

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



**Micropropagación de ápices caulinares en Plátano (*Musa* spp. AAB)
Cuerno Enano en el Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN-León**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
Licenciado en Biología**

**PRESENTADO POR:
Br. Christopher José Munguía Navarrete.
Br. Luis Ernesto Padilla García.**

**TUTORA:
MSc. María Inés Dávila Prado.**

**ASESOR ESTADÍSTICO:
MSc. Milton Carvajal.**

León, Diciembre, 2014.

“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”



Agradecimiento

Quiero agradecer a **Dios** Padre todo poderoso por habernos permitidos culminar nuestros objetivos, ser nuestro guía en los momentos más difíciles y por ti hemos logrado terminar otra fase de nuestra vida profesional.

A Nuestros Padres, Hermanos y Abuelos por apoyarnos de una u otra manera, gracias a sus oraciones hoy hemos alcanzado unas de las grandes metas. Que ha servido de mucho en el transcurso de nuestra vida universitaria.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la tutora **MSc. María Inés Dávila Prado** por darnos la oportunidad de haber realizado nuestras pasantía en el laboratorio cultivo de tejido como estudiante y su confianza en la realización en este trabajo investigativo, gracias profesora por su tiempo, comprensión y consejos estamos eternamente agradecido.

De igual manera queremos agradecer a nuestro asesor estadístico **MSc. Milton Carvajal** por la gran ayuda que nos brindó en el transcurso de la investigación y a la Profesora **MSc. Rebeca Pastora** por brindarnos el apoyo logístico y el acceso al equipo informático. **A nuestros Maestros**, gracias a cada uno de ellos que nos brindaron sus sabidurías y enseñanza en el transcurso de la carrera. **A mis amigos**, ya que ellos nos dieron su colaboración en los momentos de la realización de este trabajo investigativo.



Dedicatoria

De manera muy especial dedico este trabajo investigativo a mis padres **Manuel Munguía Quintanilla y Carolina Navarrete Benavides**, por haberme apoyado incondicionalmente a lo largo de toda mi vida; por haberme dado un buen ejemplo, por haberme apoyado en mi formación profesional y sobre todo su amor.

A mis hermanos Manuel Munguía y Lizbeth Munguía, que han sido un apoyo incondicional hacia mi persona.

A mis abuelos por su sacrificio, por haber tenido la dicha de verme culminar mi carrera y mi investigación monográfica.

Christopher José Munguía Navarrete



Dedicatoria

Quiero dedicar infinitamente **a Dios** por ser el más importante en mi vida por permitir realizar mis estudios, gracias Señor te doy por el tiempo y por ser la luz en mi caminar, por ti he llegado hasta donde estoy.

De manera muy especial y con su ejemplo de vida, por ser muy digno de seguir a mis padres **José Luis Padilla Castillo** y **Karla Patricia García Delgado**, por darme el apoyo durante mi vida, por sus palabras, experiencias que me transmitieron los cuales quienes con su esfuerzo y su apoyo incondicional, me permitieron culminar mi formación profesional y personal.

A mis hermanos Allan Fernando Padilla García y **Sharon Pamela Padilla García** los cuales son de gran apoyo en mi vida y mi familia que los quiero mucho.

Luis Ernesto Padilla García



Tabla de Contenido

Índice de Cuadros	viii
Índice de Gráficos	ix
Índice de Anexos.....	xi
I. Introducción	1
1.1 Objetivo General.....	3
1.2 Hipótesis.....	4
1.3 Antecedentes.....	5
II. Literatura Revisada	7
2.1. Micropropagación	7
2.2 Selección del Material Vegetal.	8
2.3 Etapas de la Micropropagación	9
2.3.1 Etapa 0: Preparación del Material Vegetal	9
2.3.2 Etapa 1: Establecimiento del Cultivo.....	10
2.3.3 Etapa 2: Multiplicación de los Brotes	11
2.3.4 Etapa 3: Regeneración de los Brotes.....	11
2.3.5 Etapa 4: Aclimatación de Plantas <i>ex vitro</i>	12
2.4 Medios de Cultivos	13
2.4.1 Composición Mineral.....	14
2.4.2 Vitaminas	14
2.4.3 pH	15
2.4.4 El Agente Gelificante.....	15
2.4.5 Carbón Activado	16
2.5 Reguladores del Crecimiento Vegetal	16
2.5.1 Auxinas	17
2.5.2 Citocininas	17
2.6 Condiciones Ambientales de Cultivo	18
2.7 Tipos de Cultivos	18



2.7.1 Cultivos Diferenciados	18
2.7.2 Embriogénesis Somática	19
2.7.3 Organogénesis.....	19
2.7.4 Ventajas y Desventajas de la Micropropagación	20
2.8 Descripción Botánica de <i>Musa spp.</i>	21
2.8.1 Morfología de la Planta	22
2.8.2 Categoría Taxonómica de <i>Musa spp.</i> (Taza, L, 1995).	25
2.8.3 Variedades de Plátano.....	25
2.9 Generalidad de Cultivo de Plátano en Nicaragua.....	25
2.10 Importancia Económica del Plátano en Nicaragua	27
2.11 Datos Generales sobre la Comercialización del Producto.....	28
2.12 Prueba Estadísticas.....	30
2.13 Comparación de Prueba Estadística de Dunnett.....	30
2.14 Comparación de Prueba Estadística de Rango Múltiple de Duncan.	31
2.14.1 Paquete Estadístico spss.ver.15.....	31
III. Materiales y Métodos	32
3.1 Localización del Experimento.....	32
3.2 Selección del Material Vegetativo.....	32
3.2.1 Preparación y Desinfección del Material Vegetativo	32
3.3 Ensayo de Establecimiento	33
3.4 Ensayo de Multiplicación	33
3.5 Ensayo de Regeneración	34
3.6 Aclimatación de las Planta.....	35
3.7 Diseño experimental y Análisis Estadístico.	36
IV. Resultados y Discusión.....	37
4.1 Ensayo de Multiplicación	37
4.2 Ensayo de Regeneración	49
4.3 Ensayo de Aclimatación	56
V. Conclusiones	68



VI. Recomendaciones	69
VII. Referencias Bibliográficas	70
Anexos	77



Índice de Cuadros

Cuadros	Páginas
Cuadro 1. Componente de medios de cultivo para células vegetales (Segretín, 2006).....	13
Cuadro 2. Diferentes medios de cultivo en el ensayo de multiplicación <i>in vitro</i> de plátano Cuerno Enano.	33
Cuadro 3. Diferentes medios de cultivo en el ensayo de regeneración <i>in vitro</i> de Plátano Cuerno Enano.	34
Cuadro 4. Diferentes sustratos de cultivos en el ensayo de aclimatación de plátano Cuerno Enano.	35
Cuadro 5. Efectos de siete combinaciones en la variable tasa de proliferación en el ensayo de multiplicación según el estadístico Duncan.	39
Cuadro 6. Muestra los efectos de siete combinaciones, en la variable longitud del brote en el ensayo de multiplicación según estadístico Duncan.	42
Cuadro 7. Muestra los efectos de siete combinaciones, en la variable número de hojas en el ensayo de multiplicación según estadístico Duncan.....	44
Cuadro 8. Análisis de prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett en las diferentes combinaciones.....	46
Cuadro 9. Pruebas de contraste inter-sujetos en el número de raíces por planta en el ensayo de regeneración.	50
Cuadro 10. Pruebas de contraste inter-sujetos en el número de hojas en el ensayo de regeneración.	55
Cuadro 11. Análisis estadísticos descriptivo sobre la prueba binomial en la variable sobrevivencia.	56
Cuadro 12. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable longitud del pseudotallo cm según el estadístico Duncan.	59
Cuadro 13. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable Diámetro de base cm según el estadístico Duncan.....	61
Cuadro 14. Correlación de Pearson por sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v), tierra-arena-arroz (t.a.a) y vermiculita-arena-arroz (v.a.a) en la variable longitud del pseudotallo cm y Diámetro de base cm.....	62
Cuadro 15. Promedio del número de raíces en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano cuerno enano mediante el análisis estadístico de Duncan.....	65



Índice de Gráficos

Gráficos	Páginas
Gráfico 1. Media de la tasa de proliferación de plátano Cuerno Enano	38
Gráfico 2. Media de la variable longitud del brote realizado en el ensayo de multiplicación.....	40
Gráfico 3. Media de la variable número de hojas realizadas en el ensayo de proliferación.....	43
Gráfico 4. Modelo matemático de proyección para ensayo de multiplicación in vitro de plátano cultivar Cuerno Enano utilizando el Coeficientes del polinomio de segundo grado.	47
Gráfico 5. Medias del número de raíces por planta en el ensayo de regeneración en plátano Cuerno Enano.	49
Gráfico 6. Medias de Longitud de la raíz en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de regeneración.....	51
Gráfico 7. Medias de la variable longitud de la raíz en relación a la variable número de raíces por planta.	52
Gráfico 8. Medias de la longitud del brote en el ensayo de regeneración en plátano cuerno enano.	53
Gráfico 9. Media de la Longitud del pseudotallo en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación.....	58
Gráfico 10. Media del diámetro de base en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación.....	60
Gráfico 11. Promedio del número de hojas en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano Cuerno Enano.....	63
Gráfico 12. Promedio del número de raíces en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano cuerno enano.....	64
Gráfico 13. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v); tierra-arena-arroz (t.a.a); vermiculita-arena-arroz;(v.a.a) en la variable longitud de la raíz cm en el ensayo de aclimatación en plátano Cuerno Enano.	66



Índice de Figuras

Figuras	Páginas
Figura 1. Plantas de Cuerno Enano en la etapa de multiplicación un medio MS conteniendo 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA.....	37
Figura 2. Plantas bien desarrolladas con abundantes raíces y de buen tamaño en el ensayo de regeneración del plátano Cuerno Enano.....	55
Figura 3. Ensayo de aclimatación del plátano cultivar Cuerno Enano. Plantas adaptadas para su siembra al campo.	57
Figura 4. Ensayo de aclimatación. A) Siembra de las plantas in vitro sacadas del laboratorio. B) Túnel de crecimiento para las plantas in vitro en el invernadero.	67



Índice de Anexos

Cuadros	Páginas
Cuadro 16. Composición del medios de cultivo utilizado en el ensayos de establecimiento del Plátano cultivar Cuerno Enano (Protocolo Laboratorio de Cultivo de Tejido UNAN-león).	78
Cuadro 17. Composición de los mejores medios de cultivo utilizado en los ensayos de multiplicación y regeneración del Plátano cultivar Cuerno Enano.	79
Cuadro 18. Análisis de regresión para la variable dependiente tasa de proliferación.	80
Cuadro 19. Análisis de varianza univariante para la variable dependiente tasa de proliferación.	80
Cuadro 20. Medias de la variable dependiente tasa de proliferación con respecto a las combinaciones estudiadas mediante un análisis univariante (ANOVA).	81
Cuadro 21. Análisis de varianza univariante para la variable dependiente Número de raíces por planta.	82
Cuadro 22. Muestra los efectos de las combinaciones y el testigo en la variable número de raíces por planta en el ensayo de regeneración según estadístico Duncan.	82
Cuadro 23. Muestras los efectos de respuestas de las combinaciones más el testigo en la variable longitud del brote cm según el estadístico Duncan.	83
Cuadro 24. Muestras los efectos de respuestas de las combinaciones más el testigo en la variable longitud de la raíz cm según el estadístico Duncan.	83
Cuadro 25. Análisis de prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett en las diferentes combinaciones.	84
Cuadro 26. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato tierra-arena-arroz).	84
Cuadro 27. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato tierra-arena-vermiculita).	84
Cuadro 28. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato vermiculita-arena-arroz).	85
Cuadro 29. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable número de hojas según el estadístico Duncan.	85
Cuadro 30. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable longitud de raíz según el estadístico Duncan.	85



Resumen

La investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León) con el propósito de optimizar un protocolo de micropropagación de plátano Cuerno Enano en el periodo comprendido de mayo 2013 a junio del 2014. El material vegetal utilizado en los ensayos fue tomado de la finca El Pegón propiedad de la UNAN-León, el cual fue debidamente procesado y establecido en condiciones *in vitro* para obtener los materiales iniciales en condiciones asépticas. En el ensayo de multiplicación se estudió la respuesta de los tejidos vegetales a los medios en relación a la variable tasa de proliferación. En el ensayo de regeneración se evaluaron las variables número de raíces, longitud de la raíz principal, longitud del brote y número de hojas y en el ensayo de aclimatación se evaluó el porcentaje de sobrevivencia y las variables morfológicas con respecto a los sustratos usados. En los ensayos de multiplicación y regeneración se utilizó el Diseño Completamente aleatorizado (DCA) con un análisis de Varianza unifactorial, se determinaron los mejores combinaciones mediante el análisis estadístico de Duncan y Dunnett. La mejor combinación donde se obtuvo la mayor proliferación fue en el medio de cultivo 2.00 mg/l BAP y 0.15 mg/l AIA con una media de 2.36 brotes por plantas. El mejor promedio de número de raíces en el ensayo de regeneración fue en las combinaciones de 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA con una media 5.34 y 6.12 raíces por plantas, las combinaciones 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA presentaron mayor longitud de raíces por planta con un promedio de 7.98 y 7.53 cm; sin embargo en estas mismas combinaciones la longitud del brote con una altura de 4.93 y 5.06 cm son los valores más altos.

En el ensayo de aclimatación el sustrato que contenía tierra-arena-arroz en proporciones (1:1:1) fue el que presentó mayor sobrevivencia con un porcentaje de 90.6 %; el sustrato, tierra-arena-vermiculita (1:1:1) con 90 % y vermiculita-arena-arroz (1:1:1) con un 82.8 %. La longitud de pseudotallo obtuvo mayor respuesta en los sustratos que contenía tierra-arena-arroz (t-a-a) con un promedio de 0.6453 cm y el mayor diámetro de base se alcanzó en los sustratos tierra-arena-vermiculita (t-a-v) con un promedio de 0.573cm.



I. Introducción

El plátano (*Musa spp.*) es una fruta tropical originaria en el suroeste asiático, perteneciente a la familia de las *musáceas*, es un híbrido triploide de *Musa acuminata* y *Musa balbisiana* (Simmonds, 1962). Esta fruta fue una de las primeras que se cultivaron por los agricultores primitivos (Soto; 1985). Tiene un alto valor nutritivo, Es rica especialmente en potasio, vitamina C, B6 y ácido fólico. Combinados con su fibra, los tres azúcares naturales que contiene (sacarosa, fructosa y glucosa) es una inyección instantánea y sostenida de energía para el cuerpo humano (Valera y Trujillo, 2013).

El plátano es un producto tropical de gran importancia económica y de seguridad alimentaria en la región centroamericana. Es un fruto que se produce en las regiones de poco desarrollo industrial, y se comercializa en fresco y en menor escala, como producto procesado (MIFIC, 2009).

En Nicaragua, el cultivo de plátano se concentra más en la región del Pacífico principalmente en los departamentos de Rivas y Chinandega donde se cultivan 13,916 ha que están distribuidas en 83 ha de banano, 8,500 ha de plátano y 5,416 ha de guineo para el mercado nacional e internacional (MIFIC, 2007).

Los productores de plátano en Nicaragua afrontan el problema de utilizar semilla de mala calidad, lo que ha provocado una reducción drástica en los rendimientos de este cultivo. La aplicación de las técnicas de cultivos in vitro permite producir plantas en cortos periodos y en áreas reducidas y de buena calidad fitosanitaria.

El cultivo de tejido puede definirse como un conjunto de técnicas que permiten el desarrollo de plantas en medios de cultivos artificiales (Canchignia, *et al.* 2008). Esta aplicación práctica es una de las más importantes para la obtención de grandes volúmenes de material vegetal a partir de un ápice (explantes), en la propagación de plátanos y bananos libres de plagas y enfermedades fitopatológica, así como la conservación y el intercambio de



germoplasma que constituyen importantes aplicaciones de estas técnicas (Chavarría y López, 2010).

La importancia de esta investigación es lograr una optimización de un protocolo de micropropagación de plátano Cuerno Enano. Por lo tanto se realizaron diferentes experimentos, definiendo las mejores combinaciones que garantizan un mejor manejo en las diferentes etapas *in vitro*.

La aplicación de reguladores de crecimiento como auxinas y citocininas, a diferentes niveles de acción biológica en un tejido, pueden conducir la formación de brotes, alternativamente de raíces y/o a la proliferación de masas celulares sin mayor organización (Blanco *et. al*, 2013). En este trabajo se evalúa la respuesta de ápices caulinares de plátano Cuerno Enano cultivado *in vitro*, en diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento Acido Indolacetico (AIA) y Benzilamino purina (BAP) en relación a su respuesta a la tasa de multiplicación y a la capacidad de regeneración.

La selección del sustrato para la aclimatación de las plantas producidas *in vitro* es determinante para garantizar la sobrevivencia del material por eso evaluamos el efecto de diferentes combinaciones de sustratos, tierra, arena vermiculita, cascarilla de arroz.



1.1 Objetivo General

- Optimizar un protocolo de micropropagación de la variedad de plátano (*Musa spp. AAB*) *Cuerno Enano*.

Objetivos Específicos

- Determinar la combinación más efectiva de reguladores de crecimiento Benzilamino purina (BAP) y Ácido Indolacético (AIA) en el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) que induzca una óptima tasa de proliferación de yemas axilares.
- Determinar la combinación óptima BAP y AIA en medio MS que induzca una mayor capacidad regenerativa de brotes de plátano *Cuerno Enano*.
- Evaluar sobrevivencia y comportamiento morfológico del plátano cultivar *Cuerno Enano* en el ensayo de aclimatación, utilizando tres tipos de sustrato.



1.2 Hipótesis

- **Ho:**

No existen diferencias significativas en la tasa de multiplicación y en la capacidad de regeneración de plátano *Cuerno Enano* cuando es cultivado *in vitro*, a diferentes combinaciones de Benzilamino purina (BAP) y Ácido Indolacético (AIA).

No existe diferencia significativa sobre el porcentaje de sobrevivencia de plantas de *Cuerno Enano* producidas *in vitro*, cuando son aclimatadas en diferentes sustratos.

- **Ha:**

Si existen diferencias significativas en la tasa de multiplicación y en la capacidad de regeneración de plátano *Cuerno Enano* cuando es cultivado *in vitro*, a diferentes combinaciones de Benzilamino purina (BAP) y Ácido Indolacético (AIA).

Si existe diferencia significativa sobre el porcentaje de sobrevivencia de plantas de *Cuerno Enano* producidas *in vitro*, cuando son aclimatadas en diferentes sustratos.



1.3 Antecedentes

Se han realizado diferentes investigaciones en cultivo de tejidos de *Musa spp.*, (Caldera y López, 2002), utilizó ápices caulinares de plátano de la variedad Cuerno Enano, para mejorar la eficiencia de la metodología de micropropagación, reportando que la hormona Benzilamino purina (BAP) y Ácido Indolacético (AIA) en el ensayo de multiplicación determinaron los mejores tratamientos de brotación con los medios suplementados con 4 y 5 mg/l de BAP con una tasa de proliferación de 4.2 y 4.46 respectivamente, a través del análisis de varianza y separación de Medias de Tukey ($\alpha=0.05$). De igual manera se comprobó que el medio Murashige y Skoog (MS) para el ensayo de enraizamiento los mejores resultados se obtuvieron en concentraciones de sacarosas entre 30 g/l y 60 g/l combinadas con 1 y 2 mg/l de Ácido Indolacético.

Canchignia F., L Ramos, (2004), cultivaron *in vitro* explantes de plátano variedad Barragante, determinando que las mayores tasas de multiplicación se alcanzaban cuando los brotes eran cultivados en medios Murashige y Skoog MS suplementado con 2,5 mg/l de BAP + 0,8 mg/l AIA, logrando una tasa de multiplicación promedio de 5,250 brotes por explantes. El enraizamiento *ex vitro* y aclimatación, en la variable altura de la planta presentó diferencia significativa en los sustratos arena y carboncillo donde se obtuvieron los mejores resultados. Presentando valores respectivos de 5.17 cm y 6.57 cm. Estos tratamientos fueron superiores al sustrato que contenía tierra de huerta con valor de 3.08 cm.

Otra de las investigaciones realizada en la variedad de plátano cuerno gigante por (Cortez *et. al*, 2007), que obtuvo el mayor número de brotación de *Cuerno Gigante* cuando utilizó un medio MS suplementado con 4.5 mg/l de Benzilamino purina con una tasa media de proliferación de 2.44 plántulas por brotes.



La investigación desarrollada por el equipo de trabajo de (Canchignia Martínez et. al,2008) usando la variedad de plátano maqueño encontraron que la mejor respuesta en la tasa de multiplicación se obtuvo con el tratamiento 5 mg/l de BAP+ 1.2 mg/l AIA con un valor promedio de 2.5. En la fase de desarrollo el mejor resultado se logró en el tratamiento compuesto por MS + 20 g sacarosa + 1 g de carbón activado. En la aclimatación y el enraizamiento *ex vitro* de las vitro plantas la mejor respuesta se alcanzó en el sustrato tierra de campo obteniéndose mayor número de plantas adaptadas, con una longitud de raíz 6.1 cm, el sustrato conformado por casulla de arroz originó un menor porcentaje de sobrevivencia.

La investigación desarrollada por el equipo de trabajo de (José Luis Hoyos et.al,2008) evaluando el efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano Dominico Hartón, utilizando concentraciones de BAP y AIA en arreglo factorial 3x3: 0.01; 0.5 y 5 mg/l, logró determinar que el mayor número de brotes se obtuvo con las combinaciones 5mg/l de BAP / 0.5mg/l de AIA y 5mg/l de BAP / 0.01mg/L de AIA.

Chavarría y López 2010, utilizando ápices caulinares de plátano de la variedad cuerno gigante, determinaron las mejores tratamientos para inducir brotación y enraizamiento, determinando que los medios MS que contenían 2 mg/l de BAP incrementaron los porcentajes de brotación con 5 y 7 plantas en frascos que contenían 220 ml y 430 ml de medio y en el ensayo de enraizamiento la mejor producción de raíces se obtuvo en un medio MS de consistencia semisólida con 30 g/l de sacarosa.



II. Literatura Revisada

2.1. Micropropagación

La micropropagación es una técnica de propagación vegetativa basada en la capacidad que poseen las células vegetales en dividirse y de regenerar órganos y plantas enteras, cuando son sometidas a condiciones nutritivas y ambientales adecuadas y son estimuladas con determinados reguladores de crecimiento.

La propagación de plantas *in vitro* es una herramienta muy utilizada en cultivos de importancia económica. Permite cultivar células, tejidos, órganos, semillas, embriones y obtener individuos selectos en forma rápida. Los cultivos son realizados por personal especializado en medios específicos (hormonas, minerales, vitaminas, fuente de carbono, agente gelificante, agua, etc.) y condiciones ambientales controladas (temperatura, humedad y luz), (Segretín, 2006).

El cultivo *in vitro* permite el crecimiento y desarrollo de material vegetal en recipientes que lo separan del ambiente exterior y lo mantienen en condiciones controladas y asépticas. Entre las diversas técnicas de cultivo *in vitro*, la micropropagación consiste en la producción clonal de vegetales a partir generalmente, de ápices o explantes nodales de una planta madre. La gran producción de nuevas plantas se ve favorecida gracias al rápido crecimiento del material vegetal *in vitro* y a la proliferación de tallos.

Las técnicas de cultivo *in vitro* incluyen diferentes diseños experimentales en función del tipo de explantes con el que se trabaje y del fin que se quiera obtener en el estudio. Por una parte, algunos protocolos persiguen la formación *in vitro* de órganos como brotes caulinares, raíces y embriones, con vista a la regeneración de plantas completas (Ibáñez, 2013).



La micropropagación de banano, consiste en cultivar asépticamente ápices provenientes de hijuelos, en un medio nutritivo artificial, adicionando reguladores de crecimiento para estimular la multiplicación y poder desarrollar un organismo completo mediante el proceso de regeneración de las células vegetales (Sandoval *et. al*,1991).

2.2 Selección del Material Vegetal.

Para introducir *in vitro* un material vegetal que se ha desarrollado en el exterior es imprescindible tomar una serie de medidas encaminadas a eliminar los posibles microorganismos que puedan estar establecidos sobre él. En primer lugar hay que seleccionar material vegetal en un adecuado estado de nutrición, libre de enfermedades y plagas. Si el material presentase algún problema habría que descartarlo o realizar los tratamientos adecuados.

Una vez seleccionado el material vegetal, y previamente a la introducción *in vitro*, es conveniente someterle a una serie de tratamientos para reducir al máximo los microorganismos superficiales. Por ejemplo se pueden realizar aplicaciones periódicas de fungicidas y bactericidas sistémicos. Algunos microorganismos pueden tener una alta capacidad saprofítica que les permite colonizar rápidamente el medio de cultivo e imposibilitar el desarrollo del material vegetal.

El paso previo a la instalación *in vitro* de un material vegetal es la asepsia superficial. El protocolo de este proceso dependerá de las características del tejido empleado. Para trabajar en condiciones asépticas, es recomendable realizar este proceso en una cámara de flujo laminar y emplear material estéril. El ambiente debe mantenerse limpio con la superficie de trabajo desinfectada con etanol al 70% antes y después de usarla. Se debe usar bata de laboratorio y lavarse bien las manos (Navarro, L, 1979).



2.3 Etapas de la Micropropagación

Dentro del proceso de micropropagación diferenciamos varias etapas:

- 0: Preparación del material vegetal
- 1: Establecimiento del cultivo
- 2: Multiplicación de brotes
- 3: Regeneración de brotes
- 4: Aclimatación de plantas *ex vitro*

2.3.1 Etapa 0: Preparación del Material Vegetal

La correcta elección y preparación del explantes incide directamente sobre la calidad del mismo y su respuesta frente a los dos principales problemas que afectan al establecimiento del cultivo que son: la contaminación con microorganismos y la oxidación. Los factores que influyen sobre la calidad son: el tipo de órgano que sirve como explantes, la edad ontogénica y fisiológica del mismo, la estación en la cual se colecta el material vegetal, el tamaño y el estado sanitario general de la planta donante.

La planta donante debe elegirse en base a una selección masal positiva para las características agronómicas deseables. Una vez seleccionados los individuos, es preciso definir el tipo de explantes a establecer en condiciones *in vitro*. En general, los órganos jóvenes o bien rejuvenecidos son los que tienen mejor respuesta en el establecimiento que los obtenidos a partir de materiales adultos.



2.3.2 Etapa 1: Establecimiento del Cultivo

El objetivo de esta etapa es establecer cultivos viables y axénicos. El éxito está determinado por la calidad del explantes a utilizar. En esta etapa los principales procesos a controlar son:

- selección,
- el aislamiento y la
- esterilización de los explantes.

Los materiales que demuestran tener mayor capacidad regenerativa son los obtenidos de tejidos meristemáticos jóvenes, ya sean yemas axilares o adventicias, embriones o semillas.

En este sentido, es importante señalar que el empleo de yemas adventicias (también llamadas yemas formadas de *novó*) está asociado con una mayor probabilidad de ocurrencia de variantes somaclonales respecto de los sistemas de propagación basados en la regeneración a partir de yemas axilares o embriones somáticos.

La desinfección superficial incluye varios pasos: el lavado de los explantes con agua corriente, el empleo de etanol al 70% por 1 minuto, seguido de concentraciones variables de hipoclorito de sodio (0,5 a 1,5% de cloro activo) con unas gotas de Tween20 para favorecer su penetración y actividad (Sandoval, 1985). Posteriormente, los explantes deben ser enjuagados al menos tres veces con agua destilada estéril. Algunos patógenos permanecen latentes y se expresan cuando son transferidos a un medio de cultivo nuevo.



2.3.3 Etapa 2: Multiplicación de los Brotes

La multiplicación *in vitro* es la más importante del proceso de la micropropagación, en la que se debe asegurar la propagación de los brotes caulinares y la estabilidad genética de las plantas propagadas (Caldera y López, 2002).

Durante esta etapa se espera mantener y aumentar la cantidad de brotes para los nuevos ciclos de multiplicación (repeticiones) y poder destinar parte de ellos a la siguiente etapa de producción (enraizamiento, bulbificación, etc.). Ambas vías de regeneración, organogénesis y embriogénesis, pueden darse en forma directa o indirecta.

Los medios de cultivo y los reguladores de crecimiento como auxinas, citocininas y ácido giberélico y las condiciones de crecimiento juegan un papel crítico sobre la multiplicación clonal de los explantes. La organogénesis puede darse por inducción de yemas axilares o adventicias. La embriogénesis somática es una vía más conveniente porque permite saltar las etapas de formación de yemas y enraizamiento, regenerando plantas en una forma mucho más rápida y eficiente. A su vez, la disponibilidad de protocolos para la obtención de embriones somáticos es clave para la automatización de la micropropagación y la consecuente reducción de costos para su implementación a escala comercial (Damasco *et. al*, 1984).

2.3.4 Etapa 3: Regeneración de los Brotes

Es la parte más voluminosa de todas las etapas de la micropropagación ya que cada brote formado durante la fase de multiplicación debe ser cultivada y manejada *in vitro* para que crezca y se desarrolle un pseudotallo con hojas y raíces que le permitan la absorción de nutrientes al trasplantarse a un sustrato que le permita su desarrollo completo y adaptarse en el invernadero (Chavarría y López, 2010).



La regeneración de brotes propagados *in vitro* es de gran importancia debido a que tiene como objetivo producir plantas con buenas características fisiológicas y morfológicas que puedan sobrevivir en las condiciones del trasplante al suelo. La formación del sistema radical y el crecimiento de las raíces son fundamentales para lograrla transferencia de las vitroplantas a condiciones de invernadero (Ruscitti *et. al*, 2000).

El propósito final es la formación de plantas completas regeneradas con desarrollo de raíces adventicias, alargamiento y engrosamiento en los brotes obtenidos del ensayo de multiplicación. El proceso de enraizamiento en los brotes propagados *in vitro* requiere generalmente el trasplante a un medio de cultivo modificado.

Así mismo, se requiere cambiar el balance hormonal, esto es, disminuir las citoquininas y aumentar las auxinas (Villalobos y Torpe, 1993). Entre los efectos auxínicos en las plantas, se encuentra la formación de raíces (Barba, 1991).

2.3.5 Etapa 4: Aclimatación de Plantas *ex vitro*

La aclimatación es considerada una de las más importantes en la micropropagación ya que pretende lograr un alto porcentaje de sobrevivencia y adaptación de las plantas al medio externo. En esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferentes tipos como el estrés asociado a la transpiración acelerada de las plantas durante los días iniciales del trasplante estas puede reducir considerablemente la tasa de supervivencia.

Por ello, es conveniente contar con instalaciones de invernadero o cámaras de crecimiento adecuadas para brindar temperatura y humedad relativa moderadas que permitan lograr la rusticación de las plantas en forma progresiva. Bajo estas condiciones *ex vitro* se utilizan diferentes sustratos, mezclas de tierra, arena, casulla de arroz, vermiculita y/o abonos, los cuales convienen que estén debidamente desinfectados (Olmos, *et. al*, s.f).



Los sustratos pueden ser de materiales sólidos o porosos de origen natural o sintético que solos o combinados garantizan un adecuado crecimiento de las plantas bajo condiciones ambientales controladas. Tienen como función suministrar a las plantas sostén mecánico, a la vez permitir que las raíces tomen aires y agua, este puede o no intervenir en el complejo proceso de nutrición vegetal (Caldera y López, 2002).

2.4 Medios de Cultivos

La preparación de un medio de cultivo usando como base las sales minerales del medio de Murashige y Skoog (1962) MS permite proveer los nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta. Las características distintivas de este medio de cultivo MS es que poseen contenido de sales especialmente de macronutrientes y micronutrientes. La manipulación de reguladores de crecimiento como auxina y citoquininas va a generar respuesta en cuanto a morfología de los tejidos; y esta podría variar desde la formación de tejido calloso no diferenciado, hasta la formación de raíces, yemas, o embriones. (Blanco, 2013).

Cuadro 1. Componente de medios de cultivo para células vegetales (Segretín, 2006).

Componentes	Características y ejemplos
Fuente de carbono	Generalmente se usa sacarosa. La fuente de carbono se necesita porque los explantes no son completamente autótrofos, y no pueden cubrir sus necesidades con la fotosíntesis que pueden realizar <i>in vitro</i> .
Sustancia inorgánica	Macroelementos (N, P, Ca, Mg, S) y Microelementos (Fe, Co, Zn, Ni, B, Al, Mn, Mo, Cu, L), en una proporción adecuada según la planta elegida.
Vitaminas	Vitaminas B1, B2, B6, vitaminas H, vitamina E, ácido fólico, ácido nicotínico, entre otras.
Hormonas y reguladores de crecimiento	Auxinas: Citoquininas: Otras: giberelinas, ácido abscísico, etileno
Mezcla de sustancia poco definidas	Extracto de levadura, extractos vegetales.
Materiales inerte	Se usan como soporte: Agar, agarosa, otros polisacáridos, lana de vidrio, papel filtro, arena.



2.4.1 Composición Mineral

La composición mineral se define en forma precisa en cada uno de los medios y está dada tanto por los Macroelementos (N, P, K, S, Mg y Ca) como por los Microelementos (B, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, I y Fe) (Calderón y Gonzales, 2009).

Estos nutrientes deben estar en una concentración tal que permita el adecuado crecimiento celular. Los requerimientos de nitrógeno son generalmente provistos por una mezcla de nitrato y amonio en concentraciones variables entre 3 y 50 mM.

El hierro es esencial para el crecimiento celular y se agrega al medio de cultivo en una concentración de 0,01 a 0,15 mM. Se aconseja la utilización del quelato Fe-EDTA que aumenta la solubilidad del hierro. La naturaleza y concentración de los micronutrientes empleados en los medios de cultivo surgen principalmente de resultados empíricos al evaluar la capacidad de cada elemento de afectar el crecimiento.

2.4.2 Vitaminas

Si bien las plantas son autótrofas, puede ser necesario añadir al medio de cultivo algunas vitaminas hasta que los cultivos prosperen. Las vitaminas favorecedoras del desarrollo de cultivos *in vitro* y que se añaden rutinariamente en la mayoría de los medios de cultivo son: tiamina (B1), piridoxina (B6) y ácido nicotínico. Otras vitaminas que suelen ser útiles son ácido pantoténico, biotina, riboflavina (B2), colina, cianocobalamina (B12) y ácido fólico. El ácido ascórbico (vitamina C) se considera benéfico en algunos casos, pero probablemente debido más a su capacidad reductora que a su papel como vitamina.



2.4.3 pH

El pH de los medios de cultivo generalmente se ajusta entre pH 5,5 y 6,0, ya que permite que los macronutrientes y micronutrientes permanezcan en forma asimilable para la planta. Se emplean soluciones 1 normal (N) y 0,1 N de NaOH, KOH para subirlo y para bajarlo HCl al 1 normal (N).

2.4.4 El Agente Gelificante

En los medios semisólidos comúnmente el agente gelificante más usado es el agar en polvo, a una concentración de 0,5% al 1% .Se debe considerar la pureza del agar, por la presencia de impurezas que no afecte el desarrollo del explante (Hartman y Kester, 1998).

La principal característica del agar es su total disolución en agua al ser calentado a 85-100 °C, y su gelificación alrededor de los 35 °C. Es termorreversible, es decir, se puede volver a disolver y a gelificar repetidas veces mediante variaciones en la temperatura y se puede autoclavar.

Existen otras series de agentes gelificante entre estas se encuentran:

- Chubut–Agar
- Agar SIGMA.
- Agargel.
- Transfergel.
- Phytigel.
- Agarosa.
- Gel rite.



2.4.5 Carbón Activado

El carbón activado se ha usado para superar problemas específicos de oxidación. La adición de esta sustancia a los cultivos embriogénicos promueve su desarrollo cuando este ha sido inhibido, ya que al parecer absorbe del medio los compuestos fenólicos (Litz & Jarret, 1991).

2.5 Reguladores del Crecimiento Vegetal

Los reguladores del crecimiento vegetal son moléculas orgánicas difusibles que modulan procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, siendo eficaces a bajas concentraciones internas. La presencia y acción conjunta de dos fitohormonas (como por ejemplo auxinas y citocininas) puede inducir y fijar un tipo determinado de expresión morfogénica de acuerdo a los niveles relativos entre sí, o de cada una de ellas, en un tejido. Así por ejemplo, auxinas y citocininas, de acuerdo a su nivel relativo pueden conducir la formación de brotes, alternativamente de raíces y/o a la proliferación de masas celulares sin mayor organización (Blanco *et. al*, 2013).

El balance hormonal de los reguladores de crecimiento como: auxinas y citocininas es primordial en el coeficiente de multiplicación, con un balance apropiado es posible alcanzar elevadas tasas de proliferación (Orellana, 1998).

La presencia de hormonas en diferentes niveles en las plantas y sus células, permite que éstas desarrollen caminos morfogénicos alternativos muy distintos, por lo general es que las células en crecimiento por acción de varias hormonas expresen división y elongación celular; sin embargo, y especialmente bajo condiciones *in vitro*, se ha observado que tales células inician procesos de diferenciación bajo ciertos niveles hormonales (Jordán y Casaretto, 2006).

Los reguladores del crecimiento que resultan útiles para el establecimiento y Crecimiento de los cultivos de tejidos vegetales, así como para la producción de metabolitos se agrupan en varias categorías, de acuerdo a su estructura, tal como se describe en los ítems siguientes.



2.5.1 Auxinas

Es una familia de sustancias químicas que tienen en común la capacidad de regular el crecimiento, la división celular y la diferenciación de raíces en los cultivos *in vitro*. En las plantas, las auxinas intervienen en el tropismo a la gravedad y a la luz, la dominancia apical, el crecimiento de las partes florales y la diferenciación de los tejidos vasculares (Davies, 1995).

Las auxinas más utilizadas son el AIA (ácido indol-3-acético), el AIB (ácido indolbutírico), el ANA (ácido α -naftalenacético), el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), el pCPA (ácido *p*-clorofenoxiacético) y el BTOA (ácido benzotiazol-2-oxiacético). Las tres primera son natural y las tres últimas son sintéticas.

2.5.2 Citocininas

Son derivados de la adenina que promueven la división celular. Entre ellas cabe mencionar las siguientes: BA (bencil adenina), K (cinetina o 6-furfuril aminopurina), Zea (zeatina) y 2-iP (N-isopentenil adenina). Las dos primeras son Citocininas sintéticas y las dos últimas naturales.

Las citocinas *in vivo* incrementan la tasa de división celular, el transporte de Solutos hacia las hojas, semillas, flores y frutos y producen un retardo de la senescencia de las hojas. La proporción entre auxinas y citocininas permite regular la organogénesis o la dediferenciación, por lo que se deben programar las concentraciones de auxinas y citocininas a través de diseños factoriales para cada especie y variedad vegetal y según el objetivo del trabajo (Salisbury & Ross, 1994).

En general, cuando la relación auxina/citocinina es alta se forman raíces, cuando es baja se producen vástagos y con relaciones cercanas a 1 se producen callos (Krikorian, 1995).



2.6 Condiciones Ambientales de Cultivo

Los cultivos de tejidos vegetales deben mantenerse en condiciones ambientales semejantes a las naturales más favorables. La luz, la temperatura y la humedad relativa son los principales factores del ambiente que inciden sobre los cultivos.

El comportamiento de muchos cultivos depende de la calidad, intensidad y Fotoperiodo de la luz que reciben, dado que varias enzimas involucradas en el desarrollo y en el metabolismo secundario son influenciadas por la luz. La mayoría de los cultivos desarrollan a una intensidad luminosa entre 5 a 25 W/m² (1000 a 5000 lux).

Si bien la calidad de la luz puede determinar diferentes respuestas morfo génicas, en general se utiliza luz blanca, pobre en longitudes de onda larga. El fotoperiodo habitualmente utilizado es de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, aunque algunos cultivos requieren oscuridad.

2.7 Tipos de Cultivos

La producción de plantas y de metanolitos puede realizarse mediante cultivos de tejidos vegetales diferenciados o indiferenciados.

2.7.1 Cultivos Diferenciados

Los métodos de regeneración de plantas por cultivo *in vitro* incluyen la embriogénesis somática y la organogénesis.



2.7.2 Embriogénesis Somática

Los embriones que no resultan de la fusión de gametos se definen como embriones somáticos, asexuales o adventicios. Son estructuras bipolares con un eje radical-apical, no poseen conexión vascular con el tejido materno y son capaces de crecer y formar plantas normales. La embriogénesis somática se puede obtener directamente a partir de células aisladas o utilizando callos (Litz & Jarret, 1991).

2.7.3 Organogénesis

La organogénesis consiste en la formación de un primordio unipolar a partir de una yema y el desarrollo de ese primordio en brotes vegetativos que luego enraízan vía la formación y proliferación de meristemas radicales. Los brotes pueden formarse directamente del explantes (organogénesis directa) o indirectamente a partir de callos (Jiménez González, 1998).

La organogénesis se desarrolla por inoculación de tejido meristemáticos estéril (yemas axilares o adventicias) en un medio suplementado con niveles óptimos de sales, de compuestos orgánicos y de reguladores de crecimiento.

La micropropagación es la tecnología más difundida de propagación masiva de plantas vía organogénesis. Consiste en un conjunto de procedimientos asépticos de cultivo de órganos, tejidos o células que permitan la producción de poblaciones de plántulas idénticas a la planta original de la que se derivan (Krikorian, 1991).



2.7.4 Ventajas y Desventajas de la Micropropagación

Algunas de las ventajas de la técnica de micropropagación in vitro es que mediante esta técnica metodológica se puede obtener altas tasas de multiplicación. Por otra parte, (Vasil y Vasil,1980), comparando la micropropagación in vitro con los métodos tradicionales encontraron, que permite obtener plantas de calidad uniforme, además crecen y maduran más rápidos que las propagadas tradicionalmente. A partir de un ápice (explantes inicial) es posible lograr, en el lapso de un año, varios centenares de plantas que son fuentes de semillas sanas, libre de nematodos, hongos y bacterias en comparación con aquellas obtenidas por medio de la propagación convencional. Es posible también, aunque no en todos los casos, la obtención de plantas libres de virus. Así mismo se facilita la conservación y el intercambio internacional de germoplasma (Muller y Sandoval, 1986).

Durante la micropropagación puede presentarse variación somaclonal causada por diferentes factores (Smith, 1988). En un artículo publicado sobre la variación genética en plantas de *Musa* propagadas a través de cultivo de tejido, afirmo que las variaciones somaclonales en este tipo de cultivo son influenciadas por factores intrínsecos tales como la estabilidad genética del cultivar o genotipo micropropagado, y factores extrínsecos o inducidos por el cultivo; al respecto resumió los siguientes factores que influyen el nivel de variación somaclonal:

1. La formación de callos como fase del ciclo de propagación.
2. La prolongación del periodo de cultivo, lo que es lo mismo el número de sub-cultivos a que se somete a la planta en el laboratorio.
3. Las especies de propagación asexual pueden presentar mayor frecuencia de variación somaclonal que las plantas propagadas por semillas botánicas.
4. Algunos genotipos, durante la propagación por cultivo de tejido, son más inclinados a la inestabilidad genética que otros.



5. La composición del medio de cultivo particularmente la naturaleza y concentración de los reguladores de crecimiento pueden inducir a cambios genéticos en las plantas propagadas por cultivo de tejido.

Pérez y Orellana (1989), recomiendan que todos los años deben cambiarse los meristemas ya que cuando los cultivos tienen largos periodos *in vitro* ocurre habituación y esto se manifiesta con la activación de genes (cambios-epigenéticos) y la producción de citocininas principalmente.

En la micropropagación del cultivo de banano, el enanismo es la más común de las variaciones somaclonales o plantas fuera de tipo, que se observa especialmente en los clones (Vuylsteke, 1989).

2.8 Descripción Botánica de *Musa spp.*

Es una planta herbácea, que pertenece al grupo de las musáceas. Las raíces son gruesas, carnosas y se ramifican en pelos absorbentes, que son los responsables de la absorción del agua y los nutrientes. Normalmente, las raíces están situadas en los primeros 30 cm de profundidad (Agrolanzarote, 2012).

El verdadero tallo de la platanera es un órgano subterráneo que se le conoce como cabeza, cepa o cormo. De este órgano cilíndrico nacen las raíces, las hojas, los hijos y la inflorescencia. De la cabeza nacen los hijos, que crecen casi perpendiculares a la superficie de ésta y luego su extremo tiende a enderezarse para salir a la superficie del suelo de forma casi perpendicular.

Las hojas están dispuestas de forma helicoidal. El conjunto de vainas constituyen el pseudotallo o tronco. Las hojas nuevas cuando aparecen, se encuentran enrolladas y se le conoce como "cigarro". Las hojas suelen romperse de forma transversal con mucha facilidad, debido principalmente al viento, quedando en ocasiones totalmente desflecadas. El eje floral o raquis asciende por el interior del pseudotallo en posición vertical y terminando en un



racimo que emerge por la parte superior, lo que se conoce como parición (Agrolanzarote, 2012).

En el raquis se encuentran las brácteas que protegen las flores y son de color rojo púrpura. Las brácteas que cubren las flores femeninas se van replegando y caen.

Mientras, que las brácteas que cubren las manos masculinas se mantienen unidas al eje del racimo, formando lo que se conoce como bellota. Las flores son hermafroditas, aunque las primeras manos que se ven, tienen flores femeninas y son los que darán lugar a los plátanos. Los plátanos se desarrollan partenocápicamente, sin necesidad de polinización. El fruto es una baya alargada y algo encorvada (Agrolanzarote, 2012).

2.8.1 Morfología de la Planta

Rizoma

Constituye la parte fundamental en la estructura de la planta. Su desarrollo es subterráneo pero da origen a las raíces, al tronco o pseudotallo, constituido por el ensamble de las vainas foliares, a las hojas y finalmente, a los diferentes retoños o plantas hijas y a la inflorescencia que se convierte, posteriormente, en el racimo de cosecha.

Esta parte de la planta botánicamente denominada también como corno o bulbo, tiene forma ovoidea con la base plana y un ápice en el borde superior, en el que se encuentra insertado el meristemo y consta de dos partes. Una capa externa llamada zona cortica constituida por la exodermis y la epidermis y que realiza la función de protección de la zona interna o cilindro central, constituida básicamente por el parénquima y que representa la parte vital o fundamental del rizoma pues en ella se origina las raíces para la captación de los nutrientes del suelo (Taza, L, 1995).



Yemas

Se originan en protuberancia laterales del cilindro del rizoma, cada una con un meristemo apical que dará origen al desarrollo del futuro retoño o “planta hija”. La ubicación de cada yema corresponde al vértice de inserción de dos vainas foliares y la disposición de ellas sobre el rizoma.

El número de yemas que se alcanza su completo desarrollo hasta convertirse en retoños depende del vigor del rizoma de la planta madre (Taza, L, 1995).

Sistema Radicular

Este sistema está formado por raíces adventicias que, originadas en el cilindro central del cormo o rizoma, emergen en todo su contorno en una franja de 15 a 20 centímetros de ancho, considerados desde la base de inserción de las vainas foliares hacia la base del rizoma (Taza, L, 1995).

El diámetro promedio de las raíces fluctúa entre 7 y 8 milímetros pero las más gruesas alcanzan hasta 10 milímetros de diámetro. Las primeras raíces emergidas tienen poca longevidad pero. A medida que aumenta la edad de la planta, aumentan en longitud y en duración de su actividad funcional.

A partir de los tres meses, poco después iniciado la formación del segundo rizoma, comienza también la emisión de raíces en el nuevo cormo pero, aun dos meses después, el número de raíces del cormo originalmente sembrado es mucho mayor y, de hecho, es el responsable del desarrollo integral de la planta (Taza, L, 1995).

Floración

Dura aproximadamente tres meses. El tallo floral se eleva del cormo a través del pseudotallo y es visible hasta el momento de la aparición de la inflorescencia.



Fisiológicamente, esta fase se produce cuando ya la planta ha emitido un número grande de hojas verdaderas, pero que todavía le quedan de 10-12 por desarrollar.

El eje de la inflorescencia es la continuación del tallo floral. En éste, las hojas están reemplazadas por brácteas que recubren las flores (dedos); una vez que aparece la inflorescencia, las brácteas comienzan a abrirse, exponiendo los dedos, que inicialmente apuntan hacia abajo y posteriormente toman una posición inversa hacia arriba (Rodríguez, M y Guerrero, M. 2002).

La Inflorescencia y Frutos

Las flores son de color amarillentas, irregulares y con seis estambres, de los cuales uno es estéril, reducido a estaminodio petaloideo. El gineceo tiene tres pistilos, con ovario ínfero. El conjunto de la inflorescencia constituye el “régimen” de la platanera. Cada grupo de flores reunidas en cada bráctea forma una reunión de frutos llamada “mano”, que contiene de 3 a 20 frutos.

El fruto en una baya oblonga, durante el desarrollo del fruto éstos se doblan geotrópicamente, según el peso de este, determinando esta reacción la forma del racimo. Los plátanos son polimórficos, pudiendo contener de 5-20 manos, cada una con 2-20 frutos, siendo su color amarillo verdoso, amarillo, amarillo-rojizo o rojo dependiendo de la variedad (EcuRed, s.f).

Los plátanos comestibles son de partenocarpia vegetativa, o sea, desarrollan una masa de pulpa comestible sin ser necesaria la polinización. Los óvulos se atrofian pronto, pero pueden reconocerse en la pulpa comestible. La partenocarpia y la esterilidad son mecanismos diferentes, debido a cambios genéticos, que cuando menos son parcialmente independientes.

La mayoría de los frutos de la familia de las Musáceas comestibles son estériles, debido a un complejo de causas, entre otras, a genes específicos de esterilidad femenina, triploidía y cambios estructurales cromosómicos, en distintos grados (EcuRed, s.f).



2.8.2 Categoría Taxonómica de *Musa spp* (Taza, L, 1995).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Zingiberales

Familia: Musáceas

Género: Musa

Nombre científico: *Musa x paradisiaca* L.

2.8.3 Variedades de Plátano

Existen muchas variedades de plátano que se caracteriza por una constitución cromosómica triploide originada del cruce entre *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*.

Variedades Acuminata x Balbisiana (Plátanos Triploide AAB), (Taza, L, 1995).

- Dominico
- Barraganete
- Maqueño
- Manzano
- Limeño
- Cuerno Enano

2.9 Generalidad de Cultivo de Plátano en Nicaragua

Las musáceas es un cultivo cuyo fruto forma parte de la canasta básica alimenticia, además que es un generador de empleos y divisas debido a las exportaciones (Blanco y Carcache, 2007).

Por las condiciones biofísicas que presentan actualmente las zonas, se ubican en el rango aceptable para la siembra y explotación del cultivo; principalmente por el alto potencial de fuentes de agua para riego y la calidad de los suelos.



La producción de plátano de Nicaragua se lleva a cabo durante todo el año, esta actividad se concentra en la región del pacífico, principalmente en los departamentos de Rivas y Chinandega. En la actualidad no se conoce a ciencia cierta el área de siembra utilizada por este rubro. Estudios de la FHIA desarrollados en el 2004, reflejan un área destinada al cultivo de 10,000 hectáreas en producción, de las cuales 7.500 hectáreas se encuentran en la zona de Rivas. Por otro lado, estimados de la USAID en el 2006 reflejan un área de 10,000 hectáreas productivas para la zona de Rivas (Blanco y Carcache, 2007).

INIDE, 2005 plantea que de 25,125.42 manzanas de plátanos establecida a nivel nacional Rivas representa el 41 % de las áreas totales seguidos de las Regiones Autónomas RAAS y RAAN, encontrándose establecido en áreas compactas de unidades productivas manejadas por pequeños y medianos productores (Cenagro, 2012).

En cuanto a variedades de plátano en Nicaragua tenemos que los clones cuernos enanos, gigantes y FHIA 21, de estos, los dos primeros son los más cultivados, la diferencia lo hace la productividad, el clon gigante presenta alta rusticidad pero con menor productividad (30 dedos) siendo lo inverso para el clon de cuerno enano, con 40 dedos por racimos y con mayor exigencia de manejo, asimismo se maneja a nivel de literaturas que el clon FHIA, es el de más altas productividades, sin mayor números de dedos por racimos sin embargo en la práctica plataneros nos indicaron que este clon no posee mercado, para el mercado la fruta también presenta diferencia, a criterios de comercializadores los frutos provenientes de cuerno gigante registran menos perdidas al 33 transportarlo a granel o durante el almacenamiento (Cenagro, 2012).

En Nicaragua se cultivan diversos tipos de musáceas, entre ellas: Plátano gigante y plátano enano, banano, guineo, guineo pelipita, guineo caribe y guineo rosa (Blanco y Carcache, 2007).



2.10 Importancia Económica del Plátano en Nicaragua

Tradicionalmente la producción de plátanos, guineos y bananos en Nicaragua han sido actividades generadoras de ingreso y empleo desde la década de los 50's y desde principios del 2004, con el inicio de la actividad exportadora hacia los Estados Unidos, se abrieron espacios para la exploración y comercialización en Canadá y Centroamérica, en este último en especial para los países de Honduras y El Salvador donde usan el producto como materia prima para la agroindustria y exportar chips, tostones, maduros y harinas al mercado Centroamericano (Nicaragua, Costa Rica y Honduras), Estados Unidos y Canadá (APLARI, 2007).

Tras estas oportunidades de exportación, el rubro se ha convertido de interés en la generación de divisas para el país, principalmente en la exportación de fruta fresca y plátano pelado (APLARI, 2007).

Tradicionalmente las explotaciones semi tecnificadas ubicadas en las zonas de Buenos Aires, Potosí, San Jorge y Rivas por lo general eran quienes se dedicaban a la exportación de frutas frescas y en una menor proporción la zona de Chinandega. Sin embargo, con la apertura del mercado centroamericano y su alta demanda de productos, la exportación de plátano ha experimentado un crecimiento acelerado, a tal grado que medianos y pequeños productores con sistemas de producción semi tecnificado o tradicional, están incursionando en el mercado regional con su producto (Blanco y Carcache, 2007).

A pesar de estas incursiones al mercado regional e internacional, el mercado nacional sigue siendo una buena opción de mercadeo, pues mantienen una demanda constante y baja fluctuación de los precios de compra del producto.

En este sentido, los medianos y pequeños productores comercializan el plátano en los mercados mayoristas a través de intermediarios, o muy poco por venta directa del producto atendiendo la relación productor – detallista (Blanco y Carcache, 2007).



En el país, las instituciones o industrias de carácter privado que procesan frutas a nivel nacional son Parmalat, Eskimo y Pinula S.A., entre otras de carácter micro y mediana industria que corresponden a organizaciones no gubernamentales como Clusa, Cantonesas, Hodegar, Civite y Coofrutari y los principales productos que elaboran son leche con banano, yogurt, chips, chocobanano, banano pasa y platanito frito. El mercado y la comercialización se canalizan a través de distribuidoras, agencias, detallistas, supermercados, colegios públicos y privados y gasolineras (Blanco y Carcache, 2007).

2.11 Datos Generales sobre la Comercialización del Producto

En cuanto a los rendimientos, según las estadísticas de la FAO, el promedio mundial es de 6,3 ton/ha/año (24,513 plátanos) en gran parte de los países productores, sin embargo tenemos países como Perú que produce 12,2 ton/ha/año (47,471 plátanos) y Cuba con 8 ton/ha/año (31,129 plátanos), a nivel de los demás países centroamericanos únicamente se encuentran datos de Honduras que reporta plantaciones con densidades de siembra de 35 de Honduras que reporta plantaciones con densidades de siembra de 3,500 plantas por hectáreas con rendimientos de 36,364 plátanos por hectárea (Cenagro, 2012).

Los rendimientos en Nicaragua se rigen más por el tipo de siembra implementado que por la productividad propia de la planta, sin obviar que una planta mal manejada ve diezmado totalmente su productividad, sin embargo es la variable distancia de siembra y el arreglo o distribución de las plantas en el campo lo que marca la diferencia y tenemos significancias productivas por regiones, en tecnologías tradicionales se manejan bajas densidades poblacionales (889 plantas por Hectárea.) sistemas propio de las zona central y RAAS, bajo sistemas tecnificados las densidades poblacionales superan las 2000 plantas por hectárea,

Nicaragua realiza la mayor parte de las exportaciones a los países Centroamericanos, en forma de plátano pelado, destinando el 89.95 % a El Salvador, Honduras y Costa Rica para las empresas que lo procesan en forma de pasa bocas de plátano, chips, productos congelados y otros, para comercializarlos tanto en sus propios mercados al mismo Centroamérica y



Estados Unidos, una mínima parte está siendo exportado en forma de fruta fresca a los Estados Unidos (Cenagro, 2012).

Durante los últimos años, las exportaciones de plátano de Nicaragua han experimentado importantes fluctuaciones, sin representar importantes pérdidas a los productores, situación que al parecer refleja una tendencia de estabilidad de precios en el mercado local-nacional que representa una auténtica ventaja competitiva del sector a todos los niveles (Blanco y Carcache, 2007).

Según los datos de (IICA,2004), los índices de exportación de este rubro desde 1999 hasta el 2002, experimentaron un decrecimiento cercano al 35%, logrando cierta estabilidad a finales del 2003. Sin embargo, esta situación sobre las tendencia de las exportaciones no expresaron un incremento, tal y como se esperaba como consecuencia del incremento de las áreas de siembra y la incursión de León y Chinandega al proceso productivo y exportador de este rubro.

Esta situación, parece estar asociada a un crecimiento de la demanda local y una estabilidad de los precios del mercado nacional (Blanco y Carcache, 2007).

En 1999 Nicaragua exportó 12 mil TM, en el 2003 solo fueron exportadas 8 mil TM (FHIA, 2004). Sin embargo, a partir del 2004 las exportaciones de plátanos en Nicaragua han experimentado un importante incremento con la apertura del mercado Norteamericano, Canadiense y una mayor incursión en los mercados centroamericanos en especial El Salvador, Honduras, que en conjunto catapultaron el valor de las exportaciones un nivel superior a los US \$ 1.200.000, manteniendo cierta estabilidad en el 2005 y 2006.

Del 2000 al 2002, hubo una baja de las exportaciones de 8.5 a 6.1 millones de kilogramos. Eso significó una caída en la generación de ingresos por



exportaciones por el orden de los US \$ 670.000 (de 1.3 millones de dólares a 630 mil para esos años).

No obstante a partir del 2003 se incrementó la exportación en casi 8 millones de kilogramos y ya en el 2004 se están realizando exportaciones al mercado de Estados Unidos que superan el millón de dólares (Blanco y Carcache, 2007).

2.12 Prueba Estadísticas

Para realizar una investigación experimental se debe utilizar un paquete estadístico para dar resultados y dar respuestas de dicha investigación, los diseños experimentales hoy en día se efectúan en todos los campos de estudio, se realizan datos experimentales para lograr generar datos a partir de datos crudos de una investigación determinada, para obtener la información del ensayo donde se demostrara nuevos resultados que llevan a soportar el informe final de la investigación.

Un factor determinante al momento de usar este tipo de pruebas estadísticas, es que para poder llegar a obtener resultados satisfactorios, se recomienda que entre más grande sea la muestra de estudio, los resultados llegaran a ser más significativos y confiable (Blanco, 2013).

2.13 Comparación de Prueba Estadística de Dunnett.

En un experimento donde uno de los tratamientos es un control y el experimentador está interesado en comparar los restantes tratamientos con el control. En este caso sólo deben realizarse comparaciones 1- 1.

Un procedimiento que realiza dichas comparaciones fue desarrollado por Dunnett (1964). Este procedimiento es una modificación de la prueba t. Para cada hipótesis se calculan las diferencias que se observan entre las medias muestrales.



2.14 Comparación de Prueba Estadística de Rango Múltiple de Duncan.

El contraste de Duncan utiliza, como el HSD de Tukey, la distribución del recorrido estudentizado. Se diferencia de ese test en que su aplicación es secuencial, en el sentido de no utilizar un único valor crítico para todas las diferencias de medias, como el de Tukey, sino un valor crítico que depende del número de medias comprendido entre las dos medias que se comparan, habiendo ordenado previamente las medias en orden creciente.

2.14.1 Paquete Estadístico spss.ver.15.

El programa estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) es uno de los programas de mayor uso en los Estados Unidos de Norteamérica así como en América Latina. Los procedimientos estadísticos son de mucha utilidad para aquellas organizaciones que necesiten desarrollar y subsecuentemente analizar bases de datos para aplicaciones prácticas o para diversas necesidades de investigación. Además ofrece diversas posibilidades para crear vínculos con otros programas comunes tales como Microsoft Word, Microsoft Excel, y Microsoft Power Point. Finalmente, SPSS permite manejar bancos de datos de gran magnitud y también efectuar análisis estadísticos muy complejos (Castañeda, M. *et. al*, 2010).



III. Materiales y Métodos

3.1 Localización del Experimento

La investigación monográfica se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León), localizado en el Jardín Botánico Ambiental ubicado a 1km al oeste del Politécnico La Sallé. El estudio se realizó en el periodo comprendido de 2013 – 2014.

3.2 Selección del Material Vegetativo

El material vegetal del cultivar plátano Cuerno Enano se obtuvo del área agrícola de la Finca El Pegón carretera al Campo Agropecuario de la UNAN - León, se seleccionaron semillas o hijos de plantas madres de Cuerno Enano de buen vigor, edad ontogénica, el tamaño y buen estado sanitario general de la planta donante.

3.2.1 Preparación y Desinfección del Material Vegetativo

Para la preparación y desinfección del material vegetativo se utilizó un protocolo estandarizado del Laboratorio de cultivo de tejido de la UNAN-León. Luego en el invernadero se lavaron los cormos para eliminar residuos de tierras, procediendo a realizar cortes sucesivos sobre los cormos, dejándolos de 4 a 5 cm de longitud y de 2 a 3 cm de ancho.

Posteriormente en el laboratorio se realizó un segundo lavado para eliminar los residuos provenientes del invernadero. Luego el material se colocó en alcohol al 70% durante 1 minuto, se elimina el alcohol, se agrega hipoclorito de sodio al 3.5% con dos gotas de Tween 20 por cada 100ml. de solución y se mantiene en agitación constante durante 20 minutos. Luego en la cámara de flujo laminar se realizan tres lavados con agua estéril, finalmente se procede a la disección de los materiales para obtener los ápices caulinares con un tamaño aproximado de 2 x 1 cm.



3.3 Ensayo de Establecimiento

Los explantes se sembraron individualmente en tubos de ensayo con dimensiones de 15 cm de longitud y 1.5 cm de diámetro, adicionando a cada tubo 10 ml de un medio MS (1962) con 100 mg/l de ácido ascórbico y 2,0 gr/l de gelrite (Anexo Cuadro 16) e incubados a una temperatura entre 28-30 °C en condiciones de oscuridad. A los quince días de cultivados los ápices caulinares se procedió a realizar limpieza de los cormos eliminando los residuos fenólicos de la parte basal, realizando la segunda limpieza posteriormente a los quince días después de la primera. Una vez establecidos en condiciones asépticas, se procedió a realizar los ensayos.

3.4 Ensayo de Multiplicación

En el ensayo de multiplicación se evaluó el efecto de siete combinaciones de reguladores de crecimiento BAP y AIA en medio MS suplementado con sacarosa 30gr/l, Gelrite 2gr/l y pH de 5,8. Se emplearon frascos con 30 ml de medio cada uno y esterilizados a 121°C ,1Kg/cm² de presión durante veinte minutos.

Las combinaciones de reguladores evaluadas son las siguientes (Cuadro 2)

Cuadro 2. Diferentes medios de cultivo en el ensayo de multiplicación *in vitro* de plátano Cuerno Enano.

AIA: Ácido Indolacético BAP: Benzilamino purina MS: Murashige y Skoog.

Combinaciones de reguladores en medio MS.	BAP (mg/l)	(AIA) mg/l
I	1	0.15
II	1	0.3
III	2	0.15
IV	2	0.3
V	4	0.15
VI	4	0.3
VII	0	0



Se sembraron cinco explantes por frasco (Unidad experimental), para un total de 25 explantes por tratamiento o combinación. (Cuadro 2).

Se evaluaron a los 30 días después de realizada la siembra durante cuatro repeticiones. Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- Tasa de proliferación
- Número de hoja por planta
- Longitud del brote

3.5 Ensayo de Regeneración

En el ensayo de regeneración se evaluó el efecto de cuatro combinaciones de reguladores de crecimiento BAP y AIA en medio MS suplementado con carbón activado 0.5 gr/l sacarosa 30 gr/l, gelrite 2 gr/l y pH de 5,8. Se emplearon frascos con 30 ml de medio los que fueron esterilizados a 121°C y 1Kg/cm² de presión durante veinte minutos.

Las combinaciones de reguladores evaluadas son las siguientes (Cuadro 3)

Cuadro 3. Diferentes medios de cultivo en el ensayo de regeneración in vitro de Plátano Cuerno Enano.

AIA: Ácido Indolacético, BAP: Benzilamino purina, MS: Murashige y Skoog

Combinaciones de reguladores en medio MS	BAP (mg/l)	AIA (mg/l)
I	0	0
II	0	0.15
III	0.5	0.15
IV	1.0	0.15



En cada combinación se sembraron seis explantes por frascos (Unidad experimental), utilizando un total 24 explantes en cada combinación o tratamiento por repetición.

Se realizaron tres repeticiones que se evaluaron a los 30 días después de realizada la siembra. Las variables evaluadas fueron:

- a) Longitud del Brote
- b) Número de raíces por planta
- c) Longitud de la raíz
- d) Número de hojas

3.6 Aclimatación de las Planta

La muestra de plantas sembradas es de 90 en bandejas sobre los tres sustratos esterilizados, fueron colocadas en túneles de crecimiento donde se le suministro riego diario y fertilización foliar una vez a la semana empleando una solución nutritiva MS al 50 % de sales, puede observarse el ensayo de aclimatación (Figura 4).

Los sustratos y proporciones utilizados se indican en el (Cuadro 4).

Cuadro 4. Diferentes sustratos de cultivos en el ensayo de aclimatación de plátano Cuerno Enano.

Sustratos			
t.a.a 1:1:1	tierra	arena	cascarilla de arroz
v.a.a 1:1:1	Vermiculita	arena	cascarilla de arroz
t.a.v 1:1:1	tierra	Arena	vermiculita



La evaluación de cada sustrato se realizó durante seis semanas utilizando una muestra de 30 plantas por sustrato. Cada siete días se evaluaron sobrevivencia de la planta, longitud del pseudotallo, diámetro de base del pseudotallo, número de hojas y las variables evaluadas hasta la sexta semana son: número de raíces y longitud de la raíz.

3.7 Diseño experimental y Análisis Estadístico.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con un análisis unifactorial para el procesamiento de los datos, Se realizó un ANOVA definiendo la mejor respuesta de las variables utilizadas con relación al medio de cultivo para determinar las diferencias estadísticas entre las combinaciones mediante la prueba de rangos múltiple de Duncan y prueba de comparación múltiple de Dunnett. Este diseño se utilizara para los ensayos de multiplicación y regeneración, en el ensayo de aclimatación además se realizaron prueba de análisis de correlaciones por el método de Pearson y Duncan. Los datos fueron procesados y analizados en paquetes estadísticos con SPSS Ver.15 para los tres ensayos realizados.



IV. Resultados y Discusión

4.1 Ensayo de Multiplicación

En el ensayo de multiplicación se logró determinar que la combinación más efectiva de reguladores de crecimiento BAP y AIA en el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) fue la combinación que contenía 2mg/l de BAP y 0.15 mg/l de AIA con una tasa de proliferación de 2.36 brotes (Figura 1).

De acuerdo a los resultados obtenidos la combinación 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA; 4.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA; 4.00 mg/l de BAP + 0.15 mg/l AIA están por encima de la tasa media de proliferación de 1.46 brotes, mientras que las combinaciones que contenían 1.00 mg/l BAP + 0.15; 1.00 mg/l de BAP +0.30 mg/l AIA; 2.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA mas el testigo están por debajo de la media de brotes proliferados (Gráfico 1).



Figura 1. Plantas de Cuerno Enano en la etapa de multiplicación un medio MS conteniendo 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA.



En base a los resultados obtenidos en el ensayo de multiplicación se logró determinar la mejor respuesta en la variable tasa de proliferación en relación a las combinaciones de medios de cultivo (Gráfico 1).

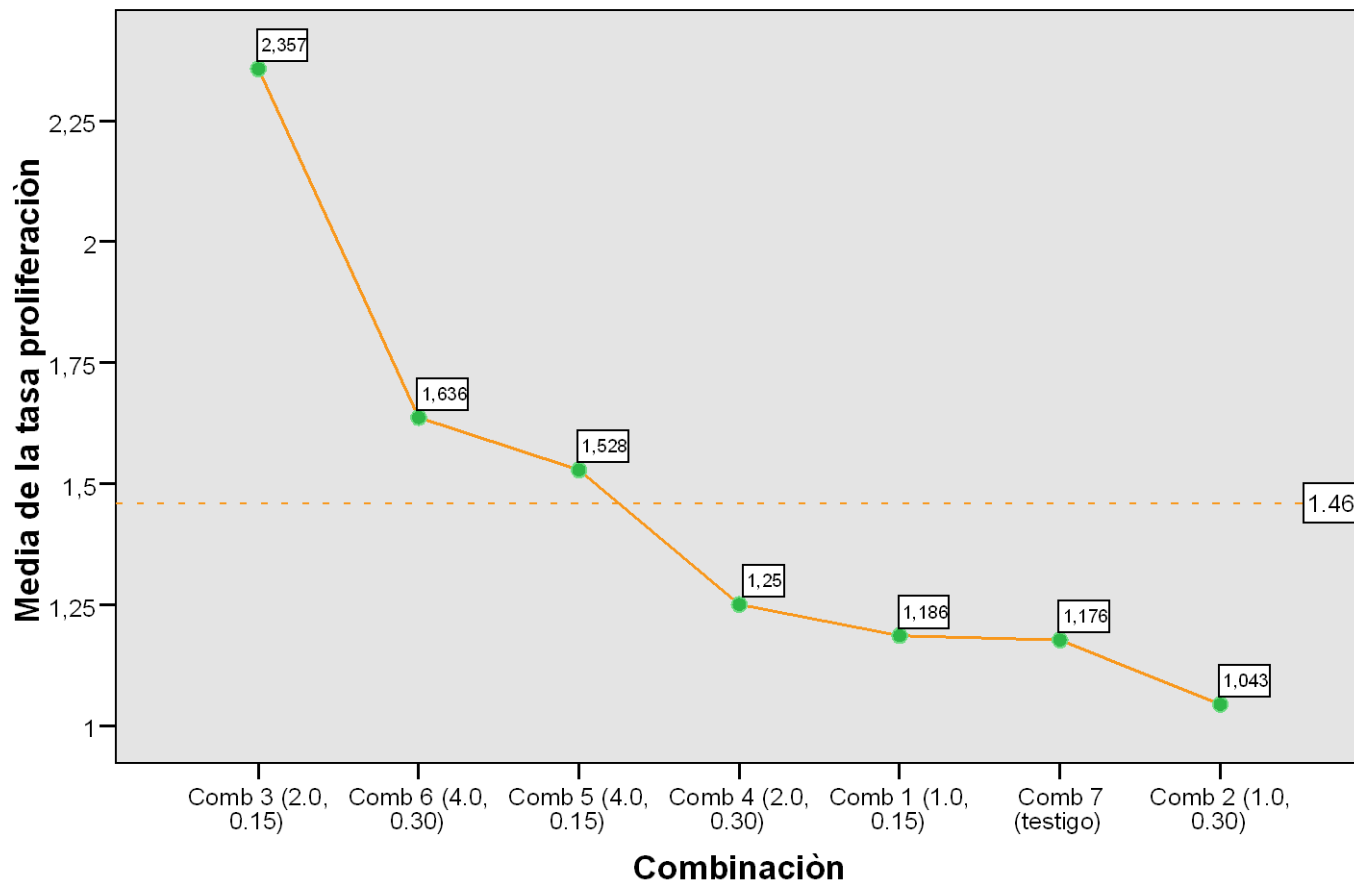


Gráfico 1. Media de la tasa de proliferación de plátano Cuerno Enano

Con respecto a la prueba estadística de Duncan (Cuadro 5) se puede observar la formación de tres subconjuntos homogéneos donde la combinación 2.00 mg/l BAP y 0.15 mg/l AIA se encuentra en el subconjunto 1 con mayor promedios de brotes, en el subconjunto 2 observamos las combinaciones 2.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA; 1.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA; 1.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA y el testigo y en el subconjunto 3 encontramos las combinaciones 4.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA; 4.00 mg/l de BAP + 0.15 mg/l AIA es decir que el estadístico Duncan agrupa a los subconjuntos por afinidad de valores y existe diferencia significativa entre los subconjuntos homogéneos encontrados,



pero no existe diferencia significativa entre las combinaciones dentro de los subconjunto con respecto al valor p con un valor de confianza del 95%.

De acuerdo a los resultados sobre la variable tasa de proliferación se logró determinar diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza al realizar la prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett (Cuadro 8), Obteniendo el mayor efecto de respuesta en relación al medio de cultivo en la combinación con 2.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA; 4.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l de AIA presentando diferencia significativa (P= 0.00 y P= 0.007) respecto al testigo; mientras las otras combinaciones no muestran diferencia.

En la prueba estadística múltiple de Duncan la combinación 2.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA con un valor promedio de 2.36 brotes el cual alcanza el mayor con respecto a las combinaciones estudiadas en la variable tasa de proliferación.

Cuadro 5. Efectos de siete combinaciones en la variable tasa de proliferación en el ensayo de multiplicación según el estadístico Duncan.

Combinación		N	Subconjunto para alfa = .05			
			1	2	3	1
Duncan a,b	Combinación 2 (1.0, 0.30 mg/l)	92		1,04		
	Combinación 7 (testigo)	85		1,18		
	Combinación 1 (1.0, 0.15 mg/l)	97		1,19		
	Combinación 4 (2.0, 0.30 mg/l)	10		1,25		
	Combinación 5 (4.0, 0.15 mg/l)	89			1,53	
	Combinación 6 (4.0, 0.30 mg/l)	88			1,64	
	Combinación 3 (2.0, 0.15 mg/l)	98				2,36
	Sig.			,173	,430	1,000

La investigación realizada por Caldera y López (2002) obtuvieron promedio de brotación de yemas axilares en plátano cuerno enano de 2.08 y 2.05 brotes con 4 y 5 mg/l de BAP. Según Cortez (2007) obtuvo en el ensayo de multiplicación una media de 2.44 brotes utilizando una concentración de 4.5



mg/l BAP en plátano cuerno gigante. En esta investigación los resultados obtenidos en la tasa de proliferación alcanzaron valores promedios de 2.36 brotes en el medio de cultivo que contenía 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA. Demostrando diferencia de promedio a las combinaciones de medios de cultivos obtenidos sin reguladores de crecimiento y a las combinaciones que contenían 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA; 1.00mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA; 2.00 mg/l BAP + 0.30mg/l AIA; 4.00 mg/l BAP + 0.15 y 4.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA con un promedio de un 1 brote proliferados (Cuadro 5).

En la Gráfica 2 se observan las medias de la variable longitud del brote principal en las diferentes combinaciones en donde la combinación 1.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA tiene un promedio de 6.099 cm de longitud en relación a los demás combinaciones estudiadas.

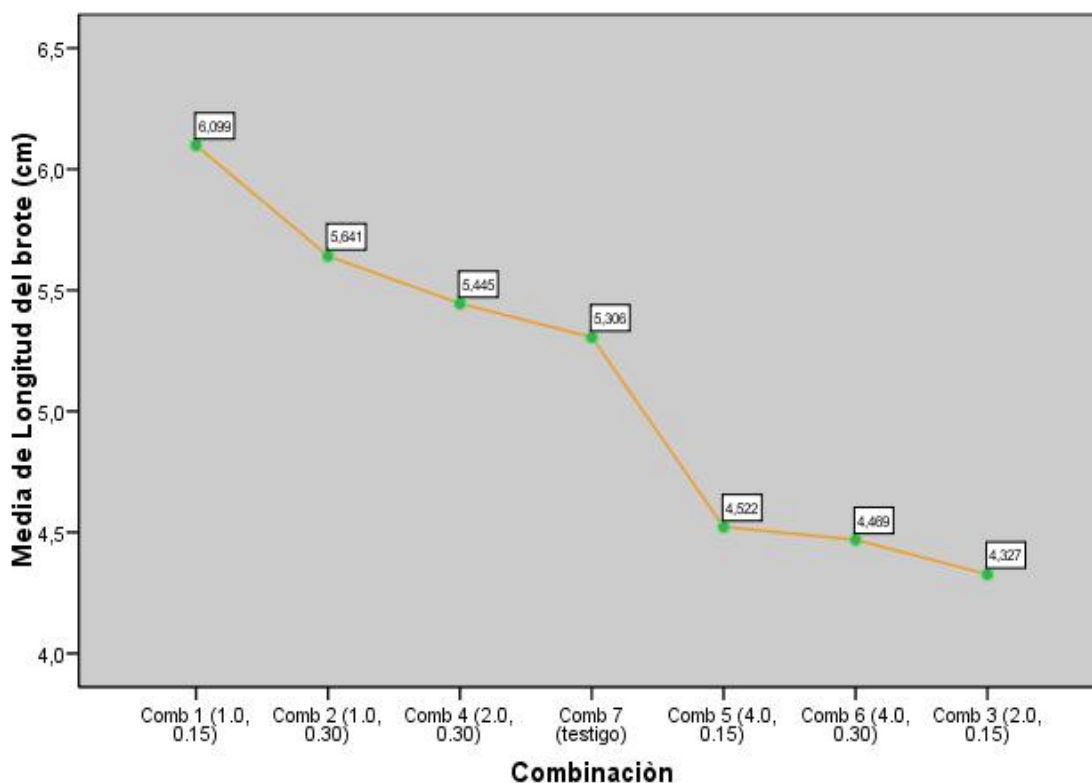


Gráfico 2. Media de la variable longitud del brote realizado en el ensayo de multiplicación.



La longitud del brote alcanzó promedios mayor de 5.5 cm en la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA; 1.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA con valores respectivos de 6.009 y 5.641cm, presentando diferencias en promedios con las combinaciones que contienen 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA; 2.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA, 4 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 4.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA más el testigo, debajo del promedio de 5.5 cm (Gráfico 2).

Con respecto a la prueba estadística de Duncan (Cuadro 6) se puede observar la formación de tres subconjuntos homogéneos donde la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA + 1.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA se encuentra en el subconjunto 1 con mayor longitud de brotes, en el subconjunto 2 observamos las combinaciones 2.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA; 4.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA; 4.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA y en el subconjunto 3 encontramos las combinaciones 2.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA; 1.00 mg/l de BAP + 0.30 mg/l AIA y el testigo es decir que el estadístico Duncan agrupa a los subconjuntos por afinidad de valores y existe diferencia significativa entre los subconjuntos encontrados, pero no existe diferencia entre las combinaciones dentro de los subconjunto con respecto al valor p con un valor de confianza del 95%.

En el análisis estadístico de la prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett al 95% de confianza (Cuadro 8), se muestra el mayor efecto de respuesta en las combinaciones 1.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l de AIA; 2.0 mg/l de BAP y 0.15 mg/l de AIA; 4.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l AIA y 4.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA presentan diferencia significativa ($p= 0.038$; $p= 0.06$; $p= 0.048$; $p= 0.031$) con respecto al testigo.

El análisis de prueba estadística múltiple Duncan se observa que la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA con una altura de 6.009 cm, muestra diferencia con las demás combinaciones con respecto a la variable longitud de brote.



Cuadro 6. Muestra los efectos de siete combinaciones, en la variable longitud del brote en el ensayo de multiplicación según estadístico Duncan.

Combinación	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
Combinación 3 (2.0, 0.15 mg/l)	98	4,327		
Combinación 6 (4.0, 0.30 mg/l)	88	4,469		
Combinación 5 (4.0, 0.15 mg/l)	89	4,522		
Duncan(a, b) Combinación 7 (testigo)	85		5,306	
Combinación 4 (2.0, 0.30mg/l)	100		5,445	
Combinación 2 (1.0, 0.30 mg/l)	92		5,641	5,641
Combinación 1 (1.0, 0.15 mg/l)	97			6,099
Sig.		,535	,286	,121

De acuerdo a los resultados logrados por los investigadores Chavarría y López (2010) obtuvieron un incremento en la variable longitud del brote con promedios mayores de 3 cm de longitud en medios de cultivo sin reguladores de crecimiento y con 2 mg/l de BAP + 0.25 mg/l de AIA con media respectiva de 3.40, 3.06 y 3.08 cm de altura en cuatro repeticiones.

En este estudio los resultados obtenidos en los medios de cultivo sin adición de reguladores de crecimiento y las combinaciones que contenían 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA se alcanzaron valores respectivos de 5.306, 4.327 y 6.099 cm de altura, los cuales muestran valores mayores que los presentados por Chavarría y López, (2010).

En el Gráfico 3 se observan las medias del número de hojas en las diferentes combinaciones donde la combinación 1.0 mg/l BAP+ 0.15 mg/l AIA tiene el mejor promedio de 4.19 en relación a las demás combinaciones.

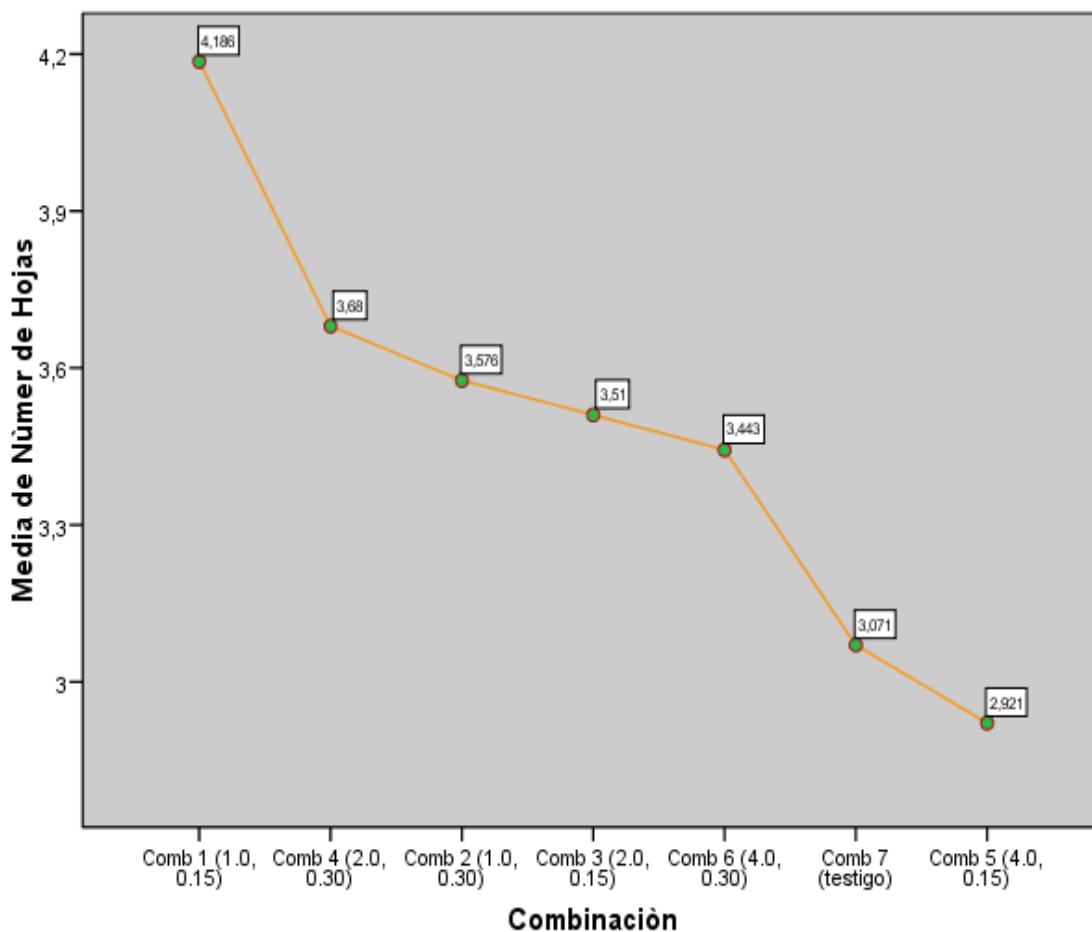


Gráfico 3. Media de la variable número de hojas realizadas en el ensayo de proliferación.

El número de hojas es mayor en la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA donde la con una media de 4.19, mientras en las combinaciones 4.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo fue donde se presentaron los valores promedios más bajos con medias de 2.921 y 3.071 respectivamente (Gráfico 3).

Con respecto a la prueba estadística de Duncan (Cuadro 7) se mostró la formación de tres subconjuntos homogéneos donde la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA se encuentra en el subconjunto 1 con mayor número de hojas, en el subconjunto 2 se observó las combinaciones 4.00 mg/l de BAP + 0.15 mg/l y el testigo y en el subconjunto 3 encontramos las combinaciones 1.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA, 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA, 2.00 mg/l BAP + 0.30 mg/l AIA y 4.00 mg/l de BAP + 0.30 mg/l AIA.



El estadístico Duncan agrupa a los subconjuntos por afinidad de valores y existe diferencia significativa entre los subconjuntos encontrados, pero no existe diferencia entre las combinaciones dentro de los subconjuntos homogéneos.

En el análisis de prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett al 95% de confianza (Cuadro 8), nos muestra que existe diferencia significativa en las combinaciones 1.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA; 1.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA; 2.0 mg/l de BAP + 0.30 mg/l de AIA estas combinaciones presentando diferencia en relación al testigo con una ($p= 0.000$; $p= 0.030$; 0.04). mientras que las demás combinaciones no presentaron diferencia con el testigo.

El análisis de prueba estadística múltiple Duncan muestra la diferencia estadística en el número de hojas, con respecto a las siete combinaciones estudiadas.

Cuadro 7. Muestra los efectos de siete combinaciones, en la variable número de hojas en el ensayo de multiplicación según estadístico Duncan.

Combinación	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
Combinación 5 (4.0, 0.15 mg/l)	89		2,92	
Combinación 7 (testigo)	85		3,07	
Combinación 6 (4.0, 0.30 mg/l)	88			3,44
Combinación 3 (2.0, 0.15 mg/l)	98			3,51
Combinación 2 (1.0, 0.30 mg/l)	92			3,58
Combinación 4 (2.0, 0.30 mg/l)	100			3,68
Combinación 1 (1.0, 0.15 mg/l)	97			4,19
Sig.			,406	,235
				1,000



De acuerdo a los resultados obtenidos por Chavarría y López, (2010) en relación al número de hojas por planta obtuvieron promedios 2.76 hojas en medio de cultivo suplementado con 2 mg/l BAP + 0.25 mg/l AIA.

En la presente investigación en la combinación 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA se obtuvo un promedio de 4.19 hojas por planta, resultando estadísticamente superior con respecto a las demás combinaciones. En estos resultados no se observó incremento del número de hojas en las combinaciones con mayor concentración de BAP. Según Chavarría y López, (2010) a mayor concentraciones de Citocininas (BAP) se incrementa significativamente el número de hojas por explantes.



Cuadro 8. Análisis de prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett en las diferentes combinaciones.

Variable dependiente		(I) Combinación	(J) Combinación	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
Tasa de proliferación	t de Dunnett (bilateral)(a)	Comb1 (1.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,009	,138	1,000	- ,35	,36
		Comb 2 (1.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	-,133	,140	,844	-,49	,23
		Comb 3 (2.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	1,181(*)	,138	,000	,83	1,53
		Comb 4 (2.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,074	,137	,987	-,28	,43
		Comb 5 (4.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,352	,141	,061	-,01	,71
		Comb 6 (4.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,460(*)	,142	,007	,10	,82
Longitud del brote. (cm)	t de Dunnett (bilateral)(a)	Comb 1 (1.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,7931(*)	,2976	,038	,030	1,557
		Comb 2 (1.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,3354	,3013	,736	-,438	1,109
		Comb 3 (2.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	-,9794(*)	,2969	,006	-1,741	-,218
		Comb 4 (2.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,1391	,2955	,994	-,619	,897
		Comb 5 (4.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	-,7834(*)	,3038	,048	-1,563	-,004
		Comb 6 (4.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	-,8366(*)	,3046	,031	-1,618	-,055
Número de Hojas	t de Dunnett (bilateral)(a)	Comb 1 (1.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	1,115(*)	,181	,000	,65	1,58
		Comb 2 (1.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,505(*)	,184	,030	,03	,98
		Comb 3 (2.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,440	,181	,071	-,02	,90
		Comb 4 (2.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,609(*)	,180	,004	,15	1,07
		Comb 5 (4.0, 0.15 mg/l)	Comb 7 (testigo)	-,149	,185	,917	-,62	,33
		Comb 6 (4.0, 0.30 mg/l)	Comb 7 (testigo)	,373	,186	,185	-,10	,85



Para la tasa de proliferación se desarrolló un modelo matemático de proyección para el ensayo de multiplicación con el objetivo de dar predicciones a diferentes concentraciones (Cuadro 5).

Proliferación en Plátano cuerno enano

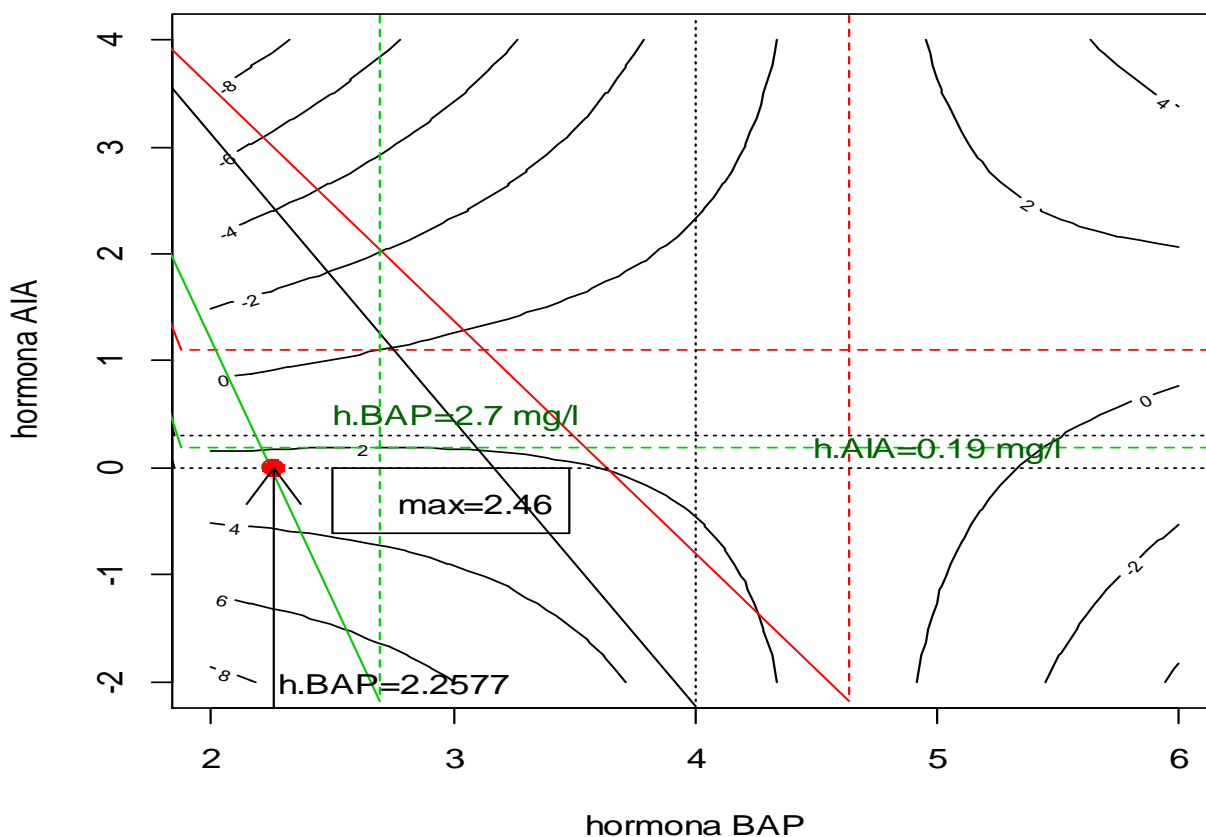


Gráfico 4. Modelo matemático de proyección para ensayo de multiplicación in vitro de plátano cultivar Cuerno Enano utilizando el Coeficientes del polinomio de segundo grado.

Se desarrollaron dos modelos matemáticos, con la función de realizar una superficie de respuesta para proyectar concentraciones que se puedan utilizar para las hormonas BAP Y AIA, mostrándonos así la cantidad que se espera de brotes proliferados.



Modelo 1 (X y Z): $f = \text{función}(x, z) \text{ cc}[1] + \text{cc}[2]*x + \text{cc}[3]*z + \text{cc}[4]*x*z + \text{cc}[5]*x**2$
 $\text{cc} = c(1.137, 1.174, -5.232, 1.128, -0.260)$ # Coeficientes del polinomio de segundo grado.

X: Dosis de BAP

Y: No. Brotes Proliferados

Z: Dosis AIA.

Modelo 2 (X): $f \text{ BAP} = \text{función}(x) \text{ cc}[1] + \text{cc}[2]*x + \text{cc}[5]*x**2$

$\text{cc} = c(1.137, 1.174, -5.232, 1.128, -0.260)$ # Coeficientes del polinomio de segundo grado.

X: Dosis de BAP

Este modelo instalado es un polinomio de segundo grado completo nos muestra una proyección para el ensayo de multiplicación, como se puede observar en el modelo nos muestra diferentes predicciones para las hormonas BAP y AIA, por ejemplo para 2.7 mg/l BAP + 0.19 mg/l AIA da un promedio de brotes de 1.996 aproximadamente 2 brotes, mientras que en la combinación 2.257 mg/l BAP + 0 mg/l AIA da un promedio de 2.46 brotes proliferados. Según Cortez (2007) cuando utilizó cuatro tratamientos de 2.25 mg/l, 4.5 mg/l, 9 mg/l y 18 mg/l de BAP obtuvo medias de 2.09, 2.44, 2.29 y 2.18 brotes por planta.

Según el modelo matemático de coeficientes del polinomio de segundo grado se puede apreciar las diferencias estadísticas, este modelo nos muestra también que al incrementar la hormona a grandes concentraciones esta tiende a disminuir su proliferación, resultando también no económicamente apropiada ya que esta tiende a incrementar el gasto de reactivos, tampoco es biológico ya que a la planta se le puede ocasionar un stress y lo que hace es inhibir su desarrollo provocando malformaciones genéticas. Según los autores Azcon-Bieto, J y Talón, M. (2008), determinan que al aumentar reguladores de crecimiento como la auxina logra alcanzar respuestas máximas con una concentración de 10^{-5} M. El uso de altas concentraciones de auxinas reduce el crecimiento hasta inhibirlo, llegando a producir incluso la muerte de la planta.



4.2 Ensayo de Regeneración

En el ensayo de regeneración, se logró determinar que las combinaciones de reguladores de crecimiento que produjeron el mayor número de raíces por planta fue en la combinación 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA, con un valor medio de 5.34 y 6.12 raíces por planta respectivamente (Gráfico 5 y Anexo Cuadro 22). El menor número de raíces por planta se obtuvo utilizando 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo.

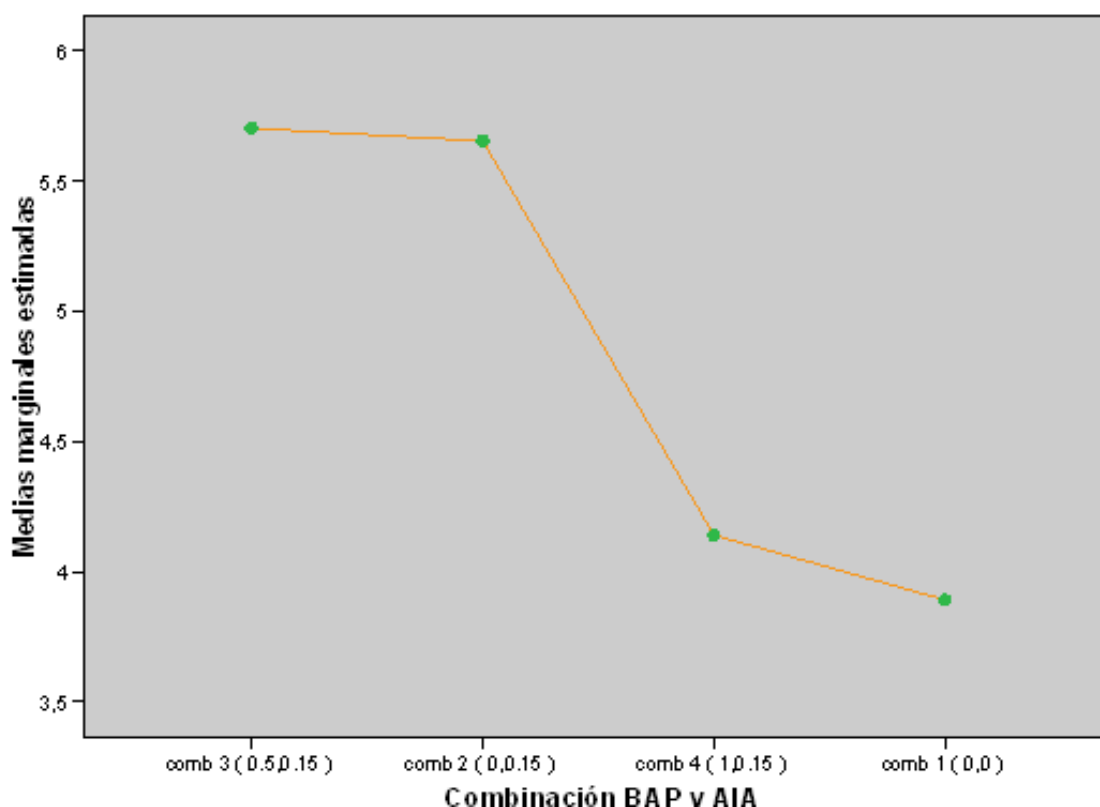


Gráfico 5. Medias del número de raíces por planta en el ensayo de regeneración en plátano Cuerno Enano.

Al realizar la prueba de Duncan al 95% de confianza sobre la variable número de raíces (Anexo Cuadro 22) se puede observar la formación de tres subconjuntos homogéneos donde las combinaciones de reguladores de crecimiento con 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA se encuentran ubicadas en el primer subconjunto, en el segundo subconjunto están 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y en el tercer subconjunto se encuentran 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y



el testigo. Cada combinación se agrupa por su afinidad de valores, se logra observar que existe diferencia significativa entre los subconjuntos homogéneos, pero no existe diferencia entre las combinaciones dentro de los subconjuntos.

En el presente estudio en el ensayo de regeneración en plátano Cuerno Enano el mayor número de raíces por planta (6.12) se registró con 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA; estos valores varían con los datos reportados en cuerno gigante por Chavarría y López 2010 quienes reportan que utilizando 0.0 mg/ BAP + 0.5 mg/l de AIA obtuvieron una media de 4.16 raíces (Figura 2).

En La prueba de los efectos inter-sujetos indica que la longitud de la raíz y la concentración de BAP y AIA muestran diferencias significativas con $p=0.00$ y $p=0.00$ con respecto a la variable dependiente número de raíces por planta con un intervalo de confianza del 95% (Cuadro 9).

Cuadro 9. Pruebas de contraste inter-sujetos en el número de raíces por planta en el ensayo de regeneración.

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	701,721(a)	4	175,430	20,185	,000
Intersección	356,224	1	356,224	40,988	,000
Long.Dela.Raiz.cm	451,492	1	451,492	51,949	,000
Concentración BAP + AIA	168,580	3	56,193	6,466	,000
Error	2085,846	240	8,691		
Total	8626,000	245			
Total corregida	2787,567	244			

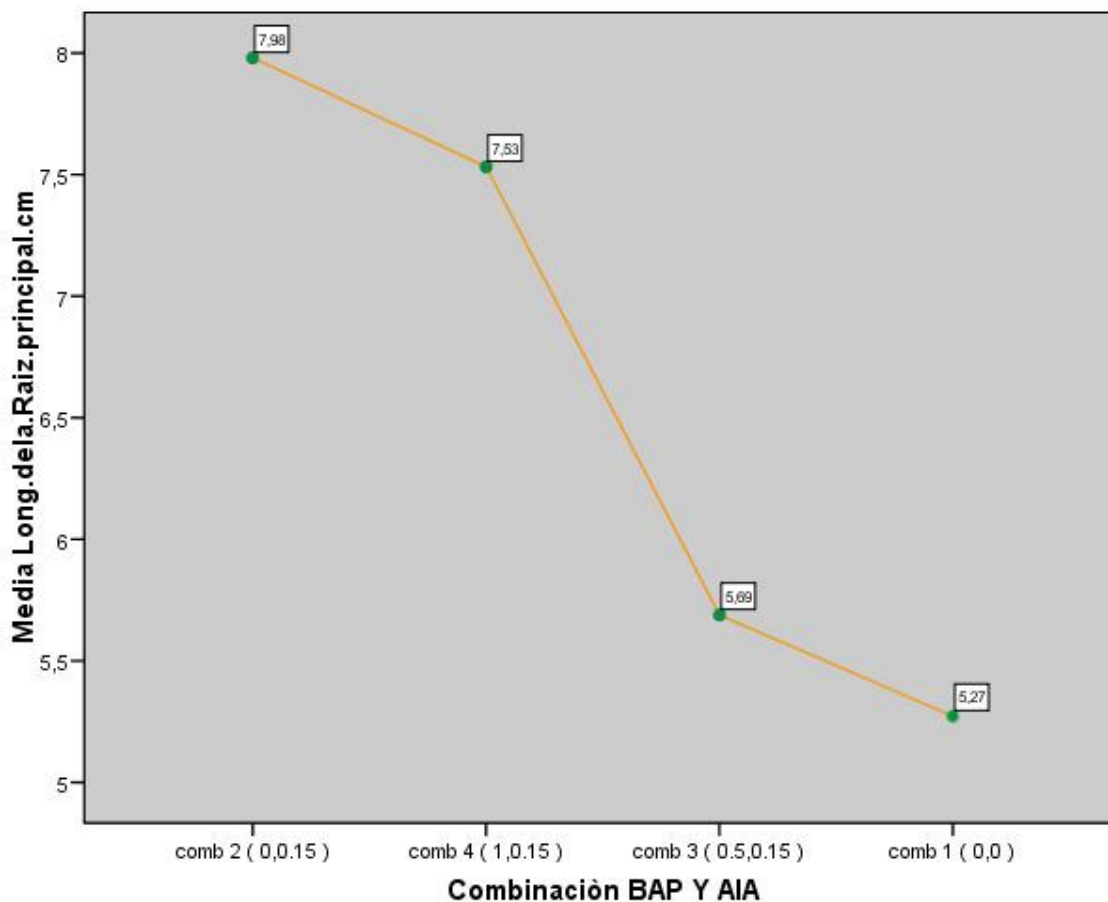


Gráfico 6. Medias de Longitud de la raíz en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de regeneración.

En el Gráfico 6 se muestra que la combinación 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA es donde se obtuvo mayor longitud de raíz por planta con un promedio de 7.98 y 7.53 cm (Anexo Cuadro 24). Cuando se utilizó 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo es donde se registró la menor longitud de raíces.

En el análisis de la prueba t de comparaciones múltiples de Dunnett entre las combinaciones de reguladores de crecimiento y el testigo refleja (Anexo Cuadro 25) que hay diferencia significativa en las combinaciones 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA en relación al testigo, con un intervalo de confianza del 95% con un valor de $p= 0.000$ y $p=0.002$ respectivamente.



En el análisis estadístico de Duncan al 95% de confianza para longitud de raíz se observa la formación de dos subconjuntos homogéneos donde las combinaciones 1.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA y 0.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA forman el primer subconjunto y 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo forman el segundo subconjunto, obteniendo diferencia significativa entre los subconjuntos homogéneos, pero no existe diferencia entre las combinaciones dentro de los subconjuntos (Anexo Cuadro 24 Cuadro 24).

En el Gráfico 7 se muestra la variable longitud de la raíz en relación al número de raíces por planta, se observa que el incremento de la longitud de raíz mayor de 3 cm se debe al mayor número de raíces por plantas y cuando la longitud es menor de 3 cm el número de raíces por planta tiende a disminuir.

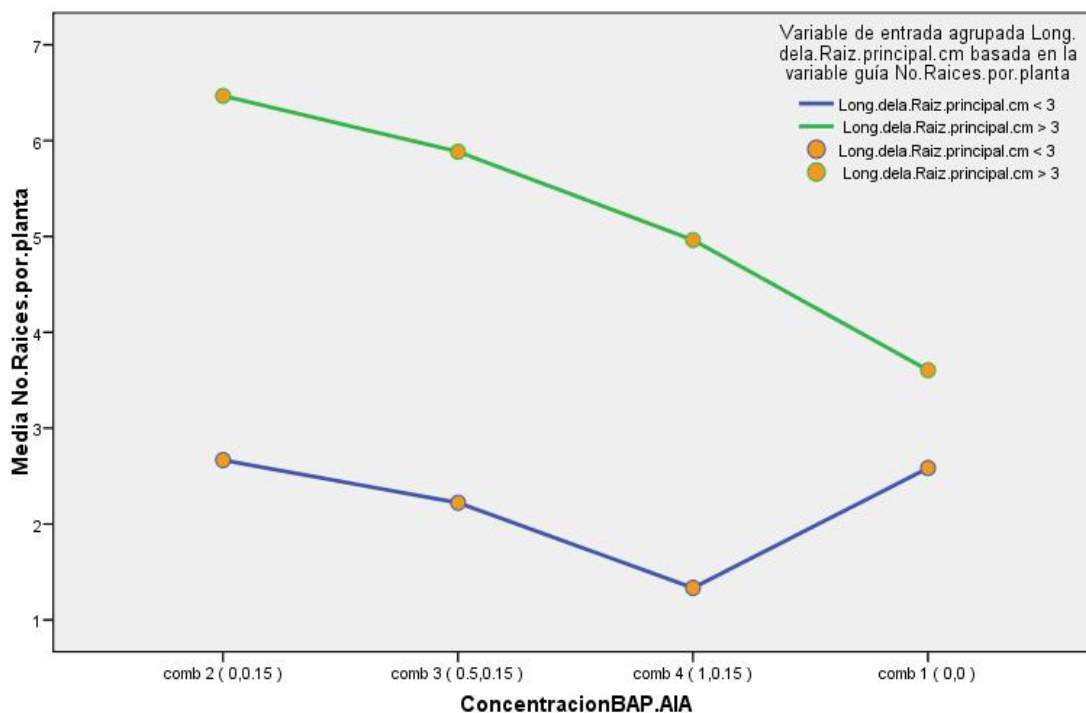


Gráfico 7. Medias de la variable longitud de la raíz en relación a la variable número de raíces por planta.

Cuando se utilizó 0.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l AIA (Gráfico 7) es donde se observa el mayor número de raíces por planta y longitud de la raíz, definiendo esta combinación como la más adecuada para enraizar para la variedad de plátano Cuerno Enano.



Al evaluar la variable longitud del brote se determinó que las mejores combinaciones 1.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA, producen los brotes de mayor longitud con un valor promedio 5.06 y 4.93 cm respectivamente. Las menores longitudes se obtuvieron cuando se empleó 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo.

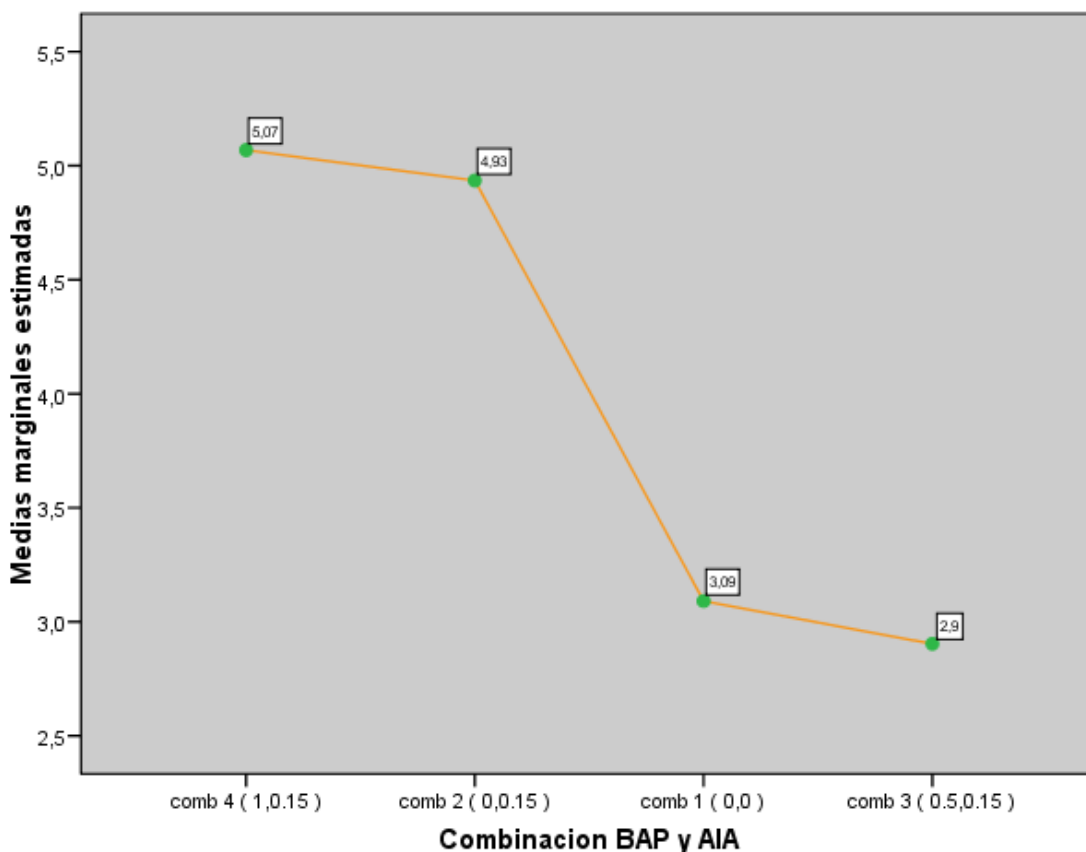


Gráfico 8. Medias de la longitud del brote en el ensayo de regeneración en plátano cuerno enano.

En la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett se pudo determinar (Anexo Cuadro 23) que hay diferencia significativa en las combinaciones 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA con respecto al testigo, con un intervalo de confianza del 95% y un valor de $p= 0.00, 0.002$ respectivamente.

En la prueba estadística de Duncan se observan dos subconjuntos homogéneos donde se ubican 1.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA y 0.0 mg/l de BAP + 0.15 mg/l de AIA formando el primer subconjunto, y en el segundo



subconjunto se encuentran 0.5 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA y el testigo se encuentran en el segundo subconjunto con un intervalo de confianza de 95% en la variable longitud del brote la agrupación de combinaciones se debe a que el estadístico Duncan lo hace por afinidad de valores, demostrando donde se encontró de que hay diferencia significativa entre los subconjuntos homogéneos, pero no existe diferencia dentro de los subconjuntos (Anexo Cuadro 23).

Los resultados obtenidos *in vitro* en el ensayo de regeneración de plátano Cuerno Enano en la longitud del brote principal son diferentes con los resultados logrados por Caldera y López 2002 al trabajar con la variedad de plátano Cuerno Enano con promedios de 0.767, 0.983 y 0.217 cm de altura utilizando las combinaciones de 0,1 y 2 mg/l de AIA. De igual manera los resultados de esta investigación difiere con los obtenidos por Chavarría y López (2010) al trabajar con la variedad de plátano cuerno gigante obtenidos por las combinaciones 0.5 mg/l AIA y 40 mg/l de sacarosa con promedios de 4.30 y 3.88 cm de longitud.

En La prueba de los efectos inter-sujetos indican que existen diferencias significativas en el número de hojas como variable independiente. Además, se observa la relación al interactuar las concentración de hormonas BAP y AIA y el número de hojas donde no se presentan diferencias estadísticas significativa con un intervalo de confianza del 95% (Cuadro 10).



Cuadro 10. Pruebas de contraste inter-sujetos en el número de hojas en el ensayo de regeneración.

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	757,209(a)	103	7,352	5,120	,000
Intersección	1204,342	1	1204,342	838,812	,000
Combinación BAP.AIA	42,276	3	14,092	9,815	,000
No. Hojas	60,060	5	12,012	8,366	,000
No. Raíces por planta	68,299	15	4,553	3,171	,000
Combinación BAP.AIA * No. Hojas	8,222	9	,914	,636	,765
Combinación BAP.AIA * No Raíces por planta	65,162	26	2,506	1,746	,021
No. Hojas * No. Raíces por planta	48,709	22	2,214	1,542	,069
Combinación BAP.AIA * No. Hojas * No. Raíces por planta	48,319	19	2,543	1,771	,032
Error	202,444	141	1,436		
Total	4977,050	245			
Total corregida	959,652	244			



Figura 2. Plantas bien desarrolladas con abundantes raíces y de buen tamaño en el ensayo de regeneración del plátano Cuerno Enano.



4.3 Ensayo de Aclimatación

Al evaluar diferentes sustratos sobre el porcentaje de sobrevivencia de plantas de Cuerno Enano multiplicadas *in vitro* se logró establecer que el mayor porcentaje de sobrevivencia se obtuvo en tierra-arena-arroz (t.a.a; 1:1:1) con un 90.6% después de seis semanas de transplante. Los sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v; 1:1:1) y vermiculita-arena-arroz (v.a.a; 1:1:1) obtuvieron un porcentaje de 90% y 82.8% respectivamente (Anexo Cuadro 26, Cuadro 27, Cuadro 28).

En el análisis estadístico de la sobrevivencia del cultivar de plátano Cuerno Enano en el invernadero, con un porcentaje total de 88 % de plantas vivas y un 12 % de plantas muertas (Cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis estadísticos descriptivo sobre la prueba binomial en la variable sobrevivencia.

	Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. asintót. (bilateral)
Sobrevivencia	Vivo	1	474	,878	,50
	Muerto	0	66	,122	
	Total		540	1,00	

Se encontró que el porcentaje de sobrevivencia en este estudio difieren con los resultados obtenidos por el equipo de Canchignia, et (2008) en plátano variedad maqueño donde el porcentaje de sobrevivencia es del 100% de plantas adaptadas para su siembra al campo en el sustrato tierra de sembrado. En el estudio realizado por Canchignia y Ramos (2004) el porcentaje de sobrevivencia en plátano variedad Barragante fue de 96.660 y 83.310 de sobrevivencia usando como sustratos carboncillo y arena. Con respecto a los porcentajes sobrevivencia presentados en este estudio se determinó que el sustrato tierra-arena-arroz (t.a.a; 1:1:1) con un 90.6 % de sobrevivencia es diferentes con las variedades de plátano y sustratos evaluados por Canchignia, et (2008) y Canchignia y Ramos (2004).



Figura 3. Ensayo de aclimatación del plátano cultivar Cuerno Enano. Plantas adaptadas para su siembra al campo.

En la variable longitud del pseudotallo se logró determinar una media ascendente en los tres sustratos utilizados A) tierra-arena-arroz, B) tierra-arena-vermiculita. C) vermiculita-arena-arroz. Este comportamiento fue durante seis semanas en el crecimiento de las plantas, los mejores sustratos para la longitud del pseudotallo son tierra-arena-arroz y tierra-arena-vermiculita con un promedio de 0.6453 y 0.6114 cm y fue menor longitud del pseudotallo vermiculita, arena, arroz con una media de 0.5728 cm (Gráfico 9, Cuadro 12 y Figura 3).

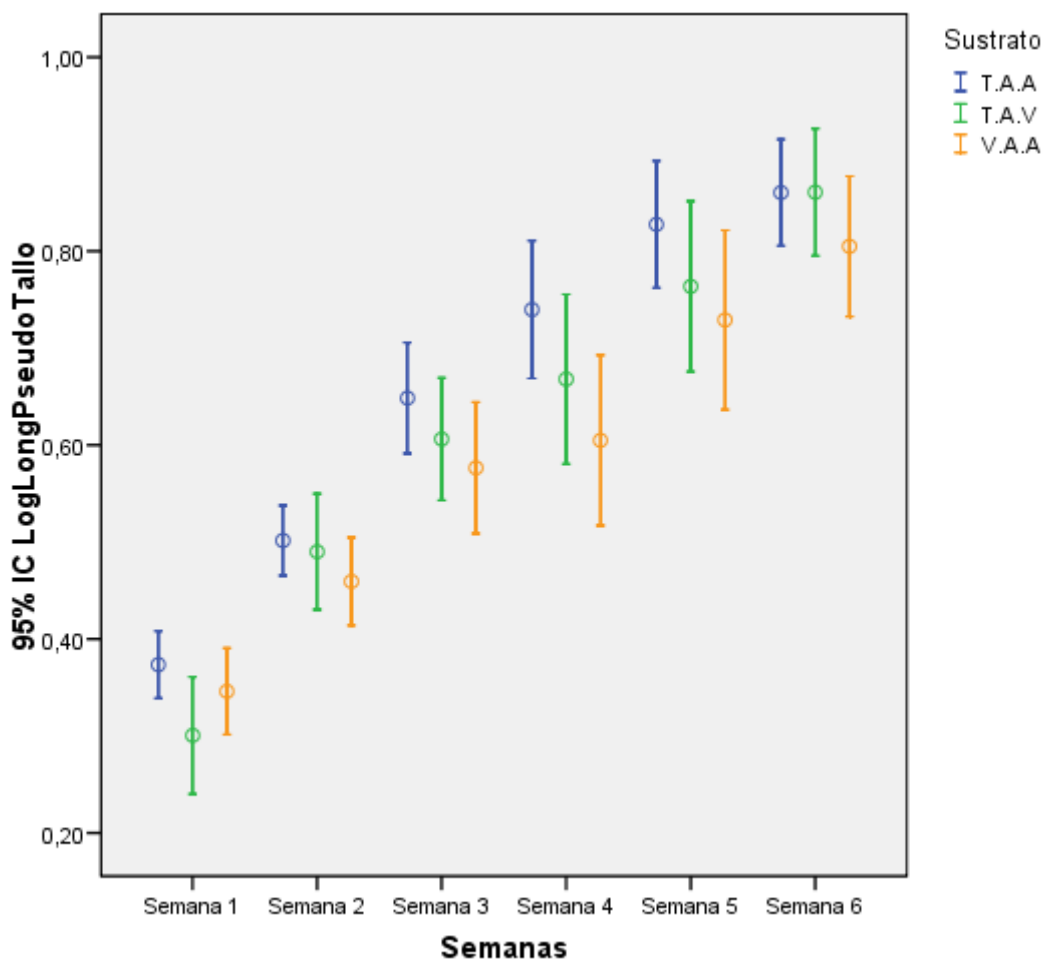


Gráfico 9. Media de la Longitud del pseudotallo en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación.

En el Gráfico 9 se observa el incremento de los valores al pasar la semana, al realizar el análisis estadístico se le aplicó logaritmo natural a la variable longitud del pseudotallo, esta aplicación de logaritmo se debe porque la variabilidad de los valores es grande por eso se transforman los datos y también porque no se cumplía la homogeneidad de varianza, por eso se logra que al transformar los datos los intervalos de confianza son más estables con respecto a la varianza y se aprecia mejor la diferencia entre los niveles (Gráfico 9).



Cuadro 12. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable longitud del pseudotallo cm según el estadístico Duncan.

Sustratos	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	
Duncan(a,b)	v.a.a	149	,5728	
	t.a.v	162	,6114	,6114
	t.a.a	163		,6453
	Sig.		,146	,200
Scheffé(a,b)	v.a.a	149	,5728	
	t.a.v	162	,6114	,6114
	t.a.a	163		,6453
	Sig.		,346	,440

Al realizar la prueba de Duncan al 95% de confianza sobre la variable longitud del pseudotallo se puede observar la formación de dos subconjuntos homogéneos donde el sustrato t.a.a (0.6453 cm) y t.a.v (0.6114 cm) se encuentran ubicadas en el primer subconjuntos, en el segundo subconjuntos se observan los sustratos t.a.v (0.6114 cm) y v.a.a (0.5728 cm) cada sustrato se agrupa por su afinidad de valores con un nivel de significancia de ($p=0.05$), al realizar el análisis se obtuvo que hay diferencia significativa entre los sustratos, pero no existe diferencia significativa entre los sustrato dentro los subconjuntos con respecto a la variable longitud del pseudotallo (Cuadro 12).

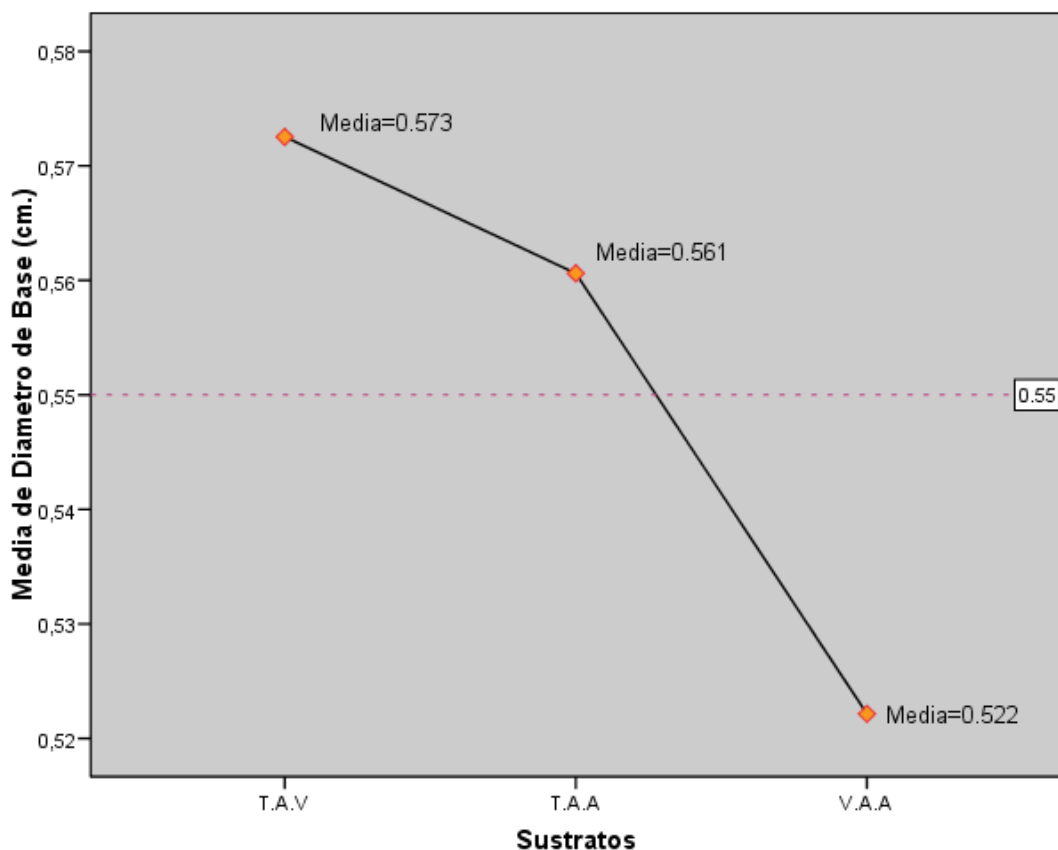


Gráfico 10. Media del diámetro de base en plátano cultivar Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación.

En el Diámetro de base se logró una respuesta en los diferentes sustratos con una media general de 0.55 cm: siendo los mejores sustrato tierra-arena-vermiculita (t.a.v) con una media de 0.573 cm y tierra-arena-arroz (t.a.a) con una media de 0.561 cm y el valor de media más baja corresponde al sustrato vermiculita-arena-arroz (v.a.a) con 0.522 cm (Gráfico 10).

De acuerdo con el análisis estadístico Duncan se formaron dos subconjuntos donde el sustrato t.a.v logra el mayor efecto con respecto a los demás sustratos (Cuadro 13).



Cuadro 13. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable Diámetro de base cm según el estadístico Duncan.

Sustratos	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
Duncan(a,b)			
v.a.a	149	,522	
t.a.a	163		,561
t.a.v	162		,573
Sig.		1,000	,462
Scheffé(a,b)			
v.a.a	149	,522	
t.a.a	163	,561	,561
t.a.v	162		,573
Sig.		,060	,763

Al realizar la prueba de Duncan al 95% de confianza para el diámetro de base se puede observar la formación de dos subconjuntos homogéneos donde el sustrato t.a.v (0.573 cm) y t.a.a (0.561 cm) se encuentran ubicadas en el primer subconjuntos, en el segundo subconjuntos se observa el sustratos v.a.a (0.522 cm) cada sustrato se agrupa por su afinidad de valores con un nivel de significancia de ($p=0.05$), al realizar el análisis se obtuvo que no hubo diferencia significativa en los sustrato con respecto a la variable diámetro de base (Cuadro 13).

En el presente estudio al realizar el análisis de correlación de Pearson muestra que existe correlación en las variables longitud del pseudotallo y diámetro de base con una significancia de 0.01 bilateral (Cuadro 14).



En los estudios realizados por Canchignia y Ramos (2004), en el ensayo de aclimatación en plátano Barragante aporta que al utilizar los sustratos carboncillo y arena obtienen promedios de 6,571 y 5,173 cm de altura. Según Chavarría y López (2010), hubo correlación positiva y significativa entre número de hojas y longitud del pseudotallo en plátano cuerno gigante. Correlación con el diámetro

Cuadro 14. Correlación de Pearson por sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v), tierra-arena-arroz (t.a.a) y vermiculita-arena-arroz (v.a.a) en la variable longitud del pseudotallo cm y Diámetro de base cm.

		T.a.a		T.a.v		V.a.a	
		Long. del Pseudotallo (cm)	Diámetro de Base (cm)	Long. del Pseudotallo (cm)	Diámetro de Base (cm)	Long. del Pseudotallo (cm)	Diámetro de Base (cm)
Long. del pseudotallo (cm)	Correlación de Pearson	1	.755(**)	1	.713(**)	1	.738(**)
	Sig (bilateral)				.000		
	N	163	1	.713(**)	162	149	149
Diámetro de base (cm)	Correlación de Pearson	.755(**)	1	.713(**)	.000	-738(**)	1
	Sig. (bilateral)	.000		162	162	.000	
	N	163	163			149	149

Mediante el coeficiente de correlación se observa la relación que existe entre las dos variables longitud del Pseudotallo y Diámetro de base, esta prueba estadística muestra de que existe una correlación positiva perfecta entre ambas variables lo que indica su fuerza de relación, en el cual determina que no existe diferencia en las variables con respecto a los sustratos.



En el Gráfico 11 se muestra el número de hojas en relación a los sustratos evaluados, mediante el análisis estadístico se determinó que el sustrato t.a.v alcanza una media de 4.769 siendo el único sustrato que supera a la media general de 4.5, mientras los sustrato t.a.a (4.4) y v.a.a (4.2) son menores en relación a la media general.

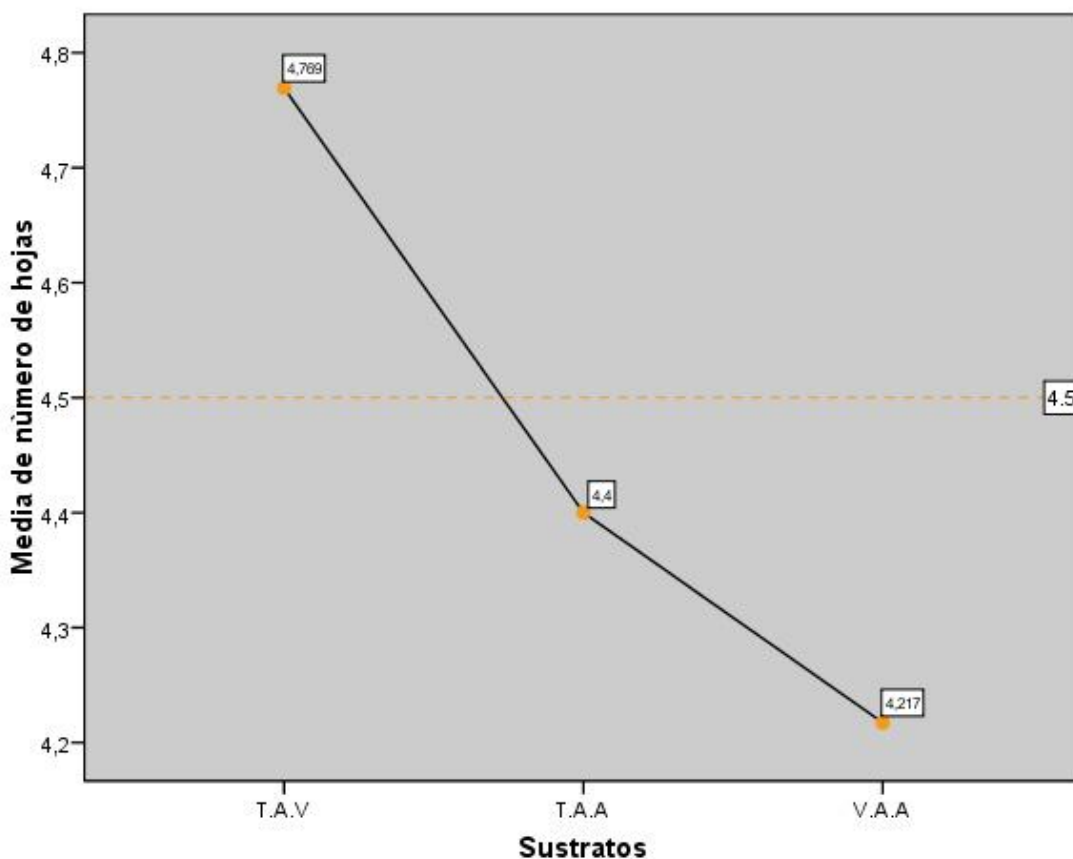


Gráfico 11. Promedio del número de hojas en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano Cuerno Enano.

Al realizar la prueba de Duncan al 95% de confianza sobre la variable número de hojas se puede observar que no hay diferencia significativa entre la variable y los sustratos, en el cual se logra observar la formación de un subconjuntos homogéneos donde el sustrato t.a.v (4.7), t.a.a (4.4) y v.a.a (4.2) cada sustrato se agrupa por su afinidad de valores con un nivel de significancia de ($p=0.05$) (Anexo Cuadro 29).



En el Gráfico 12 se muestrala el número de raíces la cual mediante un análisis estadístico logro determinar que el sustrato con mayor respuesta fue el sustrato t.a.a con una media de 4.24 raíces por planta; superando la media general de 3.9 raíces. Mientras los sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v) y vermiculita-arena-arroz (v.a.a) con promedios de 3.88 y 3.52 bajo de la media general de 3.9.

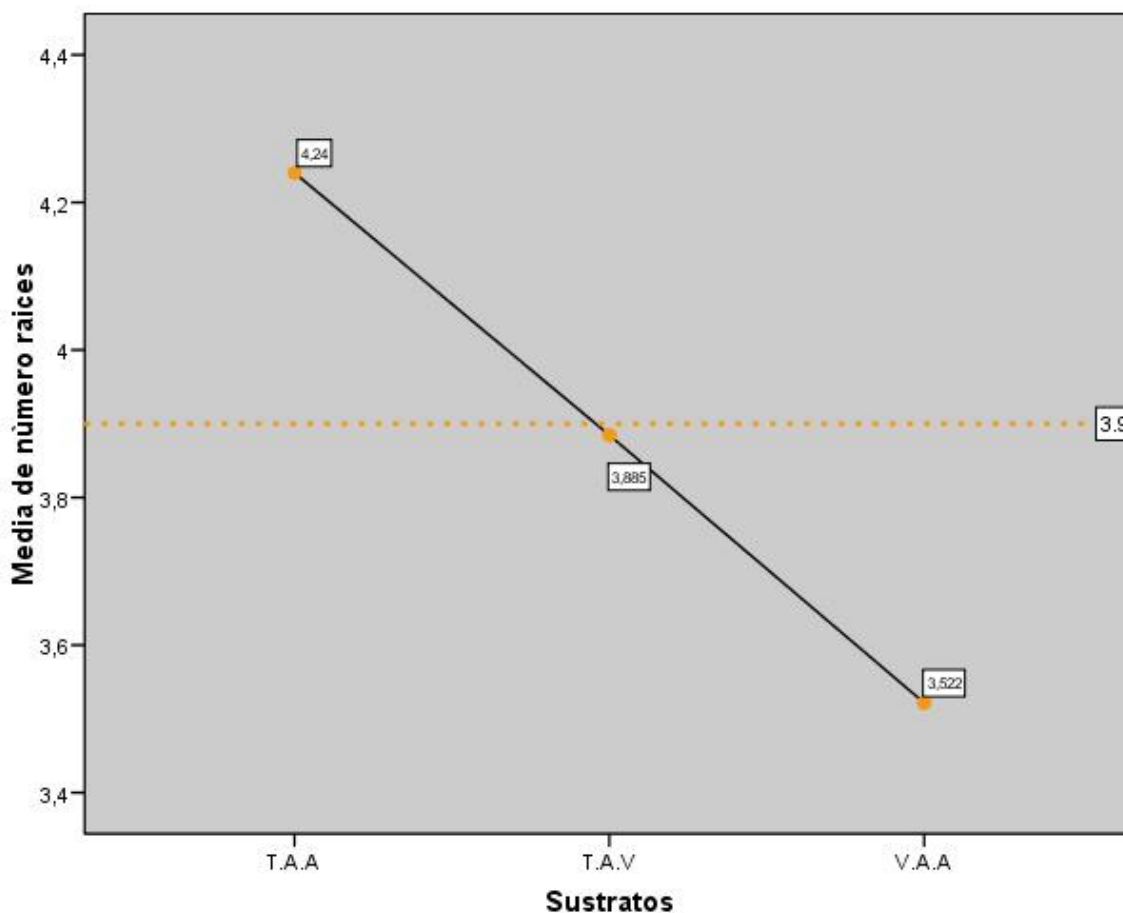


Gráfico 12. Promedio del número de raíces en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano cuerno enano.

Al realizar el análisis estadístico de Duncan al 95%de confianza sobre la variable número de raíces se puede observar la formación de dos subconjuntos homogéneos donde el sustrato t.a.a (4.24) y t.a.v (3.88) se encuentran ubicadas en el primer subconjuntos, en el segundo subconjuntos se observan los sustratos t.a.v (3.88) y v.a.a (3.52) cada sustrato se agrupa por su afinidad de valores con un nivel de significancia de ($p=0.05$), al realizar



el análisis se determinó de que no hay diferencia significativa en los sustrato con respecto a la variable número de raíces (Cuadro 15).

Cuadro 15. Promedio del número de raíces en el ensayo de aclimatación en diferentes tipos de sustratos en plátano cuerno enano mediante el análisis estadístico de Duncan.

Sustratos	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	1	
Duncan(a,b)	V.A.A	23	3,52	
	T.A.V	26	3,88	3,88
	T.A.A	25		4,24
	Sig.		,254	,264
Scheffé(a,b)	V.A.A	23	3,52	
	T.A.V	26	3,88	
	T.A.A	25	4,24	
	Sig.		,082	

Mediante en el análisis estadístico para longitud de la raíz se determinó que el sustrato donde se obtuvo mayor longitudes cuando se utilizó t.a.v con una media de 11.885 cm la cual es mayor que la media general de 11.00 cm (Gráfico 13).

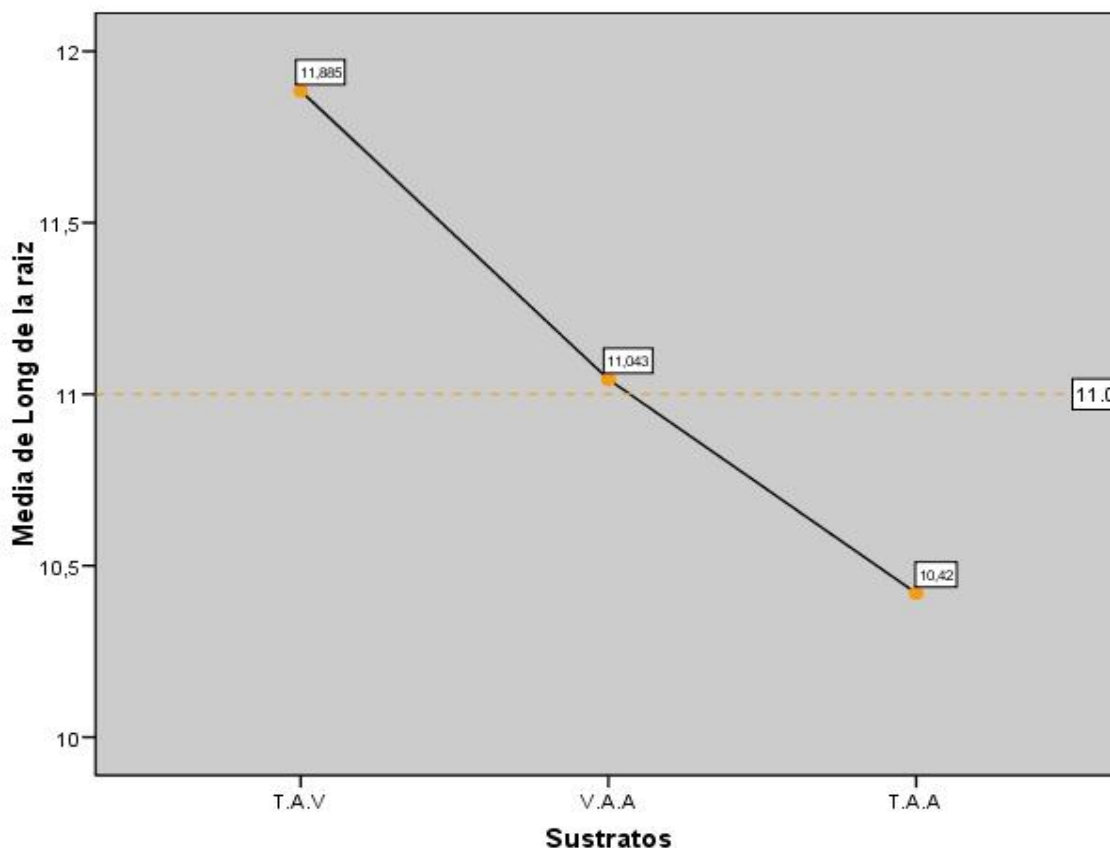


Gráfico 13. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos tierra-arena-vermiculita (t.a.v); tierra-arena-arroz (t.a.a); vermiculita-arena-arroz;(v.a.a) en la variable longitud de la raíz cm en el ensayo de aclimatación en plátano Cuerno Enano.

Al realizar el análisis estadístico de Duncan al 95% de confianza sobre la variable longitud de la raíz se puede observar la formación de un subconjunto homogéneo donde el sustrato t.a.v (11.885 cm), v.a.a (11.043 cm) y t.a.a (10.42 cm) se encuentran ubicadas en el primer subconjunto cada sustrato se agrupa por su afinidad de valores con un nivel de significancia de ($p=0.05$), al realizar el análisis se obtuvo que no hubo diferencia significativa en los sustratos con respecto a la variable longitud de la raíz, (Anexo Cuadro 30).

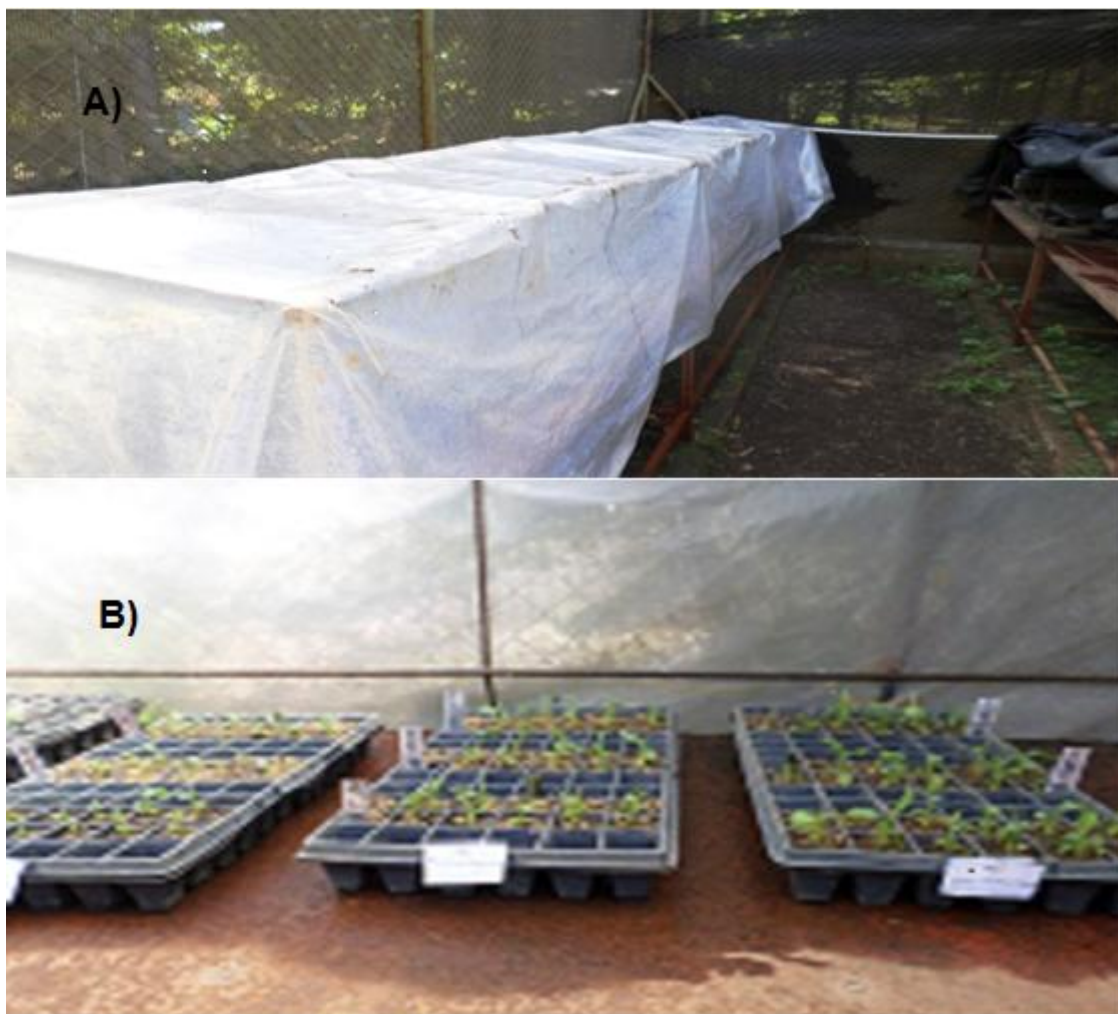


Figura 4. Ensayo de aclimatación. A) Siembra de las plantas in vitro sacadas del laboratorio. B) Túnel de crecimiento para las plantas in vitro en el invernadero.



V. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en el Laboratorio de Cultivo de Tejido de la UNAN-León, se logró optimizar un protocolo de micropropagación *in vitro* de plátano variedad, Cuerno Enano (*Musa spp. AAB*).

En el ensayo de multiplicación los mejores resultados se obtuvieron en las combinación de 2.00 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA con una tasa de proliferación 2.36.

En el ensayo de regeneración el mejor promedio de raíces se logró en la combinación con 0.0 mg/l BAP + 0.15 mg/l AIA con un valor de 6.12 raíces respectivamente por planta.

En el ensayo de aclimatación utilizando el sustrato tierra-arena-arroz (t.a.a) es donde se obtuvo el mayor porcentaje de sobrevivencia de 90.6 %, así como mayor longitud de pseudotallo con 0.6453 cm en plátano Cuerno Enano. Mientras que el mayor número de hojas con 4.769 se registró en el sustrato tierra-arena-vermiculita (t.a.v).



VI. Recomendaciones

- Realizar estudios de micropropagación con otros genotipos de plátano como Cuerno Enano, Cuerno Gigante y FHIA 21.
- Estudiar el comportamiento fenológico de la planta desde el momento de introducción *in vitro* del genotipo seleccionado hasta su producción en campo.
- De acuerdo al coeficiente de polinomio de segundo grados dados sus predicciones este modelo se puede emplear en otros genotipos a estudiar.



VII. Referencias Bibliográficas

- Agrolanzarote, 2012. Fichas técnicas de cultivo de Lanzarote, cabildo de Lanzarote. (En línea) Consultado el 21 de mayo 2014. Disponible en http://www.agrolanzarote.com/sites/default/files/Agrolanzarote/02Productos/documentos/ficha_del_cultivo_de_platano.pdf
- APLARI, 2007. Exitosa comercialización de plátano pelado a honduras: *in* Boletín de la Asociación de Productores de Plátano y Guineo de Rivas, Edición 2, febrero 2007, pp. 11– 12.
- Azcon-Bieto, J y Talón, M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal (Capítulo 19). Desarrollo vegetal. Segunda edición. pp. 381-382. Revisado el 30 de noviembre del 2014.
- Barba, A. 1991. Reguladores del crecimiento vegetal (Capítulo4). En: *Cultivo de Tejidos Vegetales*. México: Trillas, pp. 48 - 66. Revisado el 30 de abril del 2014.
- Blanco Aguilar, L. 2013. Evaluación de la tasa de multiplicación *in vitro* de *Colocasia esculenta* (L.) Schott. (Malanga) mediante la aplicación de diferentes concentraciones de Benzilaminopurina (BAP) y Ácido Indol acético (AIA) en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la UNAN-León. Tesis Lic. León, Nicaragua. pp. 23-24. Consultado el 4 de abril del 2014.
- Blanco, F y Carcache, M .2007. análisis multisectorial para identificar brechas tecnológicas y retos para el desarrollo del sector musáceas en Nicaragua. (en línea) Consultado el 07 de abril 2014. Disponible en <http://www.funica.org.ni/docs/Analisis-musaceas.pdf>.
- Caldera. L y López. J. 2002. Mejoramiento de la eficiencia de propagación *in vitro* de plátano (*Musa* AAB cv. Enano), universidad nacional agraria, Managua-Nicaragua. (en línea) consultado el 20 de marzo del 2014. Disponible en <https://www.cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf30c146m.pdf>
- Calderón, P. y Gonzales, H. 2009. Micropropagación y aplicación de termoterapia a material de siembra de Yuca (*Manihot esculenta Crantz*), en el laboratorio Cultivo de Tejido. Tesis de Licenciatura no publicada, UNAN, León, Nicaragua.



- Canchignia F., L Ramos. 2004. Micropropagación de plátano variedad Barragante, Laboratorio de biotecnología vegetal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. (en línea) consultado el 10 de febrero del 2014. Disponible en <http://www.pdfio.com/k-6734184.html>
- Canchignia, H., Sigcha, L., Toaquiza, J., Ramos, L., Saucedo, S., Carranza, M y Cevallos, O. 2008. Alternativas para la propagación *in vitro* de plátano variedad Maqueño (*Musa balbisiana* AAB), Universidad técnica Estatal de Quevedo, Santo Domingo. (en línea) consultado el 30 de marzo del 2014. Disponible en <https://www.dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4045248.pdf>
- Castañeda, M., Cabrera, A., Navarro, Y., Vries, W. 2010. Procesamientos de datos y análisis estadísticos utilizando spss. Pontificia Universidad católica do Rio Grande do sul.(en línea) consultado el 27 de abril del 2015. Disponible en <http://www.pucrs.br/edipucrs/spss.pdf>.
- Censo Nacional Agropecuario 2012.Análisis de Encadenamientos Productivos para la Generación de Valor Agregado en Nueve Cadenas Agroalimentarias Ubicadas en las Zonas de Mayor Potencial Productivo de Nicaragua, pp. 32-36, Managua, Nicaragua.(en línea) Consultado el 14 de abril 2015. Disponible en <http://www.mific.gob.ni/Portals/0/Portal%20Empresarial/Analisis%20de%20Cadenas%20Agroalimentaria.pdf>
- Colmenares, M. y Jiménez, C. 2003. Multiplicación in vitro musa spp. Mediante sistema de inmersión temporal. Laboratorio de Biotecnología vegetal universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. Consultado el 24 julio del 2014. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182003000400007&script=sci_arttext.
- Cortez, S. 2007. Determinación de la tasa de proliferación del plátano cuerno gigante utilizando cuatro concentraciones de citoquinina (6-Bencilamino purina) en el laboratorio de cultivo de tejido de la UNAN- león, Tesis Lic. León-Nicaragua.



- Comparaciones Múltiples. Revisado el 10 de Mayo del 2015.
<http://www.ugr.es/~bioestad/guiaspss/practica7/ArchivosAdjuntos/ComparacionesMultiples.pdf>
- Chavarría, D. y López, G. 2010. Micropropagación de ápices caulinares en Plátano (*Musa spp.* AAB) cultivar Cuerno Gigante, universidad nacional agraria, Managua-Nicaragua. (en línea) consultado el 16 de Agosto del 2013. Disponible en <http://www.cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf02c512m.pdf>
- Damasco, O.; L. F. Pateña and C. E. Umali. 1984. "Tissue culture of banana". En: 15 the Scientific meeting of the Philippines. pp. 21.
- Davies PJ. 1995. Plant hormones. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. (en línea) Consultado el 15 de mayo 2014. Disponible en <http://www.plant-hormones.info/details.asp?ContactID=72>
- Enciclopedia Cubana en la Red (EcuRed), s.f. Plátano. (en línea) Consultado el 4 de abril del 2014. Disponible.<http://www.ecured.cu/index.php/Plátano>
- FHIA, 2004. Estudio de mercado de plátano, Tegucigalpa, Honduras. Consultado el 25 de enero 2014. (en línea) Disponible en http://www.fhia.org.hn/downloads/informes_anuales/ianualfhia2003-2004.pdf
- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1998. Propagación de plantas. Ed. CECSA Hoyos, J., Perea, C., Velasco, R. 2008. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la Micropropagación del plátano dominico hartón (*Musa AAB Simmonds*), Facultad de Ciencias Agropecuarias. (En línea) consultado el 4 de diciembre del 2013. Disponible <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a13>
- IICA, 2004. Cadena agroindustrial del plátano, Managua, Nicaragua. 57p. consultado el 7 de abril 2014.
- Jimenez González. 1998. Mass propagation of tropical crops in temporary immersion systems. Institute of plant biotechnology. Central university of las villas. (en línea) Consultado el 15 de mayo 2014. Disponible en http://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-3200-5_12#page-2



- Jordán, M., y Casaretto, J. 2006. Capítulo XVI- Hormonas y Reguladores de Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. (en línea) Consultado el 2 de abril del 2014. Disponible en <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Etileno,aba,jasmonico,brasin o,.pdf>.
- Krikorian, AD.1995.Hormones in tissue culture andMicropropagation. En: David, JD. (Ed) Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.2nd edition. Kluwer Academic Publishers, London. (En línea)Consultado el 15 de mayo del 2014. DisponibleEnhttp://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-0473-9_35#page-1
- Krikorian, A. 1991. Propagación clonal*in vitro*. En: Roca, W. y Mroginski, L. (Ed). Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. CIAT, Cali, pp. 95-125
- Litz & Jarret, 1991. Regeneración de las plantas en el cultivo de tejido: embriogénesis somáticas y organogénesis, en cultivo de tejido de la agricultura. Fundamento y aplicaciones. Roca W. M. y Mroginski L. A; Eds. CIAT centro internacional de agricultura tropical. Cali, Colombia. (en línea) Consultado el 20 de marzo del 2014. Disponible en <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/7701/CARACMORFOL.pdf?sequence=1>.
- Ministerio de Fomento Industria y Comercio. 2007. Dirección General de Comercio Exterior Dirección de Políticas Comerciales Externas, Edición No. 8, Managua, Nicaragua. (en línea) Consultado el 2 de marzo 2014. Disponible en <http://www.mific.gob.ni>
- Ministerio de Fomento, Industria y Comercio. 2009. ficha plátano, Carretera Masaya Km. 6. Frente a Camino de Oriente. (en línea) Consultado el 16 de marzo 2014. Disponible en <http://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01N583.pdf>



- Moya, M. 2005. Redacción de referencias bibliográficas normas técnicas. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de información tecnológica. Consultado el 30 de Marzo del 2014. Disponible en <http://www.itcr.ac.cr/revistaKuru/pdf/NormasIICA-CATIE.pdf>
- Muller, L y Sandoval, J. 1986. *In vitro* germplasm conservation of *Musa* spp. In: Abstracts, VI. International congress plant tissue and cell culture, Minnesota, United States of America. pp. 426.
- Navarro, L. 1979. Microinjerto de ápices caulinares in vitro para la obtención de plantas de ágricos libres de virus. Bol Serv.Plagas 5: 127-148. (en línea) consultado el 27 de abril del 2015. Disponible en http://ocw.uniovi.es/pluginfile.php/2621/mod_resource/content/1/practicas/Cuaderno_Pract_Biotec_11_OCW.pdf
- Orellana, P; 1998. Introducción a la propagación masiva en: propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología (Ed.) instituto de Biotecnología de las plantas, Universidad Central de las Villas, Santa Clara, Cuba.
- Pérez, J. y Orellana, 1989. Instructivo técnico para la Micropropagación *in vitro* del plátano. Grupo de biotecnología universidad central de las villas, cuba. pp.13.
- Rodríguez, M y Guerrero M. 2002. Guía técnica cultivo de plátano (En línea) consultado el 27 de mayo del 2014. Disponible en www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/Platano.pdf
- Ruscitti, M.; Marinucci, L.; Núñez, M.; Abedini, W.; Sharry, S. 2000. Enraizamiento *in vivo* e *in vitro* de *Pelargonium graveolens*. L'Herit. (en línea) Consultado el 20 Abril del 2014. Disponible en www.biotecnologiavegetal.ecampo.
- Salisbury, F y Ross, C. 1994. Fisiología Vegetal. Primera edición. Grupo Editorial Iberoamericana. México. pp. 759. (en línea) Consultado el 22 de mayo del 2014. Disponible en <http://culiacan.ciad.edu.mx/cms/index.php/educacion/biblioteca/127-fisiologia-vegetal.pdf>



- Sandoval, J. Brenes, G. & Pérez, L. 1991. Micropropagación de plátano y banano (*Musa* AAB, AAA) en el CATIE. (serie técnica, informe técnico/ CATIE N° 186). Turrialba, Costa Rica. pp.11.
- Sandoval, 1985. Determinación del tamaño del explante para la propagación *in vitro* en medio de cultivo de *Musa spp.* Turrialba. Universidad de Costa Rica. Pp. 50. Tesis de Licenciatura en Agronomía.
- Segretín. M. 2006. Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales), INGEBI-CONICET - Dpto. FBMyC, FCEyN-UBA. (en línea) consultado el 31 de marzo del 2014. Disponible en <http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%20II%20Eug e.pdf>
- Smith, M.K. 1988. A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. *Fruits*. Vol 43. No. 4 pp. 219-223.
- Simmonds, W. 1962. The evolution of bananas. Longmans, London. pp.170.
- Soto, M. 1985. Bananos, Cultivos y Comercialización. Litografía e imprenta. LTL, S.A. (San José Costa Rica). pp. 627. 1985.
- Sofía Olmos, Gabriela Luciani y Ernestina Galdeano. s.f. Métodos de propagación y conservación de germoplasma. (en línea) consultado el 2 de Abril 2014. Disponible en http://www.argenbio.org/adc/uploads/Libro_INTA_II/Parte_IV.pdf.
- Tazan, L. 1995. Cultivo del Plátano en Ecuador. Guayaquil, Ministerio De Agricultura y Ganadería. pp.15-27.
- Valera, J y Cruz, A. 2013. El plátano fruta, sus propiedades nutritivas y beneficios para la salud. (en línea). Consultado el 20 de febrero 2014. Disponible en <http://www.caribbeannewsdigital.com/noticia/el-platano-fruta-sus-propiedades-nutritivas-y-beneficios-para-la-salud>.
- Vasil, L. K. y Vasil, V. 1980. Clonal propagation in international review of cytology. Supplement 11A. Ed. Ap. USA. pp. 235.



- Villalobos, V. M.; Torpe, T.A. 1993. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Roca, M.; Mroginski, L. (eds.). *Cultivo de tejidos en la agricultura*. Fundamentos y aplicaciones. Cali: CIAT, pp. 127-141. Revisado el 30 de abril del 2014.
- Vuylsteke, D. R. 1989. Shoop tip culture for the propagation, conservation and exchange of musa germoplasm. Practical manual for handling crop germoplasm *in vitro*. International Board for plant genetic resources. Rome. 56 pp.



Anexos



Cuadro 16. Composición del medios de cultivo utilizado en el ensayos de establecimiento del Plátano cultivar Cuerno Enano (Protocolo Laboratorio de Cultivo de Tejido UNAN-león).

Componentes	Cantidad requerida para el ensayo de establecimiento 1 Lts
Agua destilada	500 ml
Macro 1	20 ml
Macro 2	20 ml
Macro 3	20 ml
Hierro	20 ml
Micro	1 ml
Vitaminas	1 ml
Ácido Ascórbico	10 ml
BAP mg/l
AIA mg/l
Azúcar	30 gr
Gel rite	2 gr/l
PH	5.8



Cuadro 17. Composición de los mejores medios de cultivo utilizado en los ensayos de multiplicación y regeneración del Plátano cultivar Cuerno Enano.

Componentes	Cantidad requerida para el ensayo de multiplicación 200 ml	Cantidad requerida para el ensayo de regeneración 200 ml
Agua destilada	100 ml	100 ml
Macro 1	4 ml	4 ml
Macro 2	4 ml	4 ml
Macro 3	4 ml	4 ml
Hierro	4 ml	4 ml
Micro	0.2 ml (200 µl)	0.2 ml (200 µl)
Vitaminas	0.2 ml (200 µl)	0.2 ml (200 µl)
Ácido Ascórbico	0.2 ml (200 µl)	0.2 ml (200 µl)
BAP mg/l	2.00 mg/l	0.0 mg/l
AIA mg/l	0.15 mg/l	0.15 mg/l
Azúcar	6 gr/l	6 gr/l
Gel rite	0.4 gr/l	0.4 gr/l
Carbón activado	0.1 mg/l
PH	5.8	5.8



Ensayo de Multiplicación

Este análisis muestra la relación entre la variable dependiente tasa de proliferación y las hormonas de crecimiento dando estadísticamente significancia entre las combinaciones estudiadas.

Cuadro 18. Análisis de regresión para la variable dependiente tasa de proliferación.

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	1,324	,100		13,257	,000
HormonaBAP.mg/l	1,146	,130	1,640	8,786	,000
HormonaAIA.mg/l	-4,970	,750	-,528	-6,626	,000
BAP Por AIA	1,058	,313	,393	3,376	,001
BAP Por BAP	-,256	,032	-1,677	-7,898	,000
Long. Planta.por.Long. Planta.	-,006	,002	-,145	-4,043	,000

Esta tabla nos muestra el grado de significancia que hay entre la variable dependiente tasa de proliferación con respecto a las hormonas AIA y BAP aceptando la hipótesis Alternativa (Ha) ya que se logra observar los diferentes efectos de respuestas.

Cuadro 19. Análisis de varianza univariante para la variable dependiente tasa de proliferación.

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	134,737(a)	27	4,990	6,115	,000
Intersección	1238,769	1	1238,769	1517,966	,000
HormonaBAP.mg/l	46,803	2	23,402	28,676	,000
HormonaAIA.mg/l	21,282	1	21,282	26,078	,000
Replica	1,155	3	,385	,472	,702
HormonaBAP.mg/l * HormonaAIA.mg/l	38,423	2	19,212	23,542	,000
HormonaBAP.mg/l * Replica	7,877	6	1,313	1,609	,142
HormonaAIA.mg/l * Replica	6,352	3	2,117	2,594	,052
HormonaBAP.mg/l * HormonaAIA.mg/l * Replica	2,923	6	,487	,597	,733
Error	548,400	672	,816		
Total	2106,000	700			
Total corregida	683,137	699			



Cuadro 20. Medias de la variable dependiente tasa de proliferación con respecto a las combinaciones estudiadas mediante un análisis univariante (ANOVA).

Hormona BAP.mg/l	Hormona AIA.mg/l	Media	Desv. típ.	N
,00	,00	1,18	,516	85
	Total	1,18	,516	85
1,00	,15	1,19	,507	97
	,30	1,04	,205	92
	Total	1,12	,396	189
2,00	,15	2,36	1,658	98
	,30	1,25	,716	100
	Total	1,80	1,385	198
4,00	,15	1,53	,990	89
	,30	1,64	1,085	88
	Total	1,58	1,036	177
Total	,00	1,18	,516	85
	,15	1,70	1,258	284
	,30	1,30	,788	280
	Total	1,46	1,019	649



Ensayo de Regeneración

Este análisis nos muestra que existe una significancia entre la variable longitud de la raíz principal, como también con las combinaciones de hormonas BAP Y AIA aceptando así la hipótesis de alternativa.

Cuadro 21. Análisis de varianza univariante para la variable dependiente Número de raíces por planta.

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	701,721(a)	4	175,430	20,185	,000
Intersección	356,224	1	356,224	40,988	,000
Long.dela.Raiz.principal.cm	451,492	1	451,492	51,949	,000
Combinaciones de Concentraciones BAP.AIA	168,580	3	56,193	6,466	,000
Error	2085,846	240	8,691		
Total	8626,000	245			
Total corregida	2787,567	244			

Cuadro 22. Muestra los efectos de las combinaciones y el testigo en la variable número de raíces por planta en el ensayo de regeneración según estadístico Duncan.

Combinación de BAP y AIA	N	Subconjunto para alfa= .05		
		1	2	3
Duncan(a ,b,c)				
Combinación 1 (0,0)	55	3,38		
Combinación 4 (1,0.15mg/l)	63	4,44	4,44	
Combinación3 (0.5,0.15 mg/l)	61		5,34	5,34
Combinación 2 (0,0.15 mg/l)	66			6,12
Significación		,059	,109	,166

En este cuadro se observan dos grupos según las medias y se muestran los grupos con más afinidades o similitud al 95% de confianza



Cuadro 23. Muestras los efectos de respuestas de las combinaciones más el testigo en la variable longitud del brote cm según el estadístico Duncan.

Combinación BAP y AIA.	N	Subconjunto para alfa=.05	
		1	2
Duncan(a,b,c)			
Combinación3 (0.5,0.15mg/l)	61	2,903	
Combinación 1 (0,0 mg/l)	55	3,091	
Combinación 2 (0,0.15 mg/l)	66		4,935
Combinación 4 (1,0.15 mg/l)	63		5,068
Significación		,547	,669

Cuadro 24. Muestras los efectos de respuestas de las combinaciones más el testigo en la variable longitud de la raíz cm según el estadístico Duncan.

Combinaciones de BAP y AIA.	N	Subconjunto para alfa=.05	
		1	2
Duncan(a,b,c)			
Combinación 1 (0,0)	55	5,27	
Combinación 3 (0.5,0.15 mg/l)	61	5,69	
Combinación 4 (1.0, 0.15 mg/l)	63		7,53
Combinación 2 (0.0.,0.15 mg/l)	66		7,98
Significación		,519	,486



Cuadro 25. Análisis de prueba t de comparaciones múltiple de Dunnett en las diferentes combinaciones.

	(I) Combinación BAP.AIA	(J) Combinación BAP.AIA	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
						Límite superior	Límite inferior
t de Dunnett (bilateral)(a)	Comb 2 (0,0.15)	Comb 1 (0,0)	2,71(*)	,649	,000	1,18	4,24
	Comb 3 (0.5,0.15)	Comb 1 (0,0)	,42	,661	,859	-1,14	1,97
	Comb 4 (1,0.15)	Comb 1 (0,0)	2,26(*)	,656	,002	,71	3,80

Ensayo de Aclimatación

Cuadro 26. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato tierra-arena-arroz).

	Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. asintót. (unilateral)
Sobrevivencia	Vivo	1	163	,906	,9
	muerto	0	17	,094	
	Total		180	1,0	

a Sustratos = T.A.A

Cuadro 27. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato tierra-arena-vermiculita).

	Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. asintót. (unilateral)
Sobrevivencia	vivo	1	162	,900	,9
	muerto	0	18	,100	
	Total		180	1,0	

a La hipótesis alternativa establece que la proporción de casos del primer grupo sea < ,9.

b Sustratos = T.A.V



Cuadro 28. Porcentaje de sobrevivencia en plátano Cuerno Enano en el ensayo de aclimatación (Sustrato vermiculita-arena-arroz).

	Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. asintót. (unilateral)
Sobrevivencia	vivo	149	,828	,9	,002(a,b)
	muerto	31	,172		
	Total	180	1,0		

a La hipótesis alternativa establece que la proporción de casos del primer grupo sea < ,9

b Sustratos = V.A.A

Cuadro 29. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable número de hojas según el estadístico Duncan.

		N	Subconjunto para alfa = .05
Sustratos		1	1
Duncan(a,b)	v.a.a	23	4,22
	t.a.a	25	4,40
	t.a.v	26	4,77
	Sig.		,070
Scheffé(a,b)	v.a.a	23	4,22
	t.a.a	25	4,40
	t.a.v	26	4,77
	Sig.		,159

Cuadro 30. Muestras los efectos de respuestas de los diferentes sustratos en la variable longitud de raíz según el estadístico Duncan.

		N	Subconjunto para alfa = .05
Sustratos		1	1
Duncan(a,b)	T.A.A	25	10,42
	V.A.A	23	11,04
	T.A.V	26	11,88
	Sig.		,455
Scheffé(a,b)	T.A.A	25	10,42
	V.A.A	23	11,04
	T.A.V	26	11,88
	Sig.		,726