los diversos tratamientos de bencilaminopurina en la fase de multiplicación de brotes tuvieron efecto en el clon Valery. Con el tratamiento con 5 mg/l de BAP obtuvo el mejor comportamiento relacionado con la variable número de brotes, alcanzando un total de 4.39 brotes por explante y subcultivo. Por debajo de éste se encuentran 7 y 6 mg/l de BAP, con números de brote de 4.21 y 3.82, respectivamente, marcándose una diferencia entre los dos primeros tratamientos de 0.18 brotes, diferencia que en la micropropagación masiva del clon Valery es muy importante, mucho más la diferencia establecida con el tratamiento 3 mg/l de BAP, que asciende a 1.09 brotes. Estadísticamente no hay diferencias significativas entre los distintos tratamientos aplicados, todos tienen un efecto similar, según el análisis de varianza practicado a los registros obtenidos en la toma de datos (cuadro 22).

**Cuadro 22. Análisis de varianza para la variable número de brotes para el clon Valery.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F <sub>c</sub>	Pr > F <sub>c</sub>
Repeticiones	9	5.09	0.56	0.41	0.9214 <sub>ns</sub>
Tratamientos	4	9.16	2.29	1.66	0.1799 <sub>ns</sub>
Error	36	49.70	1.38		
Total	49	63.95			

F<sub>c</sub> = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = No existen diferencias significativas.

Se presentan las medias de la variable número de brotes por tratamiento de BAP en el cuadro 23. El número de brotes obtenidos por explante fue satisfactorio para el clon Valery, ya que de acuerdo con Vuyistake (32), el número de brotes por explante para el cultivar de banano "Nabai" es de 5.7 utilizándose una concentración de 4.5 mg/l de BAP. Según las medias de tratamientos el clon Valery obtuvo 4.39 brotes por explante y por subcultivo con el tratamiento 5 mg/l de BAP,

indicando, a pesar de que para el clon Valery la tasa de multiplicación está por debajo de la obtenida por Vuylsteke, la concentración de 5 mg/l de BAP es la utilizada normalmente por otros laboratorios. A pesar de que el análisis de varianza no mostró significancia entre los tratamientos, la bencilaminopurina tuvo efecto en la inducción de brotes y según las medias de tratamiento, parece ser que para cada cultivar existe una concentración de BAP óptima y no, como se puede creer, es la mayor concentración evaluada, ya que en éste, la brotación de 5 mg/l de BAP está por encima de 7 mg/l de BAP, faltaría evaluar niveles de BAP por encima de éste último, para conocer su efecto sobre el clon, pero en la micropropagación masiva de banano, es aconsejable utilizar la mínima concentración de BAP que induzca una aceptable brotación, ya que concentraciones por encima de 5 mg/l de BAP, al igual que el exceso de subcultivos, están relacionados con mayores porcentajes de plántulas mutantes.

**Cuadro 23. Medias para la variable número de brotes para el clon Valery.**

BAP (mg/l)	NUMERO DE BROTES
5	4.39
7	4.21
6	3.82
4	3.41
3	3.30

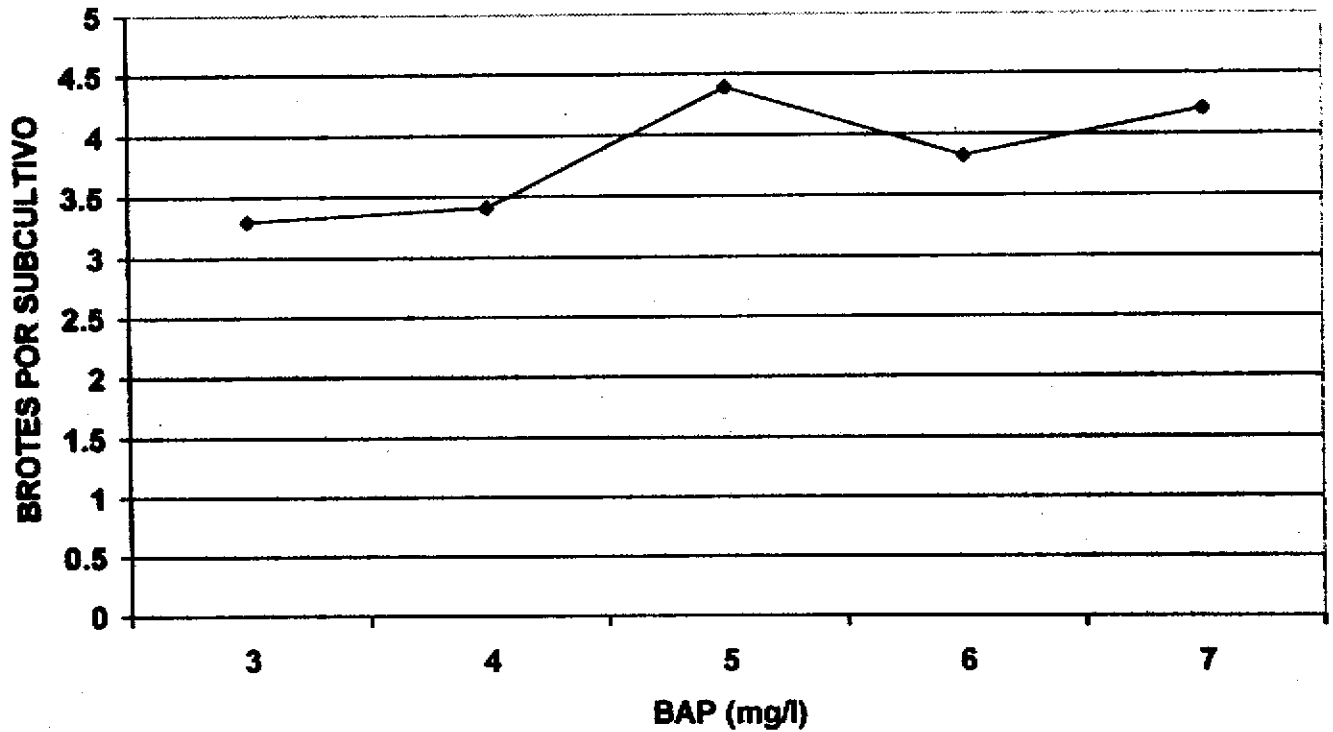
Si analizamos el número de brotes de los tratamientos con 5 y 4 mg/l de BAP, 4.39 y 3.41, respectivamente, la diferencia de brotes por explante asciende a 0.98 brotes, aparentemente es insignificante, pero si observamos el cuadro 24, que presenta ocho subcultivos, de los cuales, los primeros tres, se realizaron dentro de la investigación, mientras del cuarto al octavo, fueron proyectados teóricamente con el propósito de resaltar la importancia del número de brotes por nivel de BAP, a partir de un explante inicial, sin considerar la contaminación, permitiéndonos obtener, al final, una diferencia de 121,349 brotes de banano para el clon Valery, con la diferencia de 0.98 brotes entre los tratamientos mencionados.

**Cuadro 24. Progresión teórica del número de brotes para cada nivel de BAP para el clon Valery.**

BAP (mg/l)	Tasa	Subc.1	Subc.2	Subc.3	Subc.4	Subc.5	Subc.6	Subc.7	Subc.8
8	4.39	4.39	19.33	85.00	374	1644	7227	31776	139716
7	4.21	4.21	17.72	74.61	314	1323	5668	23441	9666
6	3.82	3.82	14.63	55.96	214	819	3132	11979	48820
4	3.41	3.41	11.84	39.72	136	462	1578	5363	18368
3	3.30	3.30	10.90	36.03	119	393	1299	4289	14167

**Subc. = Subcultivo**

En la figura 9 se presenta el comportamiento de la variable número de brotes en función de los distintos niveles de BAP aplicados. El incremento en la concentración de BAP a 4 mg/l produjo un leve aumento en el número de brotes por explante, comparativamente con el tratamiento 3 mg/l de BAP, posteriormente se observó un incremento bastante significativo en la evaluación, con el tratamiento 5 mg/l de BAP, tendencia que se afecta con la aplicación del tratamiento 6 mg/l de BAP y nuevamente se alza una mejora en el número de brotes con la concentración de 7 mg/l de BAP, al igual que 5 mg/l de BAP, encima de 4 brotes por explante.



**Figura 9. Número de brotes por subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP.**  
**NOTA: los subcultivos se hicieron cada 21 días**

El análisis de varianza de la regresión entre los niveles de bencilaminopurina, con 4, 5 y 6 mg/l de BAP, y su respectivo número de brotes, mostró que existe alta significancia, para el componente lineal y significancia para el componente cuadrático (cuadro 25), lo cual nos indica que existe un modelo que ajusta una regresión cuadrática. El modelo encontrado para la regresión cuadrática, de acuerdo con el cuadro 26, es el siguiente:

$$\text{Número de brotes} = 1.426\text{BAP} - 0.126\text{BAP}^2$$

**Cuadro 25. Análisis de varianza de la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Valery.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
<b>Modelo</b>	2	453.20	226.6	157.33	0.0001**
<b>Lineal</b>	1	445.72	445.72	309.47	0.0001**
<b>Cuadrático</b>	1	7.48	7.48	5.20	0.0305*
<b>Error</b>	28	40.33	1.44		
<b>Total no corregido</b>	30	493.53			

R-Cuadrado= 0.9183      C.V.= 30.95

\*\* = Existen diferencias altamente significativas

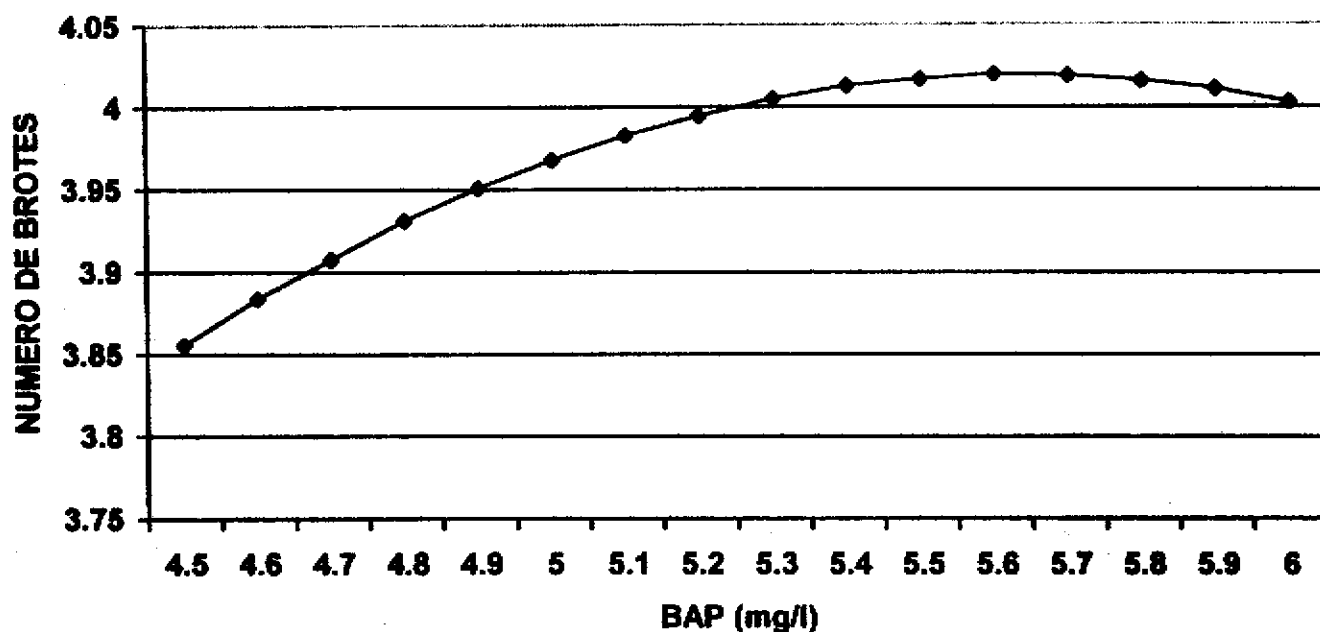
\* = Existen diferencias significativas

**Cuadro 26. Parámetros estimados y pruebas de T para la regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Gran Enano.**

Parámetro	Estimado	T Para Ho: Parámetro=0	Pr> valor de T absoluto	Error Estándar del Estimado
<b>Lineal</b>	1.425879363	4.83	0.0001	0.29495640
<b>Cuadrático</b>	-0.126442819	-2.28	0.0305	0.05547202

Según la regresión cuadrática practicada entre los niveles de BAP y la variable número de brotes, podemos observar la tendencia a seguir en el gráfico de líneas (figura 10), prediciéndose que el tratamiento con 5.6 mg/l de BAP es con el que se obtiene el mayor número de brotes, con 4.02 brotes por explante.





**Figura 10. Regresión cuadrática entre niveles de BAP y número de brotes, para el clon Valery.**

### 8.3.2 Altura de brotes

El comportamiento de la variable altura de brotes en función de los tratamientos fue similar, es decir, casi no hay influencia de los tratamientos en lo que respecta a esta variable. Sobresaliendo el tratamiento con 3 mg/l de BAP con una altura de brotes de 1.6 centímetros, sobre el resto de tratamientos que obtuvieron variadas alturas, con mínimas diferencias, quedando en el siguiente orden de importancia, 5, 6, 4 y 7 mg/l de BAP con una altura de 1.5, 1.4, 1.3 y 1.2 centímetros, respectivamente. Estadísticamente los tratamientos son diferentes, debido a que hubo diferencia significativa para tratamientos en el análisis de varianza (cuadro 27) practicado a los datos obtenidos de la variable altura de brotes.

Cuadro 27. Análisis de varianza para la variable altura de brote para el clon Valery.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloques	9	0.21	0.02	0.28	0.9749 <sub>ns</sub>
Tratamientos	4	1.14	0.28	3.46	0.0173*
Error	36	2.98	0.08		
Total	49	4.3			

Fc = F calculada.

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

ns = No existen diferencias significativas.

\* = Existen diferencias significativas al 5%.

Se realizó la prueba de Duncan al 10% (cuadro 28), la cual separa estadísticamente a los tratamientos aplicados en tres grupos, presentando en el primer grupo a los tratamientos 3, 5 y 6 mg/l de BAP. La altura de brote que se obtuvo en los distintos tratamientos aplicados en la fase de multiplicación del clon Valery, es baja, comparativamente con los resultados obtenidos por Ramirez (20), en micropropagación de plátano, evaluando los materiales FHIA 21 y Criollo, con la concentración de BAP que normalmente se utiliza a nivel comercial (5 mg/l de BAP), citando 2.8 y 3.9 centímetros, respectivamente.

Para el clon Valery la máxima altura alcanzada es de 1.6 centímetros con el tratamiento 3 mg/l de BAP, tratamiento que no podemos considerarlo en la micropropagación masiva del clon Valery, en vista que produjo el más pobre rendimiento en cuanto número de brotes por explante, en su defecto tomamos el segundo mejor tratamiento, 5 mg/l de BAP, con 1.5 centímetros, el cual indujo la mayor proliferación de brotes en dicho clon, según las medias de tratamiento para la variable, resultan ser mejores los resultados obtenidos con los materiales FHIA 21 y criollo. La altura de brotes, es una variable que no representa mayor importancia dentro del estudio, en la fase de multiplicación, puesto que la podemos mejorar dentro de la fase nueve, la cual consiste en reducir la concentración de bencilaminopurina a 2 mg/l, a manera de disminuir la fase multiplicativa de brotes e inducir mayor desarrollo en altura y así poder prepararlas para la fase de enraizamiento donde entran a funcionar las auxinas.

Cuadro 28. Prueba de medias Duncan para la variable altura de brotes para el clon Valery.

BAP (mg/l)	ALTURA DE BROTES (cm)	DUNCAN <sub>0.10</sub>
3	1.6	a
5	1.5	ab
6	1.4	abc
4	1.3	bc
7	1.2	c

En la figura 11 se puede observar la tendencia a seguir por la variable altura de brotes, según los diferentes niveles de bencilaminopurina evaluados, con la aplicación del tratamiento 4 mg/l de BAP se observó una baja de altura en el gráfico de líneas, a partir del tratamiento 3 mg/l de BAP no manifiesta mayor variación con la aplicación de los tratamientos 5 y 6 mg/l de BAP, presentando un leve incremento en altura, el cual tiende a bajar, un posterior incremento en la concentración de BAP a 7 mg/l, produjo una altura de brote, que se sitúa por debajo de todos los tratamiento. En general, se observa una tendencia a disminuir la altura de brotes conforme se incrementa la cantidad de BAP aplicada.

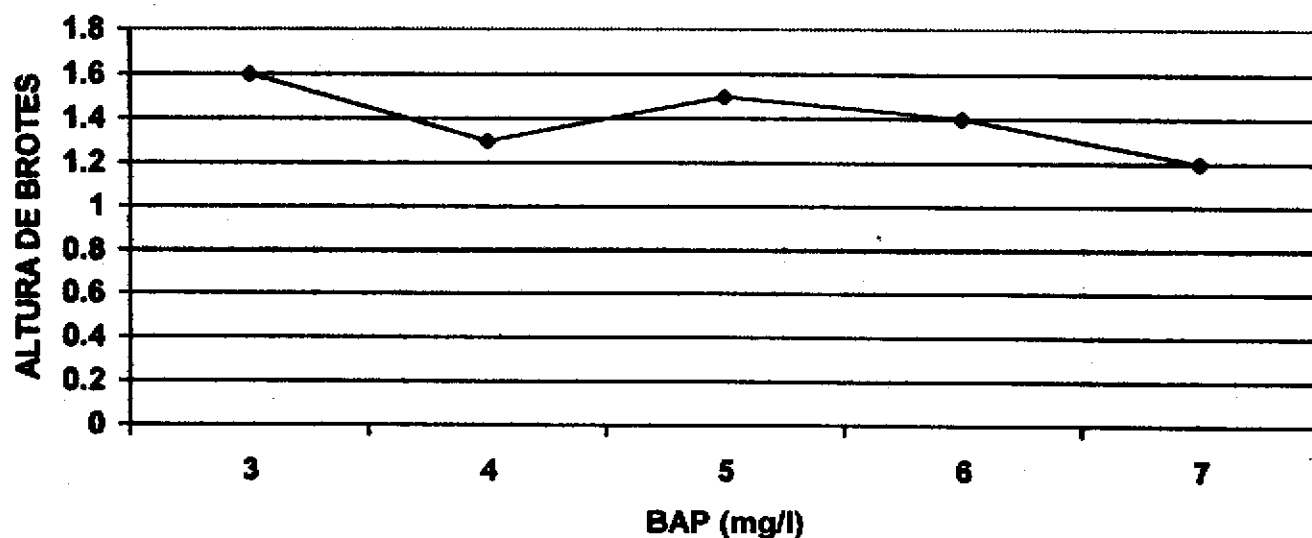


Figura 11. Altura de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP.

### 8.3.3 Vigor de brotes

El análisis de varianza por rango de Friedman (cuadro 29) presentó significancia entre los tratamientos. La bencilaminopurina (BAP), presentó un buen efecto, sobre el comportamiento de la variable vigorosidad, obteniendo en todos los tratamientos siguientes, en orden de importancia: 3, 5 y 4 mg/l de BAP, brotes con apariencia muy vigorosa, debido a que obtuvieron los siguientes valores dentro de la escala de vigor: 4.10, 3.30 y 3.00, respectivamente, situándolos como muy vigorosos. A diferencia de los tratamientos 6 y 7 mg/l de BAP, donde los brotes fueron vigorosos, estableciéndose dentro de la escala de vigor un valor de 2.45 y 2.15, respectivamente.

**Cuadro 29. Análisis de varianza por rango de Friedman para la variable vigor de brote para el clon Valery.**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fc	Pr>Fc
Bloques	9	0.00	0.00	0.00	1.00 <sup>ns</sup>
Tratamientos	4	23.25	5.81	3.79	0.01*
Error	36	55.25	1.53		
Total	49	78.50			

Fc = F calculada

Pr > F = Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada

ns = no existen diferencias significativas

\* = existen diferencias significativas

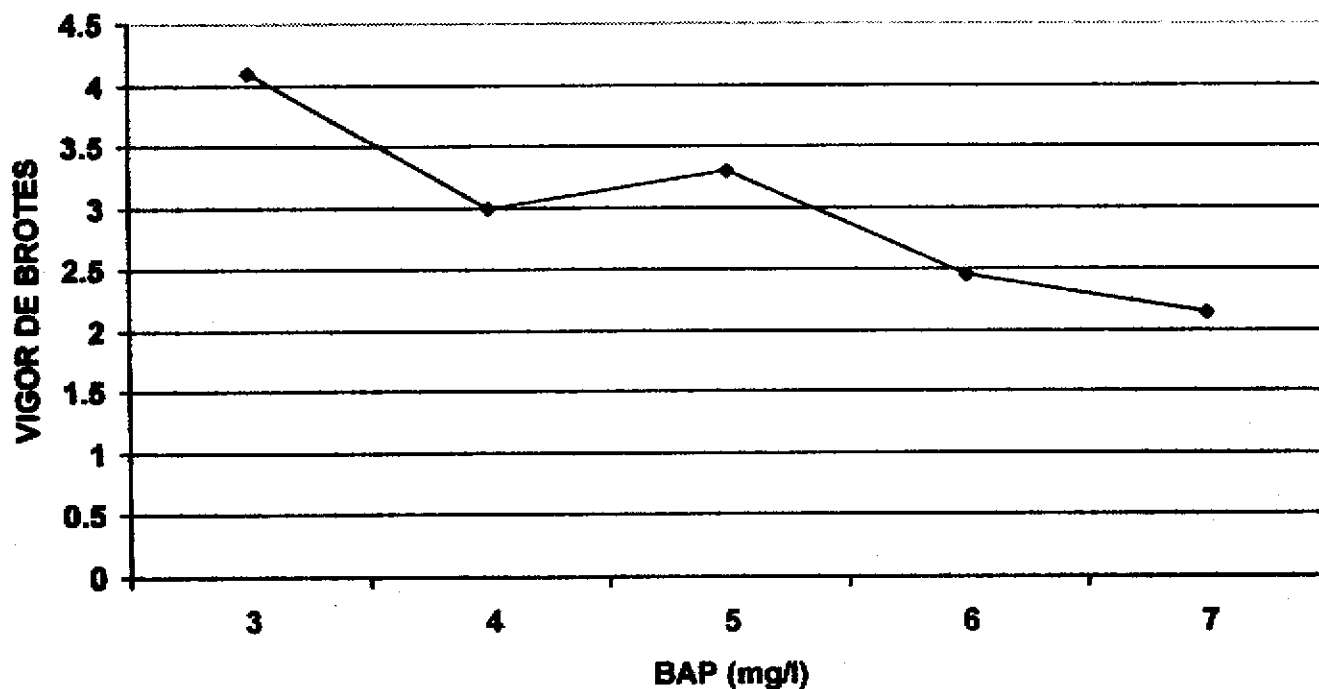
La prueba de Duncan al 10% (cuadro 30), dividió los tratamientos en tres grupos. En el mejor grupo se ubicaron los tratamientos con 3, 5 y 4 mg/l de BAP. En términos generales se puede decir que dentro de los tres primeros tratamientos todos fueron influenciados satisfactoriamente, pero el que sobresalió, con excelente vigor fue el tratamiento 3 mg/l de BAP, pero a la vez obtuvo un bajo número de brotes por explante, por lo tanto, es mejor tratamiento 5 mg/l de BAP, ya que con éste se obtuvo buena brotación por explante, tratamiento que adquiere relevancia ya que es el que normalmente se utiliza a nivel comercial en la micropropagación masiva de banano, y es posible obtener un lote de brotes atractivos, con calidad uniforme.

**Cuadro 30. Prueba de medias Duncan para la variable vigor de brotes para el clon Valery.**

BAP (mg/l)	VIGOR DE BROTES*	DUNCAN <sub>0.10</sub>
3	4.10	a
5	3.30	ab
4	3.00	abc
6	2.45	bc
7	2.15	c

\* 1-débil 2-vigoroso 3-muy vigoroso

En la figura 12 se presenta el comportamiento de la variable vigor de brotes en función de los distintos niveles de BAP aplicados, el incremento en la concentración de BAP a 4 mg/l produjo un menor vigor considerable en comparación con el tratamiento 3 mg/l de BAP, posteriormente se observó una leve tendencia a mejorar el vigor de brotes con el tratamiento 5 mg/l de BAP, vigor que se afecta con la aplicación del tratamiento 6 mg/l de BAP y más aún se ve afectado bruscamente con el incremento de la concentración a 7 mg/l de BAP. En términos generales se observa una tendencia a disminuir el vigor de los brotes conforme se incrementa el nivel de BAP.



**Figura 12. Vigor de brotes al final del tercer subcultivo para el clon Valery, según nivel de BAP.**

**NOTA: 1-débil 2-vigoroso 3-muy vigoroso**

#### **8.3.4 Relación entre número, altura y vigor de brote**

El tratamiento 5 mg/l de BAP, en cuanto al número de brotes, supera al resto de tratamientos, mientras en altura y vigor de brote, ocupa una segunda posición en ambas variables. El tratamiento 3 mg/l de BAP, ofrece la mejor altura de brote, así también supera en cuanto a vigor a los demás tratamientos, con deficiencias en cuanto a producción de brotes, que sostiene una diferencia de 1.09 brotes por subcultivo, con respecto a 5 mg/l de BAP. Debido a que la variable más importante es el número de brotes, se considera que se obtuvo una mayor influencia con el tratamiento de 5 mg/l de BAP.

## 9. CONCLUSIONES.

- 9.1 El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número, altura y vigor de brotes, en el clon Gran Enano, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al hacer un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de BAP es de 4.3 mg/l .
- 9.2 El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número, altura y vigor de brotes, en el clon Williams, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al realizar un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de BAP es de 6.3 mg/l.
- 9.3 El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre el número de brotes, en el clon Valery, no presentaron diferencias estadísticas significativas. Al hacer un análisis de regresión se encontró que los datos ajustan un modelo cuadrático entre niveles de BAP y número de brotes, con el cual se predice que el nivel óptimo de BAP es de 5.6 mg/l.
- 9.4 El análisis de varianza practicado a los distintos tratamientos de bencilaminopurina sobre la altura y vigor de brotes, en el clon Valery, presentaron diferencias estadísticas significativas, estableciendo que los mejores tratamientos de BAP sobre la altura y vigor de brotes fueron 3, 5 y 6; y 3, 5 y 4 mg/l, respectivamente.

## 10. RECOMENDACIONES

1. Para el clon Gran Enano se recomienda utilizar 4.3 mg/l de BAP para la fase de multiplicación en función del análisis de regresión para la variable número de brotes.
2. Para el clon Williams se recomienda utilizar 6.3 mg/l de BAP para su micropropagación, en función del análisis de regresión practicado a la variable número de brotes, y hacer un estudio sobre la tasa de mutaciones que causa el tratamiento con 6.3 mg/l al final de ocho subcultivos, si la tasa de mutaciones es igual que la tasa para 5 mg/l, entonces se puede utilizar para obtener una mayor tasa de propogación.
3. Para el clon Valery se recomienda utilizar el tratamiento con 5.6 mg/l de BAP para su propogación *in vitro*, en función del análisis de regresión efectuado a la variable número de brotes.
4. Se recomienda continuar esta investigación en la línea de conocer la tasa de mutaciones que causan los diferentes niveles de BAP al final de ocho subcultivos y más allá, para los tres clones.



## 11. BIBLIOGRAFIA

1. ALVES, O. 1990. Propagación *in vitro* de banano Prata por medio de cultivo de tejidos vegetales. Pesquisa Agropecuaria Brasileira (Bra.)25(11):1613-1617.
  2. GUATEMALA. MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION. AREA FITOZOOGENETICA. UNIDAD DE NORMAS Y REGULACIONES. 1999. Solicitud de importación de semilla vegetativa. 1 p.
- Sin Publicar.
3. BOCHE ARCHILA, A.A. 1996. Evaluación de los parámetros de producción entre las variedades de banano (*Musa sapientum* L.) Grand Nain y Williams en el departamento de Izabal, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales. 60 p.
  4. CHAMPION, J. 1978. El banano. 3 ed. Barcelona, España, Blume. Colección Agricultura Tropical. 245 p.
  5. CHAPAS, A. 1999. Banano, ocupa a miles. Prensa Libre, Guatemala (Gua.); Jun.16:22.
  6. CONTRERAS MARTINEZ, M.A. 1982. Identificación y caracterización de 16 clones de plátano en tabasco. México, Universidad Autónoma Chapingo. Colección Cuadernos Universitarios. 74 p.
  7. CULTIVO DE tejidos vegetales. 1985. Agricultura de las Américas. (E.E.U.U.) 34(6):22-27.
  8. FUNDACION HONDUREÑA DE INVESTIGACION AGRICOLA. 1994. Manual sobre micropropagación de banano y plátano. 53 p.
  9. GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. 1998. Estadísticas de productos agrícolas. Guatemala. 23 p.
  10. HARMANT, H.T. 1984. Propagación de plantas, principios y práctica. México, D.F., CECSA. p. 639-666.
  11. HURTADO, M.D.; MERINO, M.E. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. México, D.F., Trillas. 232 p.
  12. KRIKORIAN, A.D. 1991. Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación. In Cultivo de Tejidos en Agricultura: fundamentos y aplicaciones. Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. p. 42-77.
  13. MERCK (Gua.) sf. Tween 20. Guatemala. 1 p.

14. MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Annual Review of Plant Physiology. (E.E.U.U.) 25:135-166.
15. MURASHIGE, T.; SKOOG, G.; MORTON, J.F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum. (Alemania) 15:473-497.
16. OROZCO, C. 1996. Cultivo de tejidos y su aplicación en agricultura. In Simposio Nacional Sobre Cultivo de Tejidos Vegetales (1., 1996, Guatemala). Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. p.1-10.
17. ESPINOZA, N. *et al.* 1992. Cultivo de tejidos: micropropagación, conservación y exportación de germoplasma de papa: Guía de investigación. Lima, Perú, Centro Internacional de la papa. 20 p.
18. LOPEZ MORALES, C.I. 1999. Efecto de la Bencilaminopurina y dos métodos de micropropagación sobre dos cultivares de plátano (*Musa balbisiana* Colla) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 75 p.
19. OVALLE, C. 1996. Evaluación de cuatro dosis de Bencilaminopurina para la propagación *in vitro* de la vr. de plátano criollo amarillo (*Musa AAB*) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencia Agrícolas. 47 p.
20. RAMIREZ, E. 1996. Micropropagación de plátano FHIA 21 (*Musa AAB*) y el criollo (*Musa AAB*). In: Simposio Nacional Sobre Cultivo de Tejidos Vegetales (1., 1996, Guatemala). Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. p. 41-47.
21. ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicación. Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 970 p.
22. ROWE, P. 1985. Fitomejoramiento de banano y plátanos. Panamá, Unión de Países Exportadores de Banano, Centro de Información y Documentación. 14 p.
23. RUIZ, D. 1996. Forma de preparación de medios de cultivo Murashige and Skoog. San Pedro Sula, Honduras, Fondo Hondureño de Investigación Agrícola. 25 p.
24. SIGMA (E.E.U.U.). 1990. Catalogue plant cell culture. p. 91.
25. ———. 1997. Catalogue plant culture. 131 p.
26. SOTO BALLESTERO, M. 1995. Bananos, cultivo y comercialización. 2 ed. San José, C. R., s.n. 649 p.
27. THORPE, T. A. 1987. Plant tissue culture and applications in agriculture. New York, E.E.U.U., Academic Press. 177 p.

28. TORRES, A.C.; TEIXEIRA FERREIRA, A.; CAMPOS de ARAUJO, M. 1996. Medio de cultivo. Brasilia, D.F., Centro Brasileiro Argentino de Biotecnología. p. 21.
29. VENTURA RODRIGUEZ, L.F. 1994. Prácticas de producción y procesamiento de una plantación bananera en la empresa BANDEGUA, Morales, Izabal. Informe Técnico Per. Agr. Bárcena, Guatemala, Escuela Nacional Central de Agricultura. 53 p.
30. VILLALOBOS, V.N.; THORPE, T.A. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In Cultivo de Tejidos en Agricultura: fundamentos y aplicaciones. Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. p. 127-141.
31. VUYLSTEKE, D. 1989. Histomorphological studies of shoot bud proliferation. Tropical Agriculture (Trinidad y Tobago) 62:323-328.
32. ——— 1989. Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. Rome, Italia, International Board for Plant Genetic Resources. 45 p.



V. 13°

Miriam de La Roca

# APENDICE

**Cuadro 31A. Resumen de resultados para cada variable por clon, según nivel de BAP.**

<b>CLON</b>	<b>BAP mg/l</b>	<b>Número de brotes</b>	<b>Altura de brotes cm</b>	<b>Vigor de brotes</b>
<b>Gran Enano</b>	3	3.09	1.4	2.95
	4	3.59	1.6	3.00
	5	3.37	1.3	3.40
	6	2.88	1.4	3.15
	7	3.56	1.2	2.50
<b>Williams</b>	3	3.44	1.5	2.95
	4	3.49	1.4	2.80
	5	3.38	1.4	3.00
	6	4.25	1.4	3.35
	7	3.58	1.4	3.10
<b>Valery</b>	3	3.30	1.6	4.10
	4	3.41	1.3	3.00
	5	4.39	1.5	3.30
	6	3.82	1.4	2.45
	7	4.21	1.2	2.15

CUADRO 32A. Datos originales del clon Gran Enano.

Trat.	Exp. Inc.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor de brote
1	2	3	4	1.5	19	1.86	52	1.49	1
2	1	4	1	2.0	5	6.30	54	1.03	1
3	1	5	1	1.0	4	1.62	14	1.67	3
4	1	6	2	1.5	8	2.0	10	1.5	3
5	2	7	4	2.37	9	1	85	0.98	1
1	1	3	3	1.83	7	1.78	8	1.75	3
2	1	4	2	1.0	14	1.28	64	1.24	1
3	1	5	1	1.5	6	1.25	7	1.5	2
4	1	6	1	3.5	6	2	17	1.79	3
5	1	7	3	1.33	5	1	28	1.23	2
1	1	3	2	2.25	10	1.65	27	1.05	1
2	1	4	4	1.5	9	1.55	58	1.31	1
3	1	5	2	1.75	12	2.04	20	1.35	2
4	1	6	2	1.25	11	1.40	38	1.54	2
5	2	7	3	1.16	9	1.05	42	1.19	1
1	2	3	2	0.5	14	1.60	15	1.23	1
2	1	4	2	1.25	6	2.58	15	1.66	2
3	2	5	7	1.07	25	1.42	35	1.10	2
4	2	6	5	1.8	7	1.85	32	1.53	2
5	2	7	2	2.5	17	1.23	63	1.10	2
1	2	3	3	2.16	4	1.62	34	1.34	3
2	1	4	3	1.83	6	2.00	13	0.77	2
3	2	5	4	1.62	26	1.61	78	1.18	3
4	2	6	4	1.5	11	1.5	32	1.10	2
5	1	7	3	1.5	2	3.25	7	1.5	3

Trat.: Tratamiento Exp. Inc.: Explota Inicial

## CONTINUACION CUADRO 32A.

Trat.	Exp. Inic.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor brote
1	1	3	3	2	25	1.78	44	1.09	2
2	1	4	2	1.75	10	1.85	35	1.31	3
3	2	5	5	1.1	44	1.42	54	1.14	2
4	1	6	2	2.25	4	2.5	15	1.33	2
5	1	7	3	1.5	11	1.45	34	1.30	1
1	1	3	1	2	5	2.2	12	1.46	3
2	1	4	1	1.5	7	2	23	1.5	3
3	1	5	3	1.16	23	1.30	104	1.12	1
4	1	6	1	1	5	1.6	23	1.21	2
5	1	7	1	2	5	1.3	25	1.08	1
1	2	3	2	2	5	1.9	21	1.74	3
2	1	4	1	3	2	2.5	12	1.75	3
3	2	5	2	1.25	22	1.09	42	1.12	2
4	1	6	2	1.75	3	1.5	8	1.25	2
5	2	7	3	1.33	15	1.63	67	1.45	3
1	1	3	3	2.33	9	2.11	34	1.41	2
2	2	4	2	1	16	1.5	42	1.5	2
3	2	5	2	1.25	4	2.25	9	1.77	3
4	1	6	3	1.83	11	1.95	40	1.47	3
5	2	7	3	2.16	22	1.52	83	1.2	2
1	2	3	4	1.12	17	1.32	28	1.46	2
2	1	4	3	1.83	8	2.37	17	3.85	3
3	1	5	3	1.66	5	2.3	17	1.73	3
4	2	6	6	1.83	16	1.5	32	1.31	1
5	2	7	2	1.5	3	1.16	20	1.37	2

Trat.: Tratamiento Exp. Inic.: Exploto inicial

CUADRO 33A. Datos originales del clon Williams.

Trat.	Exp. inic.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor brote
1	2	3	9	1.44	34	1.45	75	1.56	2
2	1	4	5	1.5	14	1.53	23	1.67	2
3	1	5	3	1.66	13	1.84	39	1.86	3
4	1	6	5	1.1	26	1.21	49	1.16	2
5	1	7	4	1	27	1.10	60	1.23	1
1	1	3	2	1	4	2.6	39	1.43	2
2	1	4	6	1.33	17	1.11	46	1.41	1-
3	1	5	3	1.33	9	1.28	20	1.40	2
4	1	6	4	1.87	11	1.5	42	1.37	2
5	1	7	4	1.37	31	1.30	98	1.23	1
1	2	3	7	1.93	44	1.33	86	1.58	2
2	1	4	5	1.9	17	1.76	53	1.34	2
3	1	5	6	1.66	16	1.53	41	1.37	2
4	1	6	5	0.5	44	0.98	145	1.31	2
5	2	7	2	1	21	0.74	44	1.28	2
1	2	3	9	1.77	35	1.30	50	1.55	2
2	1	4	2	0.75	13	1.03	30	1.16	2
3	1	5	6	1.42	22	0.93	40	1.37	2
4	2	6	11	1.45	63	1.25	134	1.36	2
5	2	7	8	1.5	29	1.32	69	1.79	3
1	2	3	6	1.92	15	1.83	27	1.46	1
2	2	4	6	1.42	9	1.61	18	1.36	2
3	1	5	4	1.12	22	1.20	46	1.52	3
4	1	6	1	1	22	1.11	61	1.24	2
5	2	7	10	1.45	16	1.18	39	1.41	3

Trat.: Tratamiento Exp. inic.: Explota inicial



## CONTINUACION DEL CUADRO 33A.

Trat.	Exp. Inic.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor brote
1	1	3	4	1.5	13	1.85	22	1.57	2
2	1	4	4	1.37	13	1.38	18	1.19	2
3	2	5	5	1.4	26	1.52	46	1.25	2
4	1	6	3	1.16	14	1.21	32	1.53	3
5	2	7	5	1.4	20	1.40	36	1.51	3
1	1	3	3	2	12	1.66	40	1.43	2
2	1	4	4	1.37	16	1.34	46	1.48	3
3	1	5	5	1.6	28	1.39	63	1.13	2
4	1	6	5	1.8	6	1.58	40	1.60	3
5	2	7	9	1.27	25	1.42	75	1.12	2
1	1	3	3	2	8	2	18	2.02	3
2	1	4	5	1.7	20	1.4	45	1.62	3
3	2	5	8	1.18	24	1.02	43	1.2	2
4	1	6	4	1.5	25	1.34	33	1.16	2
5	1	7	4	1.37	14	1.71	59	1.44	3
1	1	3	4	1.37	18	1.47	28	1.41	3
2	1	4	2	1.75	19	0.95	32	1.42	2
3	2	5	8	1.31	16	1.4	59	1.59	3
4	2	6	7	1.35	4	1.75	8	2.06	3
5	1	7	3	1	10	1.65	15	1.66	3
1	1	3	2	1	16	1.25	50	1.50	3
2	1	4	3	1.33	13	1.5	47	1.33	2
3	2	5	6	1.42	21	1.14	32	1.28	2
4	2	6	6	1.83	11	1.31	39	1.3	3
5	2	7	7	1.28	6	1.08	28	1.17	2

Trat.: Tratamiento Exp. Inic.: Explota Inicial

CUADRO 34A. Datos originales del clon Valery

Trat.	Exp. Inc.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor brote
1	1	3	3	1.66	13	1.5	31	1.56	3
2	1	4	2	1	10	1.35	12	1.12	1
3	1	5	5	1.3	12	1.29	50	1.54	3
4	1	6	2	2	19	1.05	78	1.06	1
5	1	7	2	1	8	1.62	17	1.47	2
1	1	3	3	1.16	6	1.91	15	1.66	3
2	1	4	1	3	8	1.31	36	1.27	2
3	1	5	3	1.5	27	1.37	107	1.45	3
4	1	6	2	1	10	1.85	29	1.05	1
5	1	7	2	1.5	12	1.04	45	1.16	1
1	1	3	6	1.66	16	1.84	50	1.52	3
2	1	4	4	1.75	22	1.31	77	1.32	3
3	1	5	3	1	12	1.20	61	1.84	3
4	1	6	3	1	15	1.03	20	1.30	2
5	1	7	2	1.5	11	1.45	35	1.12	2
1	1	3	4	1.25	19	1.36	69	1.31	3
2	1	4	2	1	4	1.87	4	1.75	2
3	1	5	1	1.5	8	1.62	19	1.15	1
4	1	6	2	1.5	6	2	32	1.37	3
5	1	7	1	1.5	10	1.25	63	1.24	3
1	1	3	2	1	9	1.55	21	1.45	2
2	1	4	2	1	11	1.63	36	1.81	3
3	1	5	2	1	9	1.05	19	1.39	1
4	1	6	2	1.5	6	1.33	8	1.56	2
5	1	7	3	1	15	1.86	59	1.22	2

Trat.: Tratamiento Exp. Inc.: Explota inicial

## CONTINUACION DEL CUADRO 34A.

Trat.	Exp. Inic.	Nivel BAP	Subcultivo 1		Subcultivo 2		Subcultivo 3		
			No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	No. brote	Altura brote	Vigor brote
1	2	3	2	1.5	10	1.30	33	1.46	2
2	1	4	2	1.5	8	1.18	25	1.28	2
3	1	5	1	1	16	1.25	74	1.38	2
4	1	6	3	1.16	10	1.8	10	2.30	3
5	1	7	2	1.25	7	1.36	22	0.95	1
1	1	3	2	1.5	9	1.72	23	2.5	3
2	1	4	3	1.5	13	1.69	64	1.22	2
3	1	5	3	1	16	1.09	82	1.31	2
4	1	6	3	1.16	10	1.4	54	1.34	2
5	1	7	2	1.25	16	1.09	84	1.12	2
1	1	3	3	1.86	5	2.1	20	1.62	2
2	1	4	4	1.25	6	1.83	46	1.16	2
3	1	5	2	1	4	1.25	41	1.63	3
4	1	6	1	1.5	6	1.42	58	1.25	1
5	1	7	2	1	6	1.42	27	0.96	1
1	1	3	3	1.66	10	1.5	54	1.59	2
2	1	4	2	1.5	10	1.25	11	1.36	2
3	1	5	1	1.5	8	1.37	28	1.68	2
4	1	6	1	1	2	1.5	31	1.34	2
5	1	7	2	1	12	1.25	62	1.17	1
1	1	3	2	1.5	5	1.1	28	1.71	3
2	1	4	3	1.16	12	1.12	27	1.20	2
3	1	5	3	1	11	1.27	42	1.61	3
4	1	6	3	1.16	9	1.33	27	1.37	1
5	1	7	1	1.5	17	1.08	33	1.43	2

Trat.: Tratamiento Exp. Inic.: Exante inicial

CUADRO 35A. Composición del medio Murashige y Skoog (15).

COMPUESTO	CONCENTRACION EN EL MEDIO (mg/l)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650
$\text{KNO}_3$	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	440
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	20
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
$\text{Na}_2$ EDTA	37.3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
Acido nicotínico	0.5
Piridoxina HCl	0.5
Tiamina HCl	0.1
Glicina	2
Mio-inositol	100
Ph	5.7-5.8



FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA: "EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACION  
IN VITRO DE TRES CLONES DE BANANO (Musa acuminata Colla)".

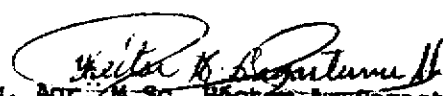
DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: DORIAN ESTUARDO IZAGUIRRE HERNANDEZ

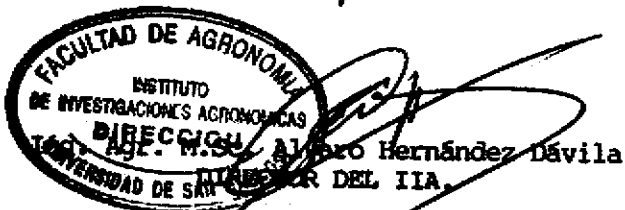
CARNET No: 9517562

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Estuardo Roca Canet  
Ing. Agr. Vicente Martínez Arévalo

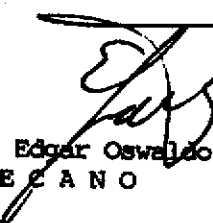
Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

  
Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
A S E S O R

  
Ing. Agr. M.Sc. Héctor A. Sagastume Mena  
A S E S O R



IMPRIMASE

  
Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
D E C A N O



cc:Control Académico  
IIA.  
Archivo

AH/ptr

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.  
TEL/FAX (502) 476-9794  
e-mail: [lusac.edu.gt](mailto:lusac.edu.gt) § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomfa.htm>