

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**“EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE LA CITOQUININA BENCIL
AMINO PURINA (BAP) EN LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA IN VITRO DE
DOS CULTIVARES DE *Musa spp.* EN TINGO MARÍA”**

Tesis

**Para optar el título de
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR:
ETSON JHOEL MORALES CASAS**

**Asesores
CARLOS MIGUEL MIRANDA ARMAS
JULIO ALFONSO CHIA WONG**

Tingo María – Perú

2025



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE AGRONOMÍA



Km 1.21 carretera Tingo María. Telf. (062) 561136 E.mail: fagro@unas.edu.pe.

"AÑO DE LA RECUPERACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA ECONOMÍA PERUANA"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Nº 029-2025-FA-UNAS

BACHILLER : ETON JHOEL MORALES CASAS

TÍTULO : EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE LA CITOQUININA BENCIL-AMINOPURINA (BAP) EN LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA IN VITRO DE DOS CULTIVARES DE *Musa spp.*, EN TINGO MARÍA.

JURADO CALIFICADOR

PRESIDENTE : M. Sc. LUIS FERNANDO GARCIA CARRION
VOCAL : Ing. JORGE CERON CHAVEZ
VOCAL : M.Sc. GEIDER FALCON PAREDES

ASESORES : Ing. CARLOS MIGUEL MIRANDA ARMAS
Dr. JULIO ALFONSO CHIA WONG

FECHA DE SUSTENTACIÓN : 17/12/2025

HORA DE SUSTENTACIÓN : 09:30 A.M.

LUGAR DE SUSTENTACIÓN : Sala de Audiovisuales de la F.A.

CALIFICATIVO : BUENO

RESULTADO : APROBADO

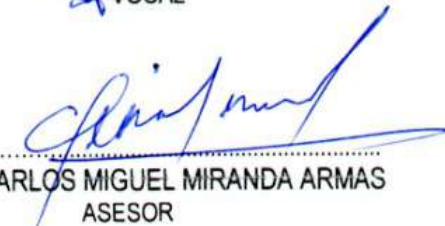
OBSERVACIONES A LA TESIS : EN HOJA ADJUNTA

TINGO MARÍA, 17 DE DICIEMBRE DEL 2025


M. Sc. LUIS FERNANDO GARCIA CARRION
PRESIDENTE


Ing. JORGE CERON CHAVEZ
VOCAL


M. Sc. GEIDER FALCON PAREDES
VOCAL


Ing. CARLOS MIGUEL MIRANDA ARMAS
ASESOR


Dr. JULIO ALFONSO CHIA WONG
ASESOR



UNAS

VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN

UNIDAD DE SOPORTE
CIENTÍFICO
REPOSITORIO INSTITUCIONAL

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N 021 - 2026 - CS-RIDUNAS

El Jefe de la Unidad de Soporte Científico de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% y contenido generado por Inteligencia Artificial menor o igual al 20%. Según establece el Art. 29° y 30° del Acuerdo Nro.017-2025-CIUNAS-VRI-UNAS.

Programa de Estudio:

Agronomía

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE	
		SIMILITUD	CONTENIDO GENERADO POR INTELIGENCIA ARTIFICIAL
EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE LA CITOQUININA BENCIL AMINO PURINA (BAP) EN LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA IN VITRO DE DOS CULTIVARES DE Musa spp. EN TINGO MARÍA	ETSON JHOEL MORALES CASAS	11 % Once	Menor a 20 %

Tingo Maria, 20 de enero de 2026.

 UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
UNIDAD DE SOPORTE CIENTÍFICO

ING. EINSTEIN A. ORTIZ MORALES
JEFE

C.C. Archivo

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



“EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE LA CITOQUININA BENCIL AMINO PURINA (BAP) EN LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA IN VITRO DE DOS CULTIVARES DE *Musa spp.* EN TINGO MARÍA”

- Autor** : Etsón Jhoel Morales Casas
- Asesores** : Ing. Carlos Miguel Miranda Armas
Dr. Julio Alfonso Chia Wong
- Área de Investigación** : Biotecnología, mejoramiento, agrobiodiversidad
- Grupo de Investigación** : Valorizando nuestra biodiversidad mediante biotecnología
- Línea de investigación** : Biotecnología y mejoramiento genético de plantas
- Lugar de Ejecución** : Laboratorio de Biotecnología y Diversidad Molecular de la
Facultad de Agronomía.
- Duración del trabajo** : 6 meses
- Financiamiento** : S/ 3 835,25

Tingo María - Perú – Octubre, 2025



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN
UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

“Promoviendo la Calidad de la Investigación”

FORMATO PARA REGISTRAR EL PROYECTO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO UNIVERSITARIO

Universidad : Universidad Nacional Agraria de la selva
Facultad : Agronomía
Escuela profesional/ : Agronomía
Departamento Académico
Título de la Tesis : Efecto de tres concentraciones de la citoquinina Bencil Amino Purina (BAP) en la propagación vegetativa in vitro de dos cultivares de *Musa spp.* en Tingo María
Objetivo General : Evaluar y determinar la mejor concentración de Bencil Amino Purina (BAP) en la propagación in-vitro de dos cultivares de *Musa spp.* (cv. Moquicho y cv. Inguiri) en condiciones de cultivo in vitro.
Autor de la Tesis : Morales Casas, Etson Jhoel
DNI : 76444343
Correo electrónico : etson.jhoel@live.com
Asesores : Ing. Carlos Miguel Miranda Armas
Dr. Julio Alfonso Chia Wong
Área de Investigación : Biotecnología, mejoramiento, agrobiodiversidad
Grupo de Investigación : Valorizando nuestra biodiversidad mediante biotecnología
Línea de investigación : Biotecnología y mejoramiento genético de plantas
Lugar de Ejecución : Laboratorio de Biotecnología y Diversidad Molecular de la Facultad de Agronomía.
Fecha Inicio : Abril 2023
Fecha Término : Setiembre 2023
Presupuesto : S/. 3 835,25
Financiamiento : Propio (X) FIF () Externo ()

Según: **Resolución:** N° 191-2023/D-FA-UNAS y Resolución: N° 194-2025/D-FA-UNAS

DEDICATORIA

A Dios

por estar siempre presente a través de las oraciones cuidando de los míos y de mí, por ser quien me sostiene en el día a día y no desfallecer en el logro de mis metas.

A mis padres, cuya fe y oraciones han guiado mis pasos, por enseñarme con su ejemplo el valor del sacrificio y por cuidar de mí con amor incondicional a lo largo de mi vida.

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, mi alma mater, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y proporcionarme los conocimientos, valores y experiencias que cimentaron mi desarrollo académico. A la Facultad de Agronomía y a todos sus docentes, quienes con dedicación y compromiso contribuyeron a mi crecimiento personal y profesional.
- A mis asesores, Ing. Carlos Miguel Miranda Armas y Dr. Julio Alfonso Chia Wong, por su valiosa orientación, paciencia y constante apoyo durante la ejecución de este trabajo de investigación. Sus enseñanzas, observaciones y acompañamiento fueron esenciales para culminar con éxito este estudio.
- A presidente del jurado, M.Sc. Luis Fernando García Carrión, por su guía académica y disposición para la revisión técnica y científica del presente trabajo. Asimismo, a los miembros del jurado, M.Sc. Geider Falcón Paredes, Ing. Jorge Cerón Chávez, y al suplente, M.Sc. Jaime Josseph Chávez Matías, por sus aportes, sugerencias y su tiempo dedicado a fortalecer la calidad de esta tesis.
- A mi amigo Bach. Edwin Jesus Crispin Sanchez, por su apoyo incondicional, orientación técnica y acompañamiento constante en cada etapa del proceso de investigación. Agradezco también al Ing. Joel Sullón Vargas, por su colaboración, disposición y asistencia práctica durante los trabajos realizados en el laboratorio. Extiendo este reconocimiento a todos mis colegas del Laboratorio de Biotecnología y Diversidad Molecular (BIODIM), por su compañerismo, apoyo técnico y valiosa participación en el desarrollo experimental de esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo	1
Objetivos específicos.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Origen del género <i>Musa</i>	2
2.2. Descripción taxonómica de las especies del genero <i>Musa</i>	2
2.3. Descripción morfológica y fisiológica de <i>Musa spp.</i>	3
2.4. Características de las variedades	3
2.4.1. Cultivar Moquicho (<i>M. acuminata</i>)	3
2.4.2. Cultivar ingriri (<i>x paradisiaca</i> L).....	4
2.5. Micropropagación de tejidos in vitro	4
2.6. Etapas de micropropagación in vitro.....	5
2.6.1. Selección del material vegetal.....	5
2.6.2. Fase de desinfección.....	6
2.6.3. Aplicación de hormonas de crecimiento	6
2.6.4. Fase de establecimiento.....	7
2.6.5. Fase de multiplicación.....	7
2.6.6. Fase de enraizamiento	8
2.6.7. Aclimatación de las plántulas enraizadas.....	8
2.7. Estado de arte de micropropagación in vitro.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1. Lugar de ejecución	10
3.2. Materiales y equipos.....	10
3.2.1. Materiales de laboratorio.....	10
3.2.2. Equipos.....	10
3.2.3. Reactivos	11
3.2.4. Material experimental	11
3.3. Componentes en estudio.....	11
3.3.1. Factor A: Concentración de BAP.....	11
3.3.2. Factor B: Cultivares de plátano/banano (Yema apical)	11
3.4. Metodología.....	11

3.4.1.	Obtención del material vegetativo.....	11
3.4.2.	Extracción de la yema apical.....	11
3.4.3.	Esterilización de materiales y del medio de cultivo.....	12
3.4.4.	Preparación del medio de cultivo	12
3.4.5.	Preparación y siembra in vitro de las yemas apicales	12
3.4.6.	Rescate in vitro de las yemas apicales	13
3.5.	Diseño experimental.....	13
3.5.1.	Comprobación de la distribución normal	13
3.5.2.	Modelo lineal mixto	13
3.5.3.	Modelo lineal generalizado	14
3.6.	Evaluación de los tratamientos.....	15
3.6.1.	Números de brotes.....	15
3.6.2.	Longitud de brotes.....	15
3.6.3.	Número de hojas.....	15
3.6.4.	Número de raíces.....	15
3.6.5.	Longitud de raíces	15
3.6.6.	Mortalidad	15
3.7.	Tratamiento en estudio	16
3.8.	Características del espacio experimental.....	16
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1.	Número de brotes	17
4.2.	Longitud de brotes.....	19
4.3.	Número de hojas.....	22
4.4.	Número y longitud de raíces.....	23
4.5.	Mortalidad	24
V.	CONCLUSIONES.....	26
VI.	PROPUESTAS A FUTURO	27
VII.	REFERENCIAS	28
	ANEXOS	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Componentes y volúmenes para la preparación de medio de cultivo MS.	12
2. Descripción de los tratamientos con dos factores (BAP y cultivar)	16
3. Efectos fijos de los factores BAP y cultivar para la variable de longitud de brote...	20
4. Variancia y desviación estándar por sujetos y residuos.....	20
5. Longitud de brote, ordenados de mayor a menor longitud promedio por tratamiento en el cual también se muestra la desviación estándar.....	21
6. Resultados del modelo lineal generalizado con la interpretación de los coeficientes en escala logarítmica (regresión Poisson) para el numero de hojas.	22
7. Análisis de variancia tipo de chi cuadrado ($\alpha = 0.05$) para el numero de hojas con el modelo lineal generalizado, regresión Poisson.	23
8. Registro de datos y evaluaciones	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Imagen satelital de la ubicación del área experimental	10
2. Tubos con yemas apicales de <i>Musa spp.</i> mostro un solo brote, fenolización (color oscuro) y contaminación.....	17
3. Promedios de altura de brotes de los tratamientos.	21
4. Contaminación in vitro en explantes de <i>Musa spp.</i> a. contaminación bacteriana b. contaminación por hongos.....	24
5. Muestras vegetativas de cultivares <i>Musa spp</i> (Inguiri).....	34
6. Yema apical de <i>Musa spp</i> (Moquicho) esterilizadas.....	34
7. Macro y micronutrientes para la elaboración del medio de cultivo MS	35
8. Reactivos para la elaboración del medio del cultivo MS	35
9. Preparación de medios de cultivo MS	36
10. Tratamientos del Murashige y Skoog (MS) con BAP.....	36
11. Instalación de yemas apicales.....	37
12. Yema apical en medio de cultivo MS	37
13. Instalación de los tratamientos	38
14. Vista de los 8 tratamientos ya instalados de <i>Musa spp.</i>	38
15. Evaluación de las yemas apicales.....	39
16. Aparición de hojas y brotes en los explantes	39
17. Formación de hojas de <i>Musa spp.</i>	40
18. Formación de brotes de <i>Musa spp.</i>	40
19. Hojas de <i>Musa spp.</i>	41
20. Crecimiento de <i>Musa spp.</i>	41
21. Longitud de brote de <i>Musa spp.</i>	42
22. Contaminación en los explantes.....	42
23. Evaluación de longitud de brote en los explantes de <i>Musa spp</i>	43
24. Evaluación de numero de hoja en los explantes de <i>Musa spp</i>	43
25. Evaluación de longitud total de explantes	44
26. Histograma de frecuencias de la variable longitud de brotes (mm) mostrando la curva de distribución	44

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Diversidad Molecular de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (Tingo María), con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes concentraciones de 6-N-bencil aminopurina (BAP) en la propagación in vitro de dos cultivares de plátano/banano (*Musa spp.*): “Moquicho” y “Inguiri”.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de 4 concentraciones de BAP (0, 1.5, 3.0 y 6.0 mg/L) y 2 cultivares, con 15 repeticiones por tratamiento.

Los resultados evidenciaron que la concentración de 0 mg/L para el cultivar Moquicho y 6 mg/L para Inguiri promovieron una mayor longitud de brotes, aunque no se observaron diferencias significativas en el número de hojas. Asimismo, no se logró una multiplicación efectiva de brotes ni formación de raíces, atribuible a problemas de contaminación microbiana y fenolización, así como la baja concentración de auxinas que equilibran la respuesta hormonal.

Estos hallazgos sugieren que la BAP por sí sola no es suficiente para inducir una multiplicación eficaz en *Musa spp.* y que es necesario optimizar el balance de citoquininas y auxinas, además de mejorar las condiciones de asepsia y antioxidantes del medio de cultivo.

Palabras clave: *Musa spp.*, micropropagación, BAP, cultivo in vitro, citoquininas, yema apical.

ABSTRACT

This research was conducted at the Biotechnology and Molecular Diversity Laboratory of the Faculty of Agronomy at the National Agrarian University of the Selva (Tingo María, Peru), with the aim of evaluating the effect of different concentrations of benzylaminopurine (BAP) on the in vitro propagation of two banana (*Musa spp.*) cultivars: “Moquicho” and “Inguiri.”

A completely randomized design (CRD) with a factorial arrangement of four BAP concentrations (0, 1.5, 3.0, and 6.0 mg/L) and two cultivars, using 15 replications per treatment, was applied.

Results indicated that 0 mg/L BAP for “Moquicho” and 6 mg/L for “Inguiri” promoted greater shoot length, while no significant differences were observed in the number of leaves. However, effective shoot multiplication and root formation were not achieved, mainly due to microbial contamination, phenolic oxidation, and the lack of auxins required for hormonal balance.

These findings demonstrate that BAP alone is insufficient to induce effective shoot proliferation in *Musa spp.* It is recommended to optimize the cytokinin–auxin combination and to improve aseptic and antioxidant conditions of the culture medium to enhance plant regeneration efficiency.

Keywords: *Musa spp.*, micropropagation, BAP, in vitro culture, cytokinins, apical bud.

I. INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos son frutas nativas del sudeste de Asia, con registros históricos de su presencia en la India desde hace más de 2500 años, propagándose por África, el Mediterráneo y el Pacífico, gracias a la expansión comercial y colonial, colocándolo en la actualidad como uno de los alimentos más consumidos en el mundo.

Sin embargo, la propagación de enfermedades va de la mano con su producción a través del tiempo, ya sea por rizomas, hijuelos, estas plagas logran afectar el cultivo y el aumento de sus costos, un claro ejemplo, es el llamado mal de Panamá. Desde entonces, los investigadores buscan métodos para propagarlos explorando su resistencia, desarrollo y crecimiento, con el fin de acelerar su producción sin comprometer su calidad.

El 6-N-Bencil aminopurina o Bencil Amino Purina (BAP), es una hormona vegetal sintética clasificada como citoquinina, se emplea ampliamente en la agricultura y la horticultura para regular el crecimiento de las plantas. Se ha probado con éxito en diversas especies, y variando las concentraciones de BAP y seleccionando cuidadosamente un clon específico de una especie *Musa*, es posible aumentar la producción de brotes durante el cultivo in vitro, por el cual con el problema mencionado y los estudios anteriores de tal hormona se realizó la pregunta: ¿Cuál de estos efectos de tres concentraciones de la citoquinina 6-N-Bencil Amino Purina (BAP) ayudaría para obtener una mejor propagación vegetativa in-vitro de dos cultivares de *Musa spp.* en Tingo María?

Las técnicas in vitro de cultivo en tejidos vegetales para mejorar la propagación de plátanos y bananos asegurarían la continuidad de los cultivos de *Musa* y se proporcionaría semillas adaptadas a las condiciones locales en la Provincia de Rupa Rupa - Tingo María, contribuyendo al desarrollo sostenible y la seguridad alimentaria regional y nacional. Por lo tanto, se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo

Evaluar y determinar la mejor concentración de 6-N-Bencil Amino Purina (BAP) en la propagación in-vitro de dos cultivares de *Musa spp.* (cv. Moquicho y cv. Inguiri) en condiciones de cultivo in vitro.

Objetivos específicos

- a) Determinar la mejor concentración de 6-N-Bencil Amino Purina (BAP) en la propagación in vitro de la yema apical de dos clones de *Musa spp.*
- b) Analizar las respuestas de los dos cultivares a la propagación in vitro mediante la yema apical de la *Musa spp*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen del género *Musa*

Las especies pertenecientes a la familia Musaceae tienen su origen en la región Indomalaya, donde aún se conservan numerosas formas silvestres gracias a las prácticas de cultivo tradicionales que han favorecido la preservación de su diversidad genética.

Entre ellas, destacan *Musa acuminata*, que prospera en zonas de elevada humedad, y *Musa balbisiana*, la cual predomina en áreas periféricas más secas, especialmente en la India. La expansión de los bananos y plátanos hacia África permitió su posterior introducción en las Islas Canarias y, desde allí, en el continente americano, procedentes probablemente de Guinea, en África occidental (León, 1968, citado por Saltos, 2017).

El género *Musa* comprende especies de alto valor agrícola y económico, ampliamente cultivadas en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Su introducción en América y las Antillas ocurrió alrededor de 1516, cuando los europeos trasladaron el cultivo desde África. En la actualidad, la planta se cultiva de forma extensiva debido a su gran capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales; sin embargo, las principales zonas de producción comercial se localizan en regiones de clima tropical húmedo (Rodríguez & Guerrero, 2002, citados por Saltos, 2017).

2.2. Descripción taxonómica de las especies del género *Musa*

Según Mohammad y Saleha (2011), la clasificación sistemática de la *M. paradisiaca* L. y *M. acuminata*. AA son:

Reino	: Plantae
Subreino	: Franqueahionta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Zingiberales
Familia	: Musaceae
Género	: <i>Musa</i>
Especie	: <i>Musa x paradisiaca</i> L. (Inguiri) <i>Musa acuminata</i> (Moquicho)

2.3. Descripción Morfológica y fisiológica de *Musa spp.*

El cultivo de *Musa spp.* corresponde a una planta herbácea y monocotiledónea que desarrolla varios individuos o brotes conocidos comúnmente como madre, hija y nieta. Presenta un sistema radical superficial, con raíces que se extienden de manera radial hasta aproximadamente 30 cm de profundidad. Su estructura subterránea principal es el rizoma, del cual emergen yemas vegetativas provenientes de la planta madre que se expanden lateralmente, dando origen a nuevos rizomas. En el centro del rizoma se localiza la yema apical vegetativa, responsable de generar tanto el sistema aéreo como la inflorescencia.

El pseudotallo sostiene la parte aérea de la planta y cumple una función estructural esencial. La inflorescencia es de tipo hermafrodita, aunque presenta flores masculinas que pueden desprenderse tras la floración. El tamaño y la cantidad de flores femeninas dentro del racimo están determinados principalmente por el genotipo del clon y el estado nutricional de la planta. El fruto se origina a partir de los ovarios de las flores pistiladas, incrementando su volumen mediante la expansión celular, mientras que los tejidos del pericarpio se engrosan progresivamente durante la maduración. Finalmente, la actividad de los canales de látex disminuye conforme el fruto alcanza su madurez fisiológica (Fagiani et al., 2007; Martínez, 2006).

2.4. Características de las variedades

2.4.1. Cultivar Moquicho (*M. acuminata*)

Según Soto (1990), el banano Moquicho se caracteriza por ser una planta de vigor moderado, que puede alcanzar hasta 4 metros de altura. Su pulpa presenta una tonalidad amarilla, textura suave y pastosa, con un sabor muy dulce y aroma intenso. Los racimos son de tamaño reducido, aunque con un alto número de frutos cortos, gruesos y de forma recta. Los frutos maduran con rapidez, y su dulzor característico se atribuye a la presencia del genoma *M. acuminata*.

En contraste, el banano Orito se distingue por su pseudotallo de color amarillo verdoso con manchas castañas oscuras, alcanzando alturas entre 2,5 y 3,7 metros. Sus hojas son estrechas y erectas, y el racimo, de forma cilíndrica y compacta, contiene de 6 a 11 manos con 107 a 286 frutos. El peso promedio del racimo varía entre 26 y 41 libras. El fruto es pequeño, con extremos redondeados, y adquiere un color amarillo limón al madurar. La pulpa mantiene una textura suave y pastosa, con aroma y sabor dulce en la madurez. El ciclo de cultivo comprende entre 8,4 y 9,7 meses, mientras que la vida postcosecha se estima en alrededor de seis semanas.

2.4.2. Cultivar *Musa Inguiri* (*x paradisiaca* L)

Según Belalcázar (1999), esta variedad presenta clones con pseudotallos de coloración variable, que puede ir de verde blanquecino a verde amarillento o verde rosado, frecuentemente salpicados con manchas oscuras. La planta alcanza en promedio 3 metros de altura y posee un diámetro basal de aproximadamente 0,20 metros. Su forma cilíndrica y la disposición ordenada de las manos la asemejan notablemente al banano, con una producción promedio de entre nueve y catorce manos, que agrupan de 80 a 300 frutos. El número de frutos por racimo está influenciado principalmente por la altitud de siembra, siendo mayor en zonas de baja altitud. Este cultivar puede establecerse en una amplia gama de pisos térmicos, comprendidos desde el nivel del mar hasta los 2000 m s. n. m., donde las temperaturas promedio varían entre 19 °C y 29 °C. La duración del ciclo vegetativo aumenta de manera proporcional con la altitud: de 10 a 12 meses a 20 m s. n. m., y hasta 24 meses a 2000 m s. n. m. La fructificación inicia alrededor de los nueve meses, y la cosecha se realiza aproximadamente 3,5 meses después.

2.5. Micropropagación de tejidos in vitro

El cultivo de tejidos vegetales es una técnica biotecnológica que consiste en utilizar una porción de tejido vegetal denominada explante, al cual se le proporcionan condiciones ambientales controladas que permiten expresar su potencial genético, tanto intrínseco como inducido (Roca & Mroginski, 1991). Esta metodología, conocida como propagación in vitro, se realiza en recipientes transparentes y en condiciones de asepsia, utilizando un medio de cultivo balanceado que contiene nutrientes esenciales y reguladores del crecimiento, con el propósito de regenerar órganos, tejidos o plantas completas. Además, constituye una herramienta eficaz de propagación vegetativa, ya que las plantas obtenidas conservan las mismas características genéticas y fenotípicas de la planta madre, generando así clones idénticos, a diferencia de la reproducción sexual donde se originan individuos genéticamente distintos (Cedeño, 2015). El éxito del cultivo de tejidos depende de la capacidad de las células vegetales para multiplicarse y diferenciarse en cualquier tipo de tejido bajo condiciones adecuadas de cultivo (Cubero, 2003).

El cultivo in vitro de tejidos vegetales ofrece múltiples ventajas en comparación con los métodos de propagación convencionales. Entre sus principales beneficios destacan la producción masiva de plantas a partir de un único ejemplar madre, la reducción significativa del tiempo de multiplicación y del espacio físico requerido, así como una disminución de los

costos de propagación. Además, permite mantener un control sanitario riguroso del material vegetal, facilita el transporte de explantes o plántulas entre regiones o países —debido a menores restricciones fitosanitarias— y posibilita la reproducción de especies con poblaciones limitadas o en riesgo (Roca & Mroginski, 1991). De acuerdo con Sandoval et al. (1991), la micropropagación del banano consiste en el cultivo aséptico de ápices caulinares provenientes de hijuelos, en un medio nutritivo artificial suplementado con reguladores de crecimiento, con el propósito de estimular la multiplicación celular y la formación de plantas completas. Este proceso se fundamenta en la totipotencia, es decir, la capacidad genética de una célula vegetal adulta para regenerar un organismo completo mediante mecanismos de diferenciación y desarrollo controlado.

2.6. Etapas de micropropagación in vitro

La micropropagación comprende una secuencia de procesos biotecnológicos que se estructuran en cinco etapas principales. La etapa cero consiste en la selección del material vegetal inicial que servirá como fuente de explante; posteriormente, en la etapa uno o de establecimiento, se genera el cultivo primario bajo condiciones asépticas. En la etapa dos o de multiplicación, el objetivo es obtener el mayor número posible de brotes o plántulas a partir del material inicial. Luego, en la etapa tres o de enraizamiento, las plantas desarrolladas adquieren autotrofia y la capacidad de adaptarse progresivamente a condiciones ex vitro. Finalmente, la etapa cuatro corresponde a la transferencia y aclimatación en campo, donde las plantas son adaptadas al ambiente natural para su crecimiento definitivo (Roca & Mroginski, 1991).

2.6.1. Selección del material vegetal

Uno de los factores clave para el éxito del cultivo in vitro es el origen del explante, el cual debe seleccionarse de acuerdo con los objetivos específicos de la técnica empleada. Entre los aspectos que deben considerarse destacan el origen y las condiciones de crecimiento de la planta madre, ya que las plantas de campo suelen presentar mayores dificultades de desinfección y variabilidad que las plantas cultivadas en invernadero. Asimismo, la edad y el estado fisiológico del material vegetal son determinantes, puesto que los tejidos obtenidos conservan la misma edad biológica de la planta madre, la cual debe encontrarse en óptimas condiciones nutricionales, metabólicas y sanitarias para garantizar explantes viables (Abdelnour & Escalante, 1994). Una vez seleccionada la planta donante adecuada, es fundamental definir el tipo de explante, lo que dependerá del propósito del cultivo y de las características propias de la especie vegetal (George et al., 2008).

2.6.2. Fase de desinfección

Uno de los factores determinantes para el éxito en el establecimiento de cultivos asépticos es la desinfección efectiva de la superficie del explante, ya que la presencia de hongos o bacterias residuales puede comprometer el cultivo al competir por los nutrientes del medio, aprovechando su rápida tasa de multiplicación y crecimiento. Para este proceso se utilizan diversos agentes desinfectantes, entre los cuales destacan el alcohol al 70% y el hipoclorito de sodio en concentraciones de 1 a 3%, proveniente del cloro comercial. En menor medida, también se emplean hipoclorito de calcio y cloruro de mercurio, aunque este último presenta alta toxicidad y difícil eliminación de la superficie vegetal (Roca & Mroginski, 1991).

En el caso del cultivo *in vitro* de plátano, la fase de desinfección resulta fundamental para eliminar contaminantes microbianos presentes en los explantes, los cuales se obtienen de plantas madre sanas. El uso adecuado de hipoclorito de sodio o alcohol permite reducir la carga microbiana superficial y minimizar el riesgo de contaminación, asegurando un establecimiento exitoso del cultivo y permitiendo posteriormente su transferencia a medios de multiplicación apropiados (Ramírez et al., 2018).

2.6.3. Aplicación de hormonas de crecimiento

Una vez definido el objetivo del cultivo *in vitro*, resulta fundamental seleccionar un medio de cultivo adecuado que contenga todos los elementos esenciales para inducir la respuesta morfogénica deseada. Además de su composición, la preparación correcta del medio es determinante para garantizar la viabilidad del cultivo (Roca & Mroginski, 1991).

El material vegetal solo puede desarrollarse en un medio que le provea los nutrientes indispensables, los cuales suelen incluir sales minerales que aportan macro y micronutrientes, complementadas con vitaminas, aminoácidos, reguladores de crecimiento y una fuente de carbono que sustente el metabolismo celular (George et al., 2008). Entre los reguladores de crecimiento más utilizados destacan las auxinas como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), el ácido naftalenacético (ANA), el ácido indolacético (AIA) y el ácido indolbutírico (AIB), las citoquininas, entre ellas la kinetina (KIN), la 6-N-Bencilaminopurina (BAP) y la zeatina (ZEA), además de las giberelinas, representadas principalmente por el ácido giberélico (AG_3). Estas hormonas pueden emplearse individualmente o en combinación, manteniendo un equilibrio hormonal acorde con el objetivo del cultivo. Asimismo, algunos medios incluyen aditivos orgánicos como agua de coco, extracto de levadura, extracto de papa, glicina o cisteína, que funcionan como fuentes suplementarias de nitrógeno y compuestos orgánicos esenciales (Roca & Mroginski, 1991).

2.6.4. Fase de establecimiento

Una vez obtenido el material vegetal desinfectado y preparados los medios de cultivo estériles, se procede con la etapa de establecimiento, en la cual los explantes se introducen cuidadosamente en el medio bajo condiciones de asepsia total, utilizando cabinas de flujo laminar que minimizan el riesgo de contaminación tanto del tejido como del medio (Roca & Mroginski, 1991).

En el caso específico del cultivo in vitro de plátano, esta fase antecede a la etapa de multiplicación y consiste en colocar explantes previamente desinfectados en un medio nutritivo estéril suplementado con hormonas vegetales que promueven su adaptación, enraizamiento y supervivencia inicial. Los cultivos se mantienen en ambientes controlados de temperatura, humedad y luminosidad para favorecer el establecimiento y desarrollo temprano de los tejidos, asegurando que el material vegetal se mantenga libre de patógenos y fisiológicamente estable antes de ser transferido a la fase de multiplicación (Ramírez et al., 2019).

2.6.5. Fase de multiplicación

Una vez superada con éxito la fase de establecimiento y comprobada la respuesta positiva del explante frente a los componentes del medio de cultivo y a las condiciones de incubación, se inicia la formación de nuevos tejidos en la superficie del explante. Estos tejidos pueden separarse y transferirse a medios frescos, donde continúan su desarrollo, lo que permite alcanzar una multiplicación de tipo exponencial. En términos generales, se recomienda emplear medios de cultivo diferenciados para las etapas de establecimiento y multiplicación, con el propósito de favorecer una organización celular óptima y maximizar la eficiencia del proceso (Cubero, 2003).

La fase de multiplicación en el cultivo in vitro de plátano constituye una etapa clave en la que los explantes previamente desinfectados y establecidos se cultivan en medios específicos bajo condiciones controladas para favorecer su crecimiento y división celular activa. Durante este proceso, los explantes presentan una proliferación intensa, generando nuevos brotes que incrementan exponencialmente el número de plantas disponibles. Para inducir esta respuesta, se emplean reguladores de crecimiento, principalmente citoquininas, que estimulan la formación y elongación de brotes. Además, es esencial mantener una nutrición adecuada y un ambiente controlado de temperatura e iluminación, factores que garantizan el desarrollo óptimo de los tejidos y la obtención de plántulas vigorosas listas para su aclimatación y posterior transferencia al campo (Rebolledo et al., 2016).

2.6.6. Fase de enraizamiento

Tras la fase de multiplicación, se procede a la etapa de enraizamiento de los brotes obtenidos *in vitro*, la cual generalmente requiere su transferencia a un nuevo medio de cultivo. Este medio suele modificarse con el fin de estimular la formación del sistema radicular, realizando ajustes como la reducción de la concentración de sales minerales, el ajuste del balance hormonal hacia una mayor proporción de auxinas exógenas, la eliminación o disminución de citoquininas y, en algunos casos, la reducción de la fuente de carbono. Estas modificaciones permiten favorecer la diferenciación radicular y preparar las plantas para su posterior adaptación *ex vitro* (Roca & Mroginski, 1991).

2.6.7. Aclimatación de las plántulas enraizadas

Esta constituye una de las etapas más críticas del proceso de micropropagación, ya que de su éxito depende la supervivencia y adaptación definitiva del material vegetal. Una vez que las plántulas desarrollan un sistema radicular funcional y vigoroso, son transferidas al invernadero, donde deben enfrentarse a condiciones ambientales menos controladas y, por tanto, a diversos factores de estrés abiótico. Durante esta fase, las plantas presentan limitaciones fisiológicas debido a que se formaron en ambientes de alta humedad relativa, lo cual provoca que sus estomas sean parcial o totalmente disfuncionales, reduciendo temporalmente su capacidad de transpiración y adaptación (Castillo, 2004).

2.7. Estado de arte de micropropagación *in vitro*

Diversas investigaciones han abordado el estudio de la micropropagación en plátano y otras especies vegetales, aplicando diferentes metodologías y formulaciones de medios de cultivo.

Miraval (2017) evaluó el desarrollo *in vitro* de yemas florales empleando los medios de Murashige y Skoog (MS) y agar con agua, adicionados con distintas concentraciones de 6-N-Bencilaminopurina (BAP). El tratamiento con 3,0 mg/L de BAP en la variedad *Inguiri* presentó el menor porcentaje de mortalidad (16,05%), mientras que la variedad *Manzano* registró un 38,27%, demostrando que la respuesta varía según el genotipo. Por su parte, Florio y Mogollón (2011) analizaron el efecto de dos citocininas —BAP e isopenteniladenina (2iP)— en concentraciones de 2,5; 5,0 y 10,0 mg/L, así como dos estados físicos del medio (líquido en agitación y semisólido), en la multiplicación del plátano ‘Hartón Gigante’ (*Musa AAB*). Los resultados mostraron que la BAP a 5 mg/L en medio líquido favoreció significativamente la formación y elongación de brotes (8,93 y 4,10 cm, respectivamente), confirmando la eficiencia del medio líquido para protocolos de multiplicación más productivos.

De igual manera, Osorio (2019) enfocó su investigación en la optimización de protocolos de micropropagación frente a la creciente demanda de plantas libres de patógenos. Evaluó dos procedimientos de termoterapia —uno en baño maría y otro en horno—, obteniendo 0% de contaminación con el tratamiento a 33 °C por 15 minutos, mientras que el uso de horno generó 100% de contaminación. Los mejores resultados en cuanto a meristemos apicales asépticos se alcanzaron a 55 °C por 10 minutos, 35 °C por 10 minutos y 33 °C por 15 minutos. En la fase de establecimiento, la combinación de 4 mg/L de BAP y 0,2 mg/L de AIA produjo el mayor número de brotes viables al día 68.

Por otro lado, Rodríguez et al. (2004) trabajaron con la propagación in vitro de plátano utilizando el medio comercial VitroCen PLML (líquido y sólido), observando un comportamiento similar al medio MS sin hormonas, lo que sugiere su viabilidad como alternativa práctica y segura, al ofrecer precisión y facilidad en la preparación. Asimismo, Hoyos et al. (2008) analizaron el efecto de la concentración hormonal sobre la formación de brotes en plátano Dominico Hartón (*Musa AAB Simmonds*), aplicando un diseño completamente al azar con diez tratamientos. Se evaluaron combinaciones de BAP y AIA en un arreglo factorial 3×3 (0,01; 0,5 y 5 mg/L), obteniendo diferencias altamente significativas ($p < 0,01$). Las mejores respuestas correspondieron a las combinaciones de 5 mg/L de BAP con 0,5 mg/L o 0,01 mg/L de AIA, mientras que concentraciones intermedias de AIA (0,2–0,3 mg/L) también promovieron una alta tasa de brotación.

En una revisión teórica, Valle (2021) destacó la relevancia de los reguladores de crecimiento en la multiplicación in vitro de plátano (*Musa × paradisiaca L.*), concluyendo que las citoquininas, especialmente la BAP, son esenciales para inducir múltiples brotes por explante, con dosis óptimas que oscilan entre 3 y 5 mg/L, dependiendo del genotipo. Finalmente, en otro estudio, Valle (2021) evaluó en la UNACH el efecto combinado de BAP, AIA y brasinoesteroide en el cultivo in vitro del banano ‘Gran Enano’, observando que el medio MS al 50% suplementado con AIA y brasinoesteroide favoreció la formación de raíces, mientras que la combinación de BAP y brasinoesteroide incrementó el número de hojas, aunque la presencia de AIA en exceso redujo este crecimiento.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se ejecutó en el Laboratorio de Biotecnología y Diversidad Molecular de la Facultad de Agronomía, que está ubicado en la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicada en el km 1,21 carretera Tingo María – Huánuco del distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, cuyas coordenadas son: Longitud: 8970048.3926 N; Latitud Sur: 390514,9524 E; Altitud: 673 msnm.

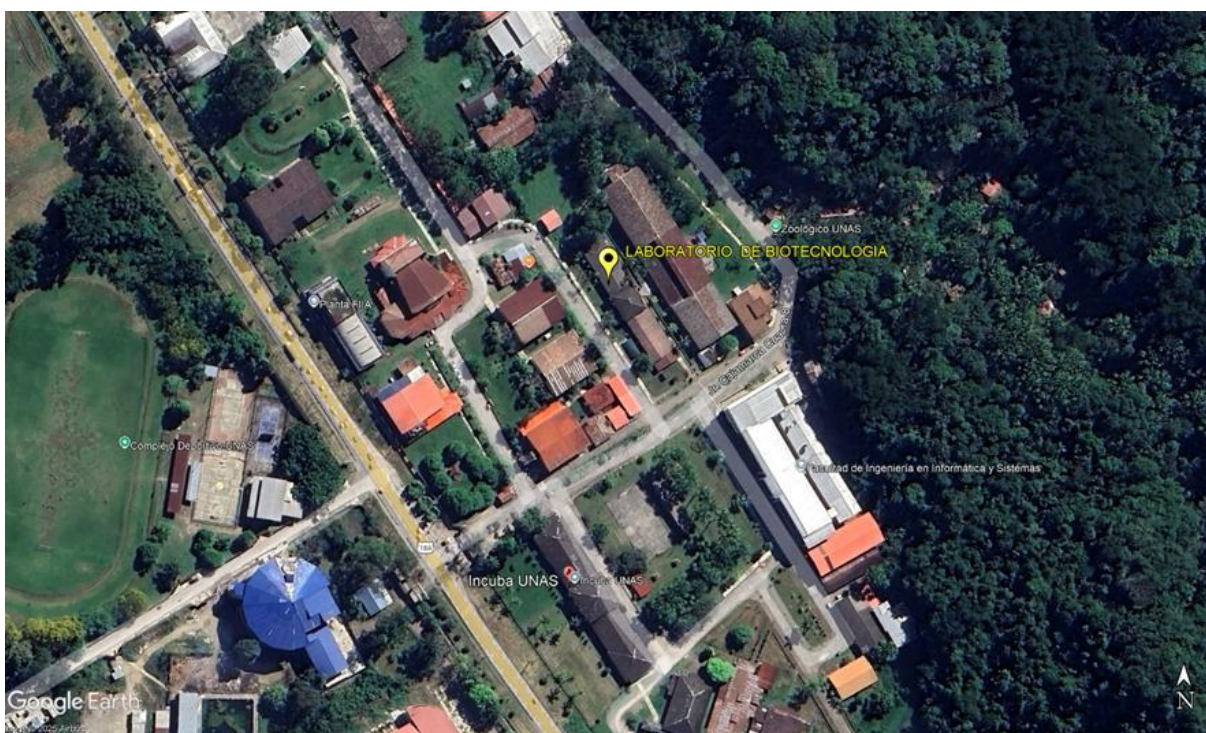


Figura 1. Imagen satelital de la ubicación del área experimental

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Materiales de laboratorio

Se utilizaron hojas de bistrú n°10, pinza, mechero de alcohol, cuadernillo de apuntes, frascos de vidrio, placa petri, guantes, cinta de sellado Parafilm, marcadores de vidrio, gradillas inclinadas, tubos de ensayo (25x150 mm), tapas de tubos (25 mm diámetro), botellas de replante, pipetas Pasteur, papel aluminio, filtros y algodón.

3.2.2. Equipos

Se utilizó una cámara de flujo laminar, balanza analítica, agitador, destilador de agua, refrigerador y autoclave.

3.2.3. Reactivos

Agentes desinfectantes: Alcohol 70, hipoclorito de sodio; fungicidas (Benomyl) y antibióticos (Ceftriaxona), macronutrientes, micronutrientes, Fe-EDTA, mioinositol, ácido nicotínico, piridoxina, tiamina, glicina, sacarosa, agar.

3.2.4. Material experimental

En esta investigación se utilizó un solo medio de cultivo Murashige & Skoog (1962), además de tres concentraciones de BAP, y yemas apicales vegetativas de *Musa* spp. cv. Moquicho y cv. Inguiri.

3.3. Componentes en estudio

Los componentes en estudio fueron los siguientes:

3.3.1. Factor A: Concentración de BAP

a ₁	: (0 mg L ⁻¹) Muestra control
a ₂	: 1,5 mg L ⁻¹
a ₃	: 3,0 mg L ⁻¹
a ₄	: 6,0 mg L ⁻¹

3.3.2. Factor B: Cultivares de plátano/banano (Yema apical)

b ₁	: cv. Moquicho
b ₂	: cv. Inguiri

3.4. Metodología

3.4.1. Obtención del material vegetativo

Se identificaron y seleccionaron las plantas madre en el campo siendo fumigados con benomyl para evitar la presencia de hongos. Luego, se extrajeron los hijuelos con una palana previamente desinfectado, se seleccionaron los hijuelos de tamaños uniformes y se lavaron con agua. Posteriormente, en una bolsa plástica se realizó el transporte de los hijuelos al invernadero de la Facultad de Agronomía. Finalmente, en el invernadero, los hijuelos se fumigaron con fungicida Benomyl al 0.2% durante una semana.

3.4.2. Extracción de la yema apical

En el invernadero, se redujo el tamaño de todos los hijuelos en la base de 2,5 cm de diámetro y de 4 a 5 cm de altura (ubicando la yema apical), para luego ser llevados al laboratorio donde se lavaron con agua y detergente, luego se dejó remojando por 1-2 horas en solución con Fungicida Benomyl 0,2 %.

3.4.3. Esterilización de materiales y el medio

Posteriormente, se enjuagó con agua destilada la superficie de los hijuelos cortados, y se llevó a la cámara de flujo laminar, donde se realizó la desinfección de la manera siguiente: sumergir completamente en 2 minutos con alcohol de 70°, luego sumergió 15 minutos con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1-3%, y finalmente remojó tres veces con agua destilada estéril durante 3 minutos cada enjuague

3.4.4. Preparación del medio de cultivo

Para la preparación del medio Murashige y Skoog (MS) se utiliza la formulación estándar, en la Tabla 1 se muestran los reactivos y volúmenes utilizados en la preparación del medio de cultivo para 1 litro. También se usó un regulador de crecimiento que es el 6-N-Bencil Amino Purina (BAP).

Tabla 1. Componentes y volúmenes para la preparación de medio de cultivo MS.

Componentes	Stock	1000 ml
Macronutrientes	20x	50 ml
Micronutrientes	200x	5 ml
Fe-EDTA	100x	1 ml
Mioinositol	20 g/L	5 ml
Ácido Nicotínico	0,5 g/L	1 ml
Piridoxina	0,5 g/L	1 ml
Tiamina	0,5 g/L	0,2 ml
Glicina	500 mg/L	4 ml
Sacarosa	30 g/L	30 g
Agar	15 g/L	15 g
pH	-	5,4 – 5,8

3.4.5. Preparación y siembra in vitro de las yemas apicales

En la cámara de flujo laminar, se secó el explante con papel filtro o papel común estéril, y se removió las partes desinfectadas mediante cortes sucesivos con pinzas esterilizadas y bisturíes para obtener la yema apical meristemático.

Luego se sembró las yemas apicales meristemáticos en tubos de ensayos con los tratamientos y las repeticiones necesarias. Finalmente, se llevó los tubos de ensayo con los tratamientos en gradillas a la sala de incubación.

Una vez introducidos, los explantes fueron colocados en medio de germinación para dar las condiciones adecuadas, para el desarrollo de la yema apical con el tejido meristemático, para esta etapa se incubó inicialmente en la oscuridad por ocho días y luego por cuatro semanas en condiciones de fotoperiodo de 12 horas con luz blanca, hasta obtener brotes de 1 cm de longitud aproximadamente. En el proceso de incubación, el cuidado adecuado de la yema apical de estas plantas es importante, se utilizaron guantes, alcohol, mascarillas y el utensilio necesario para cumplir la asepsia que la circunstancia demanda permitirá lograr el éxito del cultivo de éstas.

3.4.6. Rescate in vitro de las yemas apicales

Una vez introducidos, los explantes que presentaron signos de contaminación bacteriana y/o fúngica fueron rescatadas mediante su repique (trasplante) a frascos nuevos con el mismo medio de cultivo estéril. Para ello, se preparó con anticipación una mayor cantidad de frascos con el medio correspondiente a cada tratamiento. En una cámara de flujo laminar, se preparó una solución de lejía al 1% con agua destilada estéril en frascos también estériles, considerando que cada tratamiento debe mantenerse separado en frascos distintos. Posteriormente, los frascos fueron rotulados con su código de tratamiento y fecha, y las yemas contaminadas con hongos y bacterias se sumergieron en la solución de lejía durante 5 minutos. Luego, se eliminó la lejía y se enjuagó tres veces con agua destilada estéril, asegurando que cada enjuague dure al menos tres minutos. Finalmente, las yemas fueron repicadas en el medio de cultivo correspondiente para su recuperación.

3.5. Diseño experimental

El diseño experimental de esta tesis fue un DCA con arreglo factorial 2 x 4, empleando 15 repeticiones por tratamiento, en total 120 unidades experimentales. Las características evaluadas fueron sometidas al análisis de modelo lineal mixto y un modelo lineal generalizado.

3.5.1. Comprobación de la distribución normal

Para determinar los requisitos del Análisis de variancia paramétrico, se realizó una prueba de Shapiro-Wilks para comprobar si los datos de la variable cuantitativa (longitud de brotes) siguen una distribución normal.

3.5.2. Modelo lineal mixto

Debido a la gran cantidad de datos perdidos y a las medidas repetidas, se optó por realizar un análisis de modelos mixtos, donde los factores fijos son BAP y cultivares e incluir factores aleatorios. La fórmula fue la siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \text{factor aleatorio} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Es la capacidad de prendimiento del meristemo de la yema apical obtenida en la k -ésima repetición a la cual se aplicó la i -ésima concentración de BAP en el j -ésimo cultivar de plátano/banano

• μ = Es el efecto de la media general

• Los factores de efectos fijos generalmente se consideran variables cuyos valores de interés se representan con los variables independientes y su interacción:

α_i = Efecto de la i -ésima concentración de BAP

β_j = Efecto de j -ésimo cultivar de plátano/banano

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre la i -ésima concentración de BAP y el j -ésimo cultivar de plátano/banano

• Factor aleatorio: los factores de efectos aleatorios son variables cuyos valores en el archivo de datos se pueden considerar una muestra aleatoria de una población mayor de valores. Son útiles para explicar el exceso de variabilidad en la variable dependiente.

• ϵ_{ijk} = Efecto aleatorio del error experimental obtenido en la k -ésima repetición a la cual se aplicó la i -ésima concentración de BAP y el j -ésimo cultivar de plátano/banano

Para:

- $i = 1, 2, 3, 4$ concentraciones de BAP
- $j = 1, 2$, cultivares de plátano/banano
- $k = 1, 2, \dots, 15$ repeticiones o unidades experimentales

3.5.3. Modelo lineal generalizado

Un Modelo Lineal Generalizado es una extensión de la regresión lineal que permite analizar variables de respuesta que no son continuas, como conteos o proporciones, al incorporar una función de enlace que relaciona la media de la variable dependiente con una combinación lineal de los predictores. En el caso de la regresión de Poisson, utilizada para modelar datos de conteo, se asume que la variable dependiente sigue una distribución de Poisson con media λ , y se emplea una función de enlace logarítmica:

$$\text{Log}(\lambda) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k.$$

Esto garantiza que la media esperada sea siempre positiva. Los coeficientes estimados indican el efecto de cada predictor sobre el logaritmo del conteo esperado, y su exponencial permite interpretarlos como factores de cambio relativo; por

ejemplo, un coeficiente de 0.5 implica un aumento aproximado del 65% en el conteo esperado por cada unidad adicional del predictor.

3.6. Evaluación de los tratamientos

La evaluación de los tratamientos se realizó semanalmente por 3 meses consecutivos, teniendo en total 12 evaluaciones.

3.6.1. Números de brotes

Se determinó por medio de conteo visual, considerado los que presentan tamaños de >3 mm.

3.6.2. Longitud de brotes

Se identificó de forma visual el brote de mayor longitud, el cual se midió con un vernier en milímetros (mm). La medición de la yema apical se realizó a través del tubo de ensayo desde la base de esta hasta el extremo superior de la yema apical de esta manera determinaremos la ganancia de longitud de brotes obtenida desde la primera medición y restando la longitud original de los brotes.

3.6.3. Número de hojas

Se realizó el conteo en forma visual, tomando en consideración aquellas que posean todas las estructuras propias de una hoja, de esta manera los conteos se realizaron a través de los tubos de ensayo ya que no se podía extraer el explante del medio de cultivo.

3.6.4. Número de raíces

Se contabilizó de forma visual tanto las raíces externas como las sumergidas en el medio de cultivo.

3.6.5. Longitud de raíces

Se identificó de forma visual la raíz con mayor longitud, se midió con un vernier en milímetros (mm).

3.6.6. Mortalidad

Se evaluó la sobrevivencia del explante y se contabilizó como porcentaje por tratamiento.

3.7. Tratamiento en estudio

Los tratamientos en estudio se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos con dos factores (BAP y cultivar)

Tratamiento	Clave	Descripción	Repeticiones
T ₁	a ₁ b ₁	0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Moquicho (Muestra control)	15
T ₂	a ₁ b ₂	0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Inguiri (Muestra control)	15
T ₃	a ₂ b ₁	1,5 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Moquicho	15
T ₄	a ₂ b ₂	1,5 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Inguiri	15
T ₅	a ₃ b ₁	3,0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Moquicho	15
T ₆	a ₃ b ₂	3,0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Inguiri	15
T ₇	a ₄ b ₁	6,0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Moquicho	15
T ₈	a ₄ b ₂	6,0 mg L ⁻¹ BAP en el cv. Inguiri	15

3.8. Características del espacio experimental

Del espacio experimental usado en el laboratorio

- Diseño experimental: DCA
- Repeticiones: quince
- Tratamientos. ocho
- Número total de unidades experimentales: 120
- Ancho: 150 cm
- Largo: 40 cm
- Área total del experimento: 6000 cm²

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Número de brotes

Durante el desarrollo de esta investigación, se observó que todos los tratamientos con BAP resultaron en la formación de un único brote latente por explante (Figura 1), independientemente de la concentración de citoquinina aplicada.



Figura 2. Tubos con yemas apicales de *Musa* spp. muestran un solo brote, fenolización (color oscuro) y contaminación.

Este resultado indica que las distintas dosis de BAP no fueron suficientes para inducir una proliferación significativa de brotes en los cultivares de *Musa* evaluados. En cuanto a los resultados obtenidos, aunque se observó una alta mortalidad de explantes (por fenolización y contaminación), el BAP mostró cierta capacidad de inducir brotación. Esto coincide con lo señalado por Waman et al. (2014), quienes afirman que las citoquininas son fundamentales para la proliferación de brotes y el desarrollo de plántulas en medios líquidos y semisólidos. Asimismo, diversos estudios han demostrado la eficacia del BAP en banano (Peres de Oliveira et al., 2008; Jambhale et al., 2001). Sin embargo, también se ha reportado que otros reguladores como el tidiazuron (TDZ) pueden inducir un mayor número de brotes por explante (Bairu et al., 2008), lo que sugiere que la elección del regulador de crecimiento puede ser clave para optimizar la respuesta morfogénica en cultivos de *Musa* spp. Otra posible explicación para

esta respuesta limitada podría estar relacionada con la ausencia de auxinas en el medio de cultivo, ya que estas hormonas desempeñan un papel fundamental en el equilibrio hormonal necesario para estimular la morfogénesis.

Las citoquininas, como el BAP, promueven la división celular y la inducción de brotes; sin embargo, su efectividad suele depender de la interacción con auxinas como el ANA o el AIA, las cuales favorecen la elongación y diferenciación celular. En ausencia de dicho equilibrio hormonal, es común observar la emisión de brotes únicos, sin formación de estructuras adicionales como callos o raíces. En este sentido, diversos estudios han demostrado que la combinación de citoquininas y auxinas potencia el desarrollo morfogénico en explantes de banano (*Musa spp.*)

Otro factor limitante observado fue la presencia de contaminación bacteriana, la cual afectó negativamente el establecimiento y crecimiento de los explantes, llegando incluso a provocar su necrosis en algunos casos. Esta contaminación puede estar relacionada tanto con las condiciones del laboratorio como con la carga microbiológica del material vegetal, como ha sido reportado por Van de Houwe (1998) y Thomas (2004).

Por contraste, estudios previos han reportado resultados más prometedores bajo condiciones de cultivo optimizadas. Por ejemplo, Colmenares y Giménez (2003) lograron entre 8,4 y 11,2 brotes por explante utilizando un sistema de inmersión temporal (SIT), lo cual destaca la relevancia de protocolos ajustados y una suplementación hormonal adecuada.

López et al. (2021) también evidenciaron que la eficacia de las citoquininas, como el BAP, está influenciada no solo por su concentración, sino también por la interacción entre las hormonas endógenas del tejido y los reguladores de crecimiento exógenos presentes en el medio, como se discutió anteriormente por Huang y Murashige (1997) y Zaffari (2000). Este equilibrio hormonal es determinante para dirigir el desarrollo hacia la formación de brotes, callos, raíces o combinaciones de ellos. En algunos casos, las concentraciones de BAP utilizadas pueden no ser suficientes para superar la dominancia apical o inducir otras respuestas como la callogénesis, lo cual podría haber ocurrido en esta investigación.

Investigaciones como las de Herrera et al. (2017) mostraron que el incremento de BAP a 4 mg/L promovió significativamente la emisión de brotes. Gálvez y Elizabeth (2021) también obtuvieron buenos resultados con 4 mg/L de BAP en *Musa paradisiaca* L. Otros trabajos recomiendan concentraciones entre 3 y 5 mg/L para cultivar bananos como 'Cavendish' (Hardy y García, 1994), o incluso hasta 5 mg/L en medios líquidos con agitación constante (Arinaitwe et al., 2000), dependiendo del cultivar. En general, las concentraciones óptimas para citoquininas como el BAP se sitúan entre 4 y 6 mg/L, aunque su efectividad

también puede estar influenciada por el genotipo del explante (Jambhale et al., 2001; Peres de Oliveira et al., 2008; Valle, 2021).

Por otra parte, aunque se reconoce que las citoquininas como el BAP y el TDZ reducen la dominancia apical y estimulan la formación de brotes axilares o adventicios, dosis excesivas pueden tener efectos negativos, como el retraso en la elongación o el crecimiento de los meristemas apicales (Herrera et al., 2015; Manjula et al., 2015).

4.2. Longitud de brotes

La curva de distribución de los datos (Figura 26) muestra que los datos no siguen una distribución normal, corroborado también con la prueba de Shapiro Wilks la cual mostro un p-valor de $9.132e-06$, siendo este menor a 0.05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula, la cual sostiene que los datos siguen una distribución normal. En este sentido, se aplicará una prueba modelo lineal mixto. Una razón adicional para usar este modelo es que los tratamientos tuvieron mucha mortandad y por lo tanto no tuvieron la misma cantidad de repeticiones. El modelo lineal mixto permite analizar datos desbalanceados y, además, permite analizar medidas repetidas, que es el caso de esta tesis.

En la Tabla 3 se observan los efectos fijos e interacciones entre los factores, por cada tratamiento, y se muestra que los efectos (BAP 0, BAP 1.5, BAP 3) no fueron estadísticamente significativos (valor $t < |2|$), lo que sugiere que esos tratamientos no producen diferencias consistentes en el incremento de la longitud del brote. En cambio, el clon Inguiri responde fuerte y positivamente a BAP 6 ($t = 2.238$), por otro lado, Moquicho no solo no mejora, sino que el brote se reduce respecto al esperado con BAP 6 ($t = -2.04$). Esto último se podría explicar ya que el Moquicho es una cultivar rustico que podría tener ya un balance hormonal en sus yemas apicales, y es posible que el incremento del BAP genere el efecto contrario.

En el caso de los efectos aleatorios, es decir, la variación no explicada por los factores fijos (BAP y cultivar) que pueden ser factores externos no contemplados en el experimento, por ejemplo, la edad de los hijuelos, la fenolización, la contaminación, entre otros. En la Tabla 4, con un total de 607 observaciones (de 12 evaluaciones), la varianza entre sujetos fue de 15.18. la varianza residual fue de 10740.42 y la desviación estándar residual fue muy alta (103.6), lo que indica que la mayor parte de la variación no se explica por los factores fijos (BAP y cultivar), sino que se debe a variación individual o ruido experimental.

Tabla 3. Efectos fijos de los factores BAP y cultivar para la variable de longitud de brote.

Tratamientos	Efecto	Estimado	Error estándar	valor t	Significancia
T ₁	Inguiri: BAP0	13.234	12.19	1.086	NS
T ₂	Moquicho: BAP0	13.973	15.122	0.924	NS
T ₃	Moquicho: BAP1.5	-5.194	23.224	-0.224	NS
T ₄	Inguiri: BAP1.5	-1.13	19.031	-0.059	NS
T ₅	Moquicho: BAP3	-12.585	25.93	-0.485	NS
T ₆	Inguiri: BAP3	-2.634	20.921	-0.126	NS
T ₇	Moquicho: BAP6	-49.731	24.379	-2.04	*
T ₈	Inguiri: BAP6	36.628	16.367	2.238	*

Tabla 4. Variancia y desviación estándar por sujetos y residuos

Grupos	Variancia	Desviación estándar
Sujetos	15.18	3.896
Residuos	10740.42	103.636

En conclusión, el modelo lineal mixto sugiere que el cultivar Inguiri tiene una respuesta positiva significativa al tratamiento con BAP 6, mientras que Moquicho no responde favorablemente a esta dosis. Sin embargo, existe una alta variabilidad entre muestras, lo que limita la capacidad del modelo para detectar diferencias pequeñas entre otros tratamientos.

En la Tabla 5 y la Figura 2, se evaluó la longitud de brote en dos cultivares, Inguiri y Moquicho, expuestos a cuatro concentraciones de BAP (0, 1.5, 3 y 6 mg/L). Los resultados indican que Moquicho presentó el brote más largo (27.2 mm) en ausencia de BAP (T₁), mientras que Inguiri mostró una fuerte respuesta a la concentración más alta (6 mg/L), alcanzando una media de 49.8 mm (T₈), aunque con una desviación estándar considerablemente alta (270 mm), lo que evidencia una gran variabilidad en su respuesta. En términos generales, Moquicho desarrolló brotes más largos con concentraciones bajas de BAP, pero su crecimiento no se incrementó con dosis elevadas.

Tabla 5. Longitud de brote, ordenados de mayor a menor longitud promedio por tratamiento en el cual también se muestra la desviación estándar.

Tratamiento	Cultivar	BAP	n	Promedio (mm)	Desviación estándar	CV
T ₈	Inguiri	6	89	49.8	270	45.18
T ₁	Moquicho	0	132	27.2	9.33	34.30
T ₃	Moquicho	1.5	112	20.9	12.8	61.24
T ₇	Moquicho	6	44	13.9	7.96	57.27
T ₂	Inguiri	0	73	13.1	5.36	40.91
T ₅	Moquicho	3	70	11.9	4.91	41.26
T ₄	Inguiri	1.5	50	11.8	5.04	42.71
T ₆	Inguiri	3	37	10.4	4.09	39.33

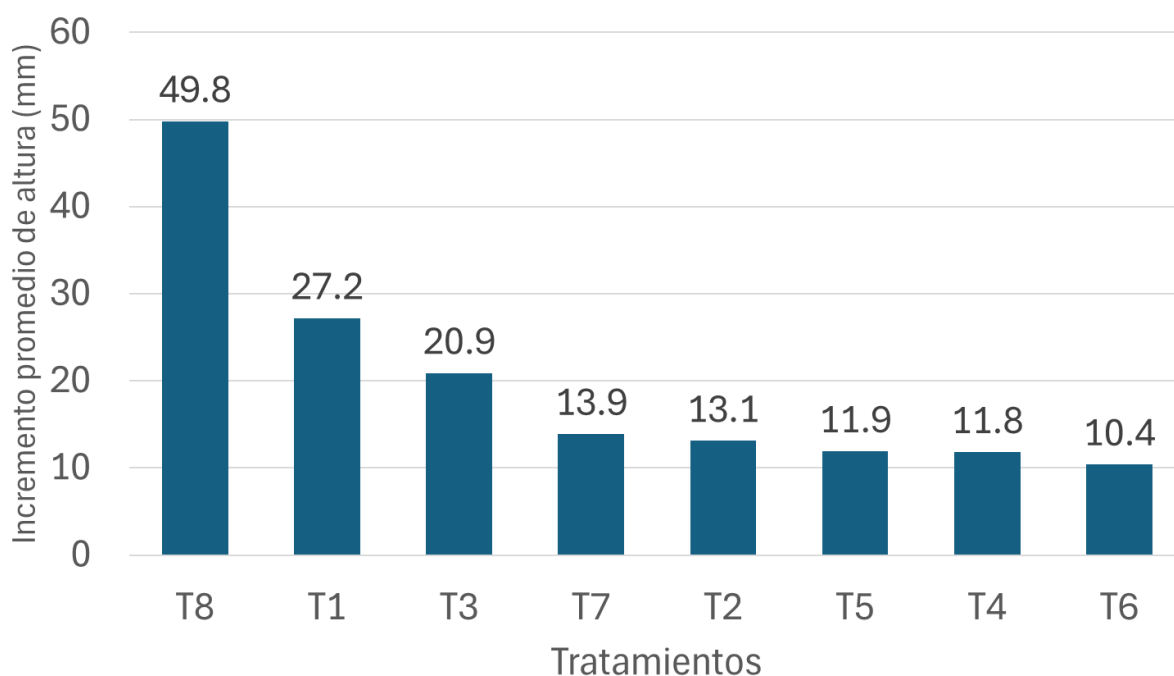


Figura 3. Promedios de altura de brotes de los tratamientos.

En comparación, los resultados obtenidos con el tratamiento 8 con 6 mg/L de BAP en Inguiri mostraron una longitud de 49,8 mm, lo que fue comparativamente similar que las longitudes reportadas por Florio y Mogollón (2011) obteniendo longitudes de brotes de 41 mm en la variedad Harton gigante con 5 mg/L de BAP en medio líquido. Por otro lado, estos autores consiguieron un número de brotes de 8.93 en esas mismas condiciones.

4.3. Número de hojas

El modelo lineal generalizado (GLM) es una generalización de la regresión lineal que permite modelar variables de respuesta que no necesariamente siguen una distribución normal. A diferencia de la regresión lineal, los GLMs pueden manejar una amplia variedad de distribuciones de respuesta, como binomial, Poisson, gamma, entre otras. Este modelo evalúa cómo varía el número de hojas según el cultivar (por ejemplo, *Inguiri* vs. *Moquicho*), las dosis de BAP (probablemente un regulador de crecimiento), y si hay un efecto combinado entre ambos factores (interacción). La fórmula del modelo es:

$$\text{GLM (N_hojas} \sim \text{cultivar} * \text{BAP, family} = \text{poisson, data} = \text{D)}$$

Esto significa que estamos usando una regresión Poisson porque el número de hojas es un conteo, y evaluamos los efectos del cultivar, la dosis de BAP y la interacción entre ambos.

Tabla 6. Resultados del modelo lineal generalizado con la interpretación de los coeficientes en escala logarítmica (regresión Poisson) para el número de hojas.

Coeficiente	Valor	Interpretación
Inguiri BAP 0	-0.2	Valor promedio (log) de N_hojas para el clon de referencia (e.g., <i>Inguiri</i>) con BAP = 0.
Inguiri: Moquicho	0.9	El <i>Moquicho</i> tiende a producir más hojas que <i>Inguiri</i> (efecto positivo).
Factor BAP	0.1	Aumentar la dosis de BAP está asociado con un ligero aumento en el número de hojas.
Moquicho:BAP	-0.2	La interacción es negativa: el efecto positivo de BAP es menor en el <i>Moquicho</i> que en <i>Inguiri</i> .

Para interpretarlos en valores más intuitivos, se puede hacer la transformación exponencial: Por ejemplo, $\exp(0.9205) \approx 2.51 \rightarrow$ *Moquicho* produce alrededor de 2.5 veces más hojas que *Inguiri* con BAP = 0. El análisis de variancia (ANVA) a partir del modelo lineal generalizado (Poisson.) no se puede usar directamente la prueba F como en los modelos lineales clásicos, porque las distribuciones de error no son normales. En cambio, se utiliza una prueba de razón de verosimilitud, que sigue una distribución chi-cuadrado bajo ciertas condiciones. En

la Tabla 7 se muestra el resultado del ANVA tipo chi cuadrado para los factores principales y la interacción.

Tabla 7. Análisis de variancia tipo de chi cuadrado ($\alpha = 0.05$) para el numero de hojas con el modelo lineal generalizado, regresión Poisson.

	Grados de libertad	Desviación residual	P (>Chi)	Significancia
Factor cultivar	144	64.61	0.3439	NS
Factor BAP	143	63.575	0.309	NS
Interacción cultivar * BAP	142	61.615	0.1616	NS

4.4. Número y longitud de raíces

Durante el período de 12 semanas, los explantes evaluados no mostraron viabilidad ni indicios de proliferación de raíces ni tampoco enraizamiento en ninguno de los tratamientos aplicados. La ausencia de rizogénesis en estos explantes podría atribuirse a la falta de auxinas que ayuden a complementar para obtener una reacción positiva, ya que una mayor concentración de auxinas versus citoquininas promueve la rizogénesis (Flores et al. 2009). Tal como Medina et al. (2015) indicaron en sus resultados con *Musa acuminata* (Simmunds) destacando que la combinación de 6-N-Bencil amino purina (6-BAP) y ácido naftalenacético (ANA) produjeron raíces vigorosas que permiten el trasplante a suelo.

De igual forma, se mostraron efectos positivos en el enraizamiento de explantes de *Musa AAB* cv. Enano usando concentraciones de sacarosa entre 30 g L⁻¹ y 60 g L⁻¹ con 1 y 2 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA) (Caldera y López 2002) y enraizamiento de explantes de *Musa spp.* AAB clon Sobrino con AIA 1.3 mg.L⁻¹ (Héctor et al. 2007). Esto indica que para obtener el enraizamiento de explantes, el uso de citoquininas y sacarosa debe ser controlado, como también las auxinas son cruciales para la inducción de raíces y su ausencia pueden inhibir este proceso. También se demostró que utilizar altas concentraciones de citoquininas afectaron negativamente el enraizamiento (Wijerathna y Kumarihami et al., 2016); tal como Bermúdez et al. (2019), demostraron que altas concentraciones de tidiazuron (TDZ) perjudicaron el desarrollo de los explantes durante el proceso de enraizamiento.

La obtención de raíces es una fase crucial en el cultivo de tejidos vegetales, ya que asegura el desarrollo de los explantes, lo cual es esencial para su nutrición, anclaje, adaptación al estrés hídrico y posterior crecimiento asegurando su supervivencia, cuando se trasladen a condiciones ex vitro, denominada aclimatación (Jiménez, 1995).

4.5. Mortalidad

Un punto adicional que se pudo observar en esta investigación, durante el transcurso de las 12 semanas, algunos explantes no lograron mantener su viabilidad, pareciendo por diversos factores e incluso sin mostrar signos de reacción con el medio de cultivo desde el principio. Se observó contaminación que fueron resistentes pese a la desinfección, limpieza del ambiente, el uso adecuado de los equipos de laboratorio y el rescate de los explantes, ya que la mayoría de los microorganismos contaminantes pudieron estar permaneciendo dentro de las muestras, así como dentro del ambiente de incubación.

Podemos mencionar que uno de los factores fueron la presencia de hongos y bacterias. Estos microorganismos patógenos se pudieron observar en la mayoría de los tratamientos tal como se observaron en la Figura 3, estos hongos presentaron estructuras con forma de hifas blancas, alimentándose del medio de cultivo y rodeando al explante hasta cubrirlo por completo, así como las bacterias que se observaron como clara de huevo dentro del medio de cultivo ubicándose alrededor por donde crecería la raíz; tal como menciona Miraval (2017), esta propagación de hongos y bacterias pueden aparecer debido a que no se realizó un pre tratamiento a las plantas madres, ya que los hijuelos fueron cosechados directamente de campo. Las plantas madre deben mantenerse libres de enfermedades a través de métodos de control biológico y químico.

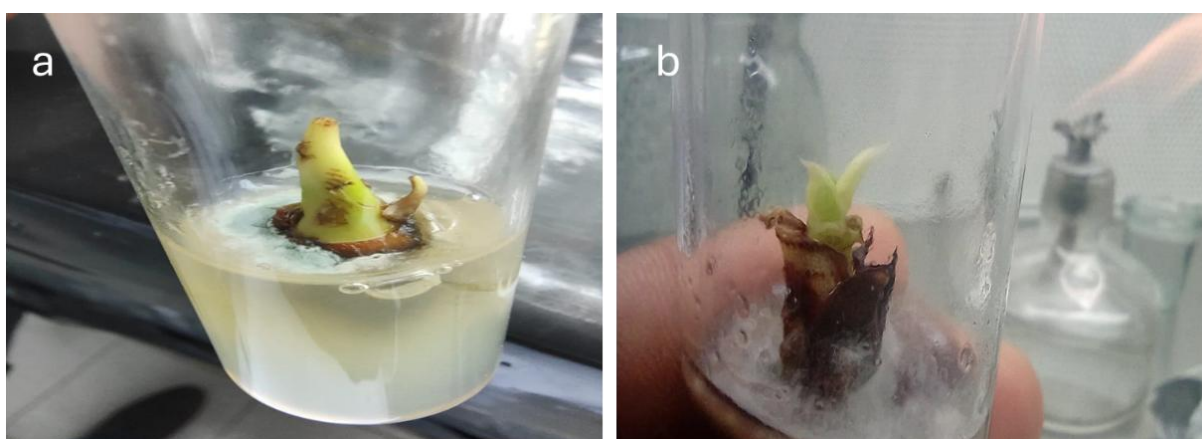


Figura 4. Contaminación in vitro en explantes de *Musa spp.* a. contaminación bacteriana b. contaminación por hongos

También podemos decir que, al ser yemas apicales provenientes de hijuelos, estos estaban en contacto con el suelo, por lo cual, Sandoval et al. (1991) menciona que al tomar

explantes de órganos subterráneos o de una planta cerca al suelo reduce la eficiencia de los subsecuentes procesos de desinfección.

Según Uribe y Cifuentes (2004), expresaron que los meristemas de la yema apical sometidos a cultivo *in vitro* lograron ser crucial en la primera semana, debido a que se crecerán los hongos y bacterias, comenzando una etapa de infestación; por ello, la presencia de estos contaminantes microbianos es una preocupación significativa en las etapas iniciales de la micropropagación, donde los tejidos vegetales fueron particularmente susceptibles a infecciones.

Otro factor que se observó fue una reacción química producto de este explante llamado fenolización, consta de la aparición de manchas marrones o rojizas oscuras dentro del medio de cultivo. Este fenómeno es conocido como oxidación de compuestos fenólicos y se asocia a la catalización de la enzima polifenol oxidasas (Ancasi et al., 2016). Según Monzón (2005), los compuestos fenólicos son liberados por las heridas del tejido hacia el medio de cultivo, donde son capturados y acumulados por el agente gelificante, lo cual provoca la formación de una zona oscura alrededor del explante, inhibiendo su crecimiento. Además, Ramírez et al. (2008) mencionaron que la oxidación se relaciona con esta actividad de enzimas que se liberaron durante el proceso de corte de los tejidos. Medina et al. (2015) explicaron que, durante la fase de cultivo, en el medio de cultivo se puede observar un ligero ennegrecimiento en la base de los explantes, incrementándose con el tiempo.

La fenolización es común en el laboratorio de cultivo *in vitro* y puede afectar la viabilidad y el desarrollo de los explantes, y para mitigar este problema, Ramírez et al. (1998), sugirieron incorporar carbón activado al medio de cultivo, ya que actúa como adsorbente, reduciendo la concentración de compuestos fenólicos y enzimas oxidoreductasas en el medio, minimizando la oxidación y mejorando la viabilidad y el desarrollo de los explantes. Tal como lo demostraron Canchignia et al (2008), añadiendo carbón activado al medio Murashige y Skoog, favoreció la emisión de raíces y permitió el desarrollo y crecimiento de la planta. Así mismo lo reportaron Roca y Mroginski (1991), quienes afirmaron que el carbón activado se ha utilizado para superar problemas específicos de oxidación en el cultivo de tejidos de musáceas.

V. CONCLUSIONES

- La propagación in vitro de *Musa spp.* usando diferentes concentraciones de BAP mostró que la concentración de 0 mg/L⁻¹ para Moquicho y 6 mg/L⁻¹ para Inguiri fueron las que incrementaron la longitud de brotes. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre los factores para el número de hojas. Finalmente, no se observaron incremento de numero de brotes, ni de raíces en los tratamientos.
- La viabilidad y el desarrollo general de los explantes se vieron limitados por factores como la falta de hormonas complementarias, problemas de contaminación y fenolización. Estos resultados subrayan la necesidad de optimizar las condiciones del medio de cultivo y del entorno ambiental para mejorar la respuesta de los cultivares.

VI. PROPUESTAS A FUTURO

1. Desarrollar y evaluar un protocolo de desinfección efectivo para las plantas madre e hijuelos para minimizar la contaminación microbiana en los explantes utilizados en cultivos in vitro.
2. Ensayar otras concentraciones de BAP y realizar combinaciones con auxinas para la multiplicación de las yemas apicales y de las raíces en los meristemas de plátano/banano.
3. Explorar métodos para disminuir la fenolización en explantes mediante el uso in vitro de antioxidantes, con el fin de mejorar la calidad y viabilidad de los tejidos cultivados.
4. Investigar el rol de diferentes citoquininas y auxinas para la inducción y desarrollo de callos y embriogénesis somática en *Musa spp.*

VII.REFERENCIAS

- Abdelnour, A., & Escalant, J. (1994). *Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales*. Biblioteca Orton IICA/CATIE.
- Arinaitwe, G., Rubaihayo, P., & Magambo, M. (2000). Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa spp.*) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 86(1), 13–21.
- Bairu, M., Stirk, W., Doležal, K., & Van Staden, J. (2008). The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars Williams and Grand Naine (*Musa spp. AAA*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95, 373–379.
- Ballester, R., & González, A. (1983). *Comprobación de la eficiencia de nuevos medios de cultivo en el enraizamiento de plantines de caña de azúcar (Saccharum spp. híbrido) obtenidos por cultivo de tejidos* [Trabajo de diploma, Universidad Central de las Villas]. Facultad de Ciencias Agrícolas.
- Belalcázar, S. (1999). *El cultivo del plátano: Guía práctica*. INIBAP.
- Bermúdez-Carabaloso, I., Rodríguez Urquiza, M., Reyes Vega, M., & Jiménez Padrón, A. (2019). Efecto del uso combinado de dos citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas adventicias de banano cv. ‘Gros Michel’ (*Musa AAA*). *Bioteología Vegetal*, 19(2), 139–146.
- Brochero Bustamante, C., & De la Pava Suárez, N. (2012). *Estandarización de las etapas de establecimiento y multiplicación in vitro de plátano Musa balbisiana variedad curare enano para la construcción de un protocolo de micropropagación* [Tesis de licenciatura, Universidad de Magdalena]. <https://repositorio.unimagdalena.edu.co/items/0424449d-20dd-430f-8e34-642ffc618f4b>
- Caldera Caldera, L. A., & López Ruiz, J. F. (2002). *Mejoramiento de la eficiencia de propagación in vitro de plátano (Musa AAB cv. Enano)* [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/1835/>
- Canchignia Martínez, H. F., Sigcha Sigcha, L. E., Toaquiza Soatunsig, J. P., Ramos Gavilanez, L. E., Saucedo Aguiar, S. G., Carranza Patiño, M. S., & Cevallos Falquez, O. F. (2008). Alternativas para la propagación in vitro de plátano variedad Maqueño (*Musa balbisiana AAB*). *Revista Ciencia y Tecnología*, 1(1), 43–48.
- Canchignia, F., & Ramos, L. (2004). *Micropropagación de plátano variedad Barraganete*. Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Capellades, M., Lemeur, R., & Debergh, P. (1991). Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 25, 21–26.
- Cedeño, E. M. (2015). *Micropropagación de banano orito (Musa acuminata AA) a partir de meristemos florales* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Manabí].
- Cubero, J. (2003). *Introducción a la mejora genética vegetal*. Mundi-Prensa Libros.

- Colmenares, M., & Giménez, C. (2003). Multiplicación in vitro de *Musa spp.* mediante sistema de inmersión temporal. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 20(4), 468–477.
- Davey, A., & Sipe, P. (2012). Effects of N6-benzylaminopurine and indole acetic acid on in vitro shoot multiplication, nodule-like meristem proliferation and plant regeneration of Malaysian bananas (*Musa spp.*). *American Journal of Plant Sciences*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799403>
- Dhed'a, D., Dumortier, F., Panis, B., Vuylsteke, D., & De Langhe, E. (1991). Plant regeneration in cell suspension cultures of cooking banana 'Bluggoe' cultivar (*Musa spp.*, ABB group). *Fruits*, 46, 125–135.
- Fagiani, M., & Tapia, A. (2007). *Cultivo de banano*. Estación Experimental de Cultivos Tropicales INTA Yuto-Jujuy.
- Florio, S., & Mogollón, N. (2011). Efecto de dos citocininas y dos estados físicos del medio de cultivo sobre la multiplicación in vitro del plátano 'Hartón Gigante' (*Musa AAB*). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 28, 10.
- Flores Ortiz, C. M., Cabañas-Cabrera, A., Peñalosa Castro, I., Quintanar Zúñiga, R. E., Vázquez Medrano, J., & Urzúa Meza, M. A. (2009). Auxinas endógenas, AIA-oxidasa y enraizamiento en *Vigna radiola* L. Wilczek inducido por auxina exógena libre y conjugada. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 61–66. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000100008
- Gálvez López, E. J., & Elizalde Ochoa, J. G. (2021). *Multiplicación in vitro de plátano (Musa × paradisiaca L.)* [Tesis de licenciatura, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/150f6bf2-18e5-46d9-879f-53e3d74b70bc/content>
- George, E., Hall, M., & De Klerk, G. (2008). *Plant propagation by tissue culture*. Springer Netherlands.
- Hardy, I., & De García, E. (1994). Micropropagación de banano (*Musa AAA*) del subgrupo Cavendish. *ÖYTON*, 1, 31–41.
- Hardy, I., & De García, E. (1994). Alternativas para la propagación in vitro del cultivar híbrido FHIA20: cultivo de tejidos y propagación masiva. *INFOMUSA*, 11(1), 10.
- Hartón, D., & Simmonds, A. (2008). Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano. *Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 6(2).
- Héctor, E., Torres, A., Algoe, S., Cabañas, M., & López, A. (2007). Propagación in vitro del plátano macho (*Musa spp.* AAB) clon Sobrino con los bioestimulantes cubanos BB-6 y Biostan como sustitutos de los reguladores del crecimiento. *Cultivos Tropicales*, 28(1), 13–18.

- Herrera-Aguilar, J., Aguirre-Medina, J. F., Gálvez-López, A. L., Ley-de Coss, A., & Martínez-Solís, M. (2017). Efecto de reguladores de crecimiento en la reproducción in vitro de *Musa spp.* cv. Gran Enano. *Agro Productividad*, 10(9), 6.
- Hoyos, J. (2008). Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano Dominico Hartón (*Musa AAB Simmonds*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 6(2).
- Huachamín Pilataxi, M. D. (2019). *Propagación vegetativa de plátano Maqueño (Musa × paradisiaca Colla) con la utilización de benzilaminopurina y ácido indolacético en la provincia de Napo* [Tesis de licenciatura, Universidad Estatal Amazónica]. <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/366>
- Huang, L. C., & Murashige, T. (1977). Plant tissue culture media: Major constituents, their preparation and some applications. *Methods in Cell Science*, 3, 539–548.
- Hurtado, D., & Merino, M. (1997). *Cultivo de tejidos vegetales* (3.^a reimp.). Editorial Trillas.
- Jambhale, N., Patil, S., Jadhav, A., Pawar, S., & Waghmode, B. (2001). Effect of number of subcultures on in vitro multiplication of four banana clones. *InfoMusa*, 10, 38–39.
- Jiménez, G. E. (1995). *Propagación in vitro de la caña de azúcar (Saccharum spp. híbrido)* [Tesis doctoral, Universidad Central de las Villas]. Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- Juez Paredes, C. A. (2013). *Propagación vegetativa de guineo orito (Musa acuminata AA) con la aplicación de benzilaminopurina (BAP)* [Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/552>
- Khalid, N. (2011). Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *African Journal of Biotechnology*, 10, 2446–2450.
- Khaldun, A., Haque, M., Uddin, M., & Billah, M. (2007). Effect of BAP and IAA on in vitro plantlet regeneration of local banana (*Musa spp.*) cultivars. [Archivo PDF]. file:///D:/OneDrive%20-%20Zamorano/Downloads/Banana_Khaldun.pdf
- López Constante, J., Cedeño García, G., & Cedeño García, G. (2021). Efectos de bencilaminopurina y tipo de brotes en la producción y calidad de plántulas de plátano vía macropropagación. *Revista Alfa*, 5(15), 386–399. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i15.124>
- Marassi, M. A. (2004). *Hormonas vegetales* [Recurso en línea]. <http://www.biologia.edu.ar/plantas/hormonas>
- Manjula, R., Praveen, J., Sunnaiah, K. V., Swamy, G. S. K., & Prabhuling, G. (2015). Enhancement of in vitro shoot multiplication in banana cv. Rajapuri (AAB) using TDZ. *Research Journal of Biotechnology*, 10(5), 5–10.

- Maretzki, A., & Hiraki, P. (1980). Sucrose promotion of root formation in plantlets regenerated from callus of *Saccharum spp.* *Oyton*, 38(1), 85–85.
- Martínez, A. (2006). *Morfología y fisiología de la planta de plátano*. CORPOICA.
- Medina, M. A., Medina, C. L., & Medina, L. K. (2015). Propagación in vitro de *Musa acuminata* (Simmonds) plátano bocadillo del Chocó, Colombia, a partir del cultivo de meristemos apicales. *Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 13(1), 22–30.*
- Miraval, J. (2017). *Efecto de dos concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en la regeneración in vitro de meristemas florales de dos cultivares de Musa spp.* [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria de la Selva].
- Mohammad, Z. I., & Saleha, A. (2011). *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(5), 201–211.
- Osorio Vega, S. M. (2019). *Establecimiento in vitro de plátano (Musa × paradisiaca L.) cv. Curaré Enano* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia].
- Peres de Oliveira, J., Da Silva Costa, F., & Scherwinski-Pereira, J. (2008). Micropropagación y estimativa de producción de mudas de bananos para la Amazonia Occidental. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 1429–1432.
- Pierik, R. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Quispe Flores, D. (2014). *Evaluación de dos medios de cultivo y diferentes concentraciones de benzil amino purina (BAP) en la multiplicación in vitro de seis accesiones del género Musa (Musa acuminata y Musa balbisiana)* [Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés]. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/5072>
- Ramírez, M., Lindorf, H., & García, E. (2008). Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano Williams (*Musa spp.* AAA) bajo distintas concentraciones de N6-benciladenina. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 92(1–2), 53–72.
- Ramírez, C., Rodríguez, L., & Restrepo, S. (2018). Avances en la propagación in vitro de variedades de *Musa spp.* mediante micropropagación. *Revista Biotecnología Vegetal*, 18(2), 57–64.
- Ramírez, R., Romero, A., & Romero, L. (2019). Efecto de diferentes condiciones de cultivo in vitro en el desarrollo de plántulas de plátano (*Musa spp.*). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 25(1), 25–34.
- Rebolledo, Á., Zúñiga, D., Ríos, R., & Alvarado, J. (2016). Optimización del cultivo in vitro de plátano cv. Dominic Hartón (*Musa AAB*) en el cultivo de tejidos. *Tecnología en Marcha*, 29(2), 53–61.
- Roca, W., & Mroginski, L. (1991). *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

- Rodríguez, F., Pérez, J., & González, L. (2004). Influencia de los medios de cultivo en la micropropagación de plátano (*Musa spp.*) y malanga (*Xanthosoma sagittifolium* Schott). *Cultivos Tropicales*, 25(1), 23–26.
- Rodríguez, L., & Escalante, F. (2017). Cultivo in vitro de plátano (*Musa spp.*). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 96–106.
- Salisbury, F., & Ross, C. (1994). *Fisiología vegetal* (4.ª ed.). Grupo Editorial Iberoamérica.
- Salto, W. I. (2017). *Potencial de propagación in vitro de 20 musáceas (Musa AA, AAA, AAAB, AAB, ABB) vía organogénesis directa* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Quevedo].
- Sandoval, J. A. F., Brenes, G. G., & Pérez Sánchez, L. (1991). *Micropropagación de plátano y banano (Musa AAB, AAA) en el CATIE* (Serie Técnica, Informe Técnico/CATIE N.º 186, 29 pp.). CATIE.
- Soto, M. (1990). *Bananos: Cultivo y comercialización* (2.ª ed.). Ed. Lil S.A.
- Thomas, P. (2004). Un procedimiento de cribado de tres pasos para la detección de bacterias encubiertas y endófitas en cultivos de tejidos vegetales. *Current Science*, 87(1), 67–72.
- Valle Torres, R. M. (2021). *Efecto de los reguladores de crecimiento en la multiplicación in vitro de plátano (Musa × paradisiaca L.): Revisión de literatura* [Trabajo académico]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/a1f1ebbb-a513-460a-9173-45a8466e3749/content>
- Van den Houwe, I. (1998). Elimination of endophytic bacteria from banana tissue cultures. *Annual Report INIBAP*, 12 pp.
- Waman, A. A., Bohra, P., & Sathyanarayana, B. N. (2014). Not all sugars are sweet for banana multiplication: In vitro multiplication, rooting, and acclimatization of banana as influenced by carbon source–concentration interactions. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 50(5), 552–560. <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9623-3>
- Wijerathna, Y. M., & Kumarihami, H. M. (2016). Effects of different hormonal concentrations and culture medium on multiplication and rooting of Stage II banana (*Musa*). *Notulae Scientia Biologicae*, 8(1), 69–72. <https://doi.org/10.15835/nsb.8.1.9749>
- Zaffari, G. R., Kerbavy, G. B., Kraus, J. E., & Romano, E. C. (2000). Hormonal and histological studies related to in vitro banana bud formation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 187–192.

ANEXOS



Figura 5. Muestras vegetativas de cultivares *Musa spp* (Inguiri)



Figura 6. Yema apical de *Musa spp* (Moquicho) esterilizadas.



Figura 7. Macro y micronutrientes para la elaboración del medio de cultivo MS

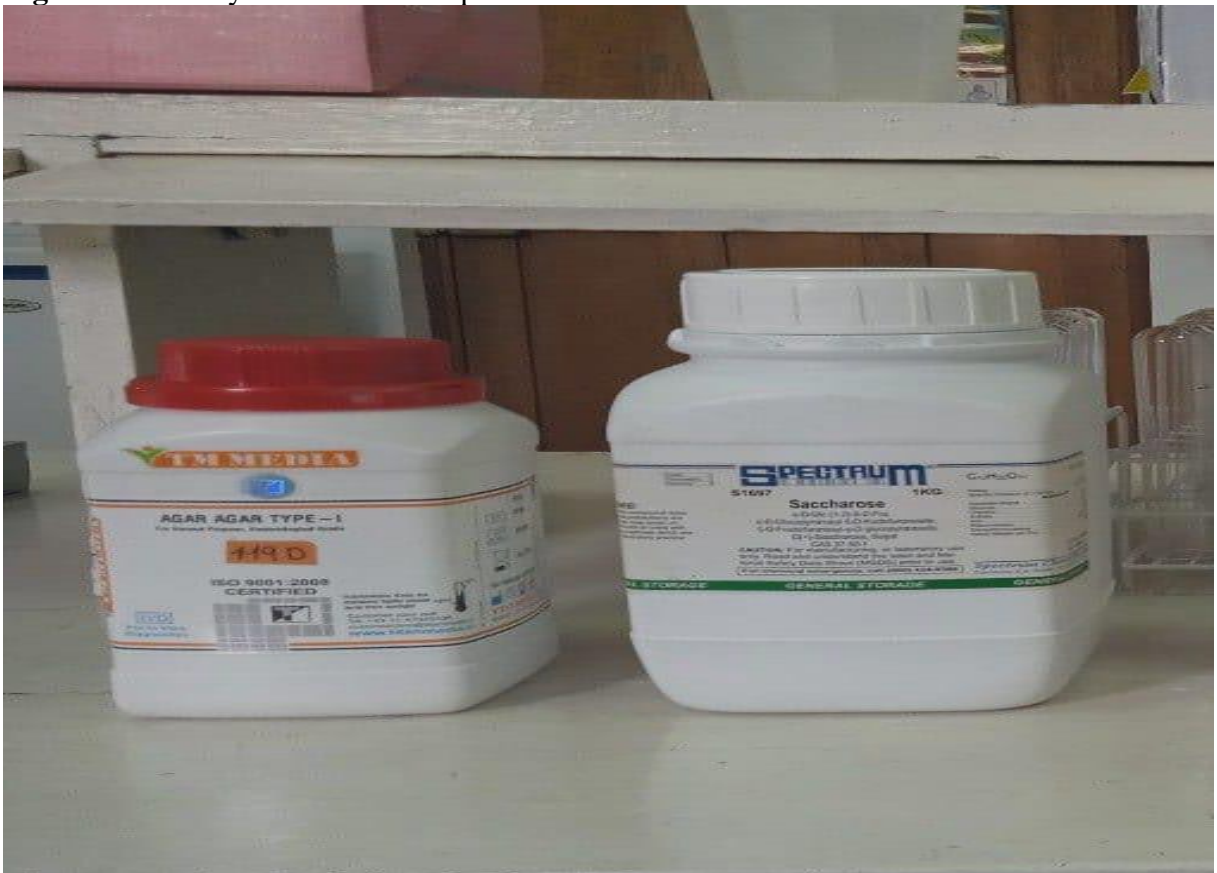


Figura 8. Reactivos para la elaboración del medio del cultivo MS



Figura 9. Preparación de medios de cultivo Murashige y Skoog (MS)



Figura 10. Tratamientos con BAP en el medio de cultivo MS



Figura 11. Instalación de yemas apicales



Figura 12. Yema apical en medio de cultivo MS



Figura 13. Instalación de los tratamientos



Figura 14. Vista de los 8 tratamientos ya instalados de *Musa spp.*



Figura 15. Evaluación de las yemas apicales



Figura 16. Aparición de hojas y brotes en los explantes



Figura 17. Formación de hojas de *Musa spp.*

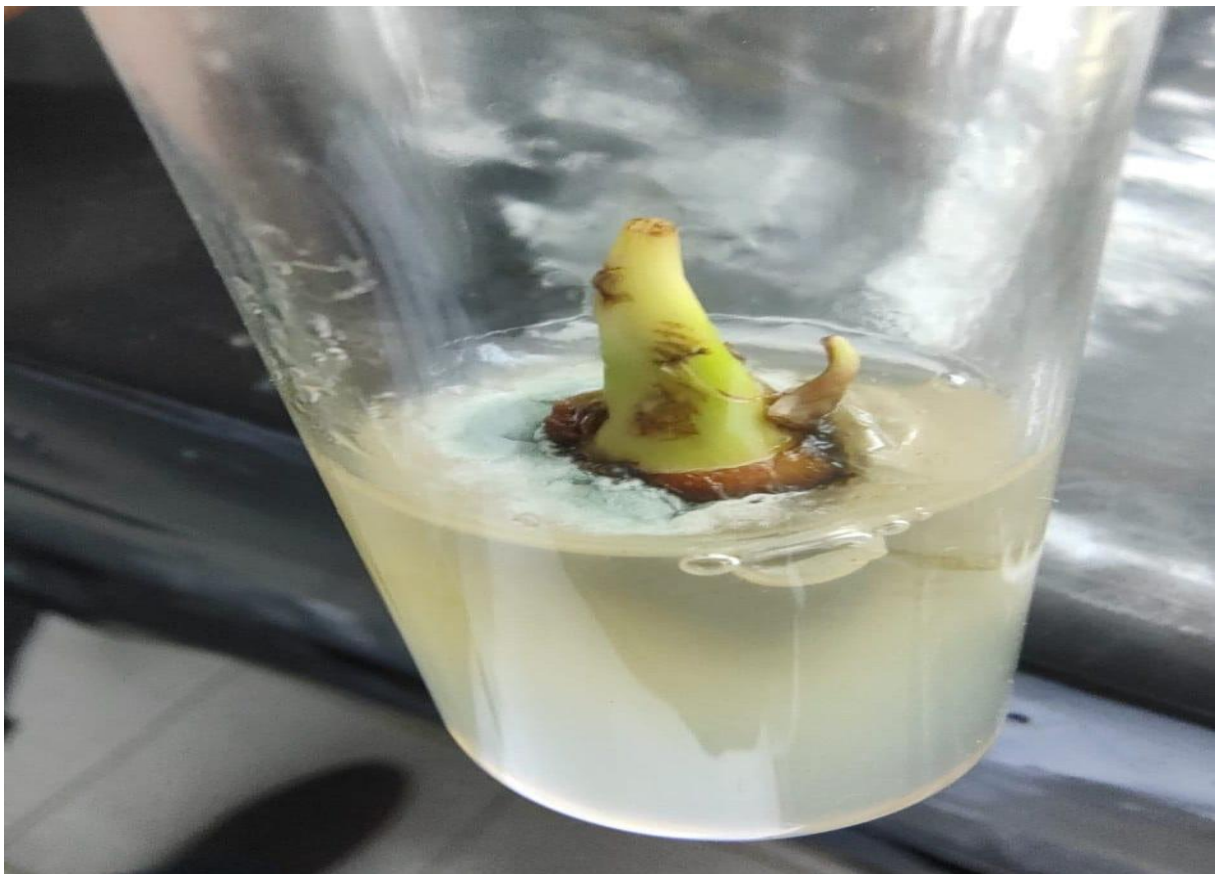


Figura 18. Formación de brotes de *Musa spp.*



Figura 19. Hojas de *Musa spp.*



Figura 20. Crecimiento de *Musa spp.*



Figura 21. Longitud de brote de *Musa spp.*



Figura 22. Contaminación en los explantes.



Figura 23. Evaluación de longitud de brote en los explantes de *Musa spp*



Figura 24. Evaluación de número de hoja en los explantes de *Musa spp*.



Figura 25. Evaluación de longitud total de explantes

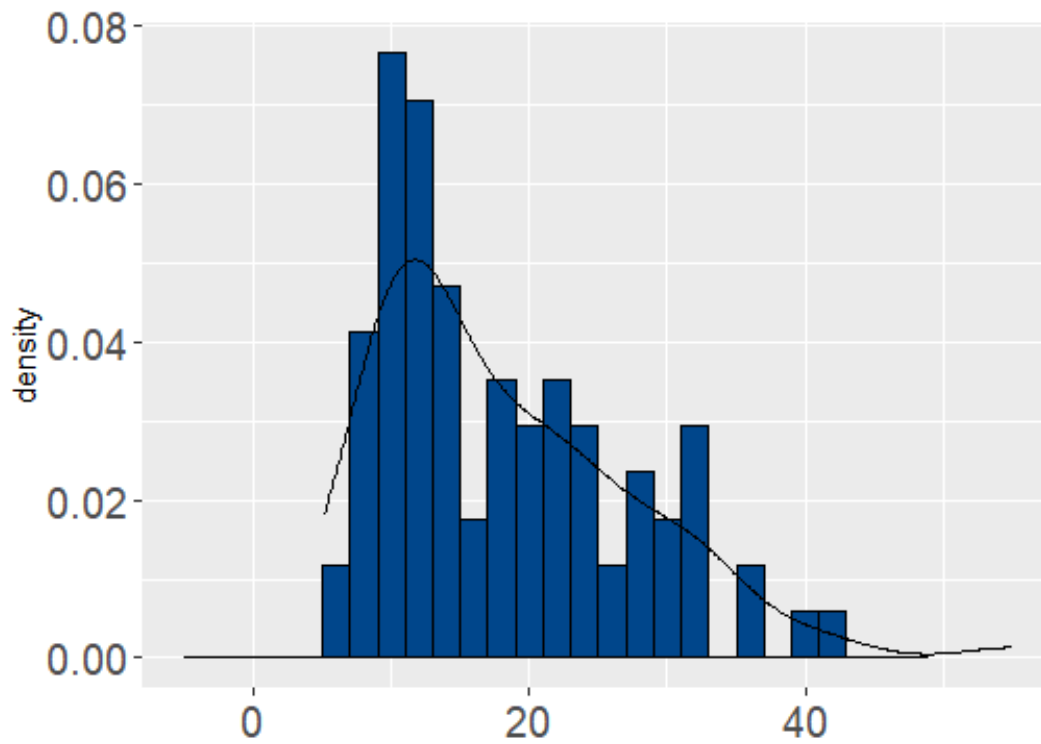


Figura 266. Histograma de frecuencias de la variable longitud de brotes (mm) mostrando la curva de distribución

Tabla 8. Registro de datos y evaluaciones. NA: dato perdido

Tratamiento	Repetición	Long. Total	Brotes	Long. Brotes	Hojas
1	1	33.79	1	28.03	0
1	2	42.98	1	40.39	0
1	3	14.89	1	11.85	3
1	4	NA	0	NA	0
1	5	36.51	1	33.76	0
1	6	NA	0	NA	0
1	7	41.54	0	36.22	0
1	8	NA	0	NA	0
1	9	NA	0	NA	0
1	10	35.21	0	34.49	0
1	11	40.79	1	35.37	0
1	12	37.84	0	36.19	0
1	13	41.05	1	36.75	4
1	14	43.21	0	49.2	0
1	15	19.6	1	17.45	3
2	1	NA	0	NA	0
2	2	NA	0	NA	0
2	3	NA	0	NA	0
2	4	NA	0	NA	0
2	5	NA	0	NA	0
2	6	22.26	1	16.66	0
2	7	34.4	0	25.63	0
2	8	29.07	0	20.75	0
2	9	NA	0	NA	0
2	10	NA	0	NA	0
2	11	NA	0	NA	0
2	12	NA	0	NA	0
2	13	NA	0	NA	0
2	14	NA	0	NA	0
2	15	NA	0	NA	0

3	1	63.65	1	56.47	5
3	2	NA	0	NA	0
3	3	25.28	1	21.52	0
3	4	NA	0	NA	0
3	5	NA	0	NA	0
3	6	42.03	1	37.44	0
3	7	25.33	1	20.43	3
3	8	32.36	1	25.48	2
3	9	NA	0	NA	0
3	10	19.26	0	13.98	1
3	11	NA	0	NA	0
3	12	NA	0	NA	0
3	13	16.51	0	10.66	1
3	14	NA	0	NA	0
3	15	46.96	1	44.84	1
4	1	NA	0	NA	0
4	2	NA	0	NA	0
4	3	NA	0	NA	0
4	4	NA	0	NA	0
4	5	NA	0	NA	0
4	6	NA	0	NA	0
4	7	NA	0	NA	0
4	8	NA	0	NA	0
4	9	NA	0	NA	0
4	10	15.93	0	12.15	0
4	11	NA	0	NA	0
4	12	NA	0	NA	0
4	13	NA	0	NA	0
4	14	NA	0	NA	0
4	15	NA	0	NA	0
5	1	NA	0	NA	0
5	2	NA	0	NA	0

5	3	NA	0	NA	0
5	4	17.44	1	15.5	0
5	5	NA	0	NA	0
5	6	NA	0	NA	0
5	7	NA	0	NA	0
5	8	NA	0	NA	0
5	9	NA	0	NA	0
5	10	21.79	1	18.81	0
5	11	NA	0	NA	0
5	12	NA	0	NA	0
5	13	NA	0	NA	0
5	14	NA	0	NA	0
5	15	NA	0	NA	0
<hr/>					
6	1	NA	0	NA	0
6	2	NA	0	NA	0
6	3	24.96	1	18.9	0
6	4	NA	0	NA	0
6	5	NA	0	NA	0
6	6	NA	0	NA	0
6	7	NA	0	NA	0
6	8	NA	0	NA	0
6	9	NA	0	NA	0
6	10	NA	0	NA	0
6	11	NA	0	NA	0
6	12	NA	0	NA	0
6	13	NA	0	NA	0
6	14	NA	0	NA	0
6	15	NA	0	NA	0
<hr/>					
7	1	NA	0	NA	0
7	2	30.76	0	25.97	0
7	3	NA	0	NA	0
7	4	NA	0	NA	0

7	5	NA	0	NA	0
7	6	NA	0	NA	0
7	7	NA	0	NA	0
7	8	NA	0	NA	0
7	9	NA	0	NA	0
7	10	NA	0	NA	0
7	11	NA	0	NA	0
7	12	NA	0	NA	0
7	13	NA	0	NA	0
7	14	NA	0	NA	0
7	15	NA	0	NA	0
<hr/>					
8	1	32.49	0	29.18	0
8	2	NA	0	NA	0
8	3	NA	0	NA	0
8	4	30.78	1	25.91	0
8	5	57.07	1	52.39	3
8	6	46.03	1	19.79	3
8	7	NA	0	NA	0
8	8	NA	0	NA	0
8	9	NA	0	NA	0
8	10	NA	0	NA	0
8	11	20.69	0	16.89	0
8	12	NA	0	NA	0
8	13	NA	1	21.38	2
8	14	NA	0	NA	0
8	15	NA	0	NA	0
<hr/>					