



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**

Proyecto de Investigación  
previo a la obtención del título  
de Ingeniero Agrónomo.

### **Título del Proyecto de Investigación:**

“Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de cultivares de plátano”.

### **Autor:**

Andrea Alexandra Velasco Párraga

### **Director de Proyecto de Investigación:**

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

**Quevedo – Los Ríos - Ecuador**

**2019**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **Andrea Alexandra Velasco Párraga**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

---

**Andrea Velasco Párraga**

C.C. # 094170088-2

# **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

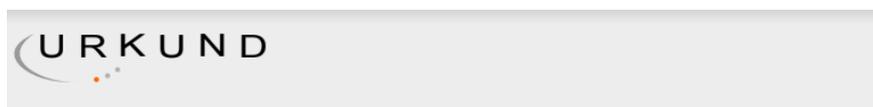
El suscrito Ing. Fernando Abasolo, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante Andrea Alexandra Velasco Párraga, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado **“Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de cultivares de plátano”** previo a la obtención del título de Ingeniero/a Agrónomo, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

---

**Dr. Fernando Abasolo Pacheco**  
**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

# CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

URKUND	
<b>Documento</b>	<a href="#">tesis universidad 14.docx</a> (D57727129)
<b>Presentado</b>	2019-10-26 16:25 (-05:00)
<b>Presentado por</b>	andrea.velasco2014@uteq.edu.ec
<b>Recibido</b>	fabasolo.uteq@analysis.orkund.com
<b>Mensaje</b>	TESIS PLATANO <a href="#">Mostrar el mensaje completo</a>
	8% de estas 23 páginas, se componen de texto presente en 10 fuentes.



## Urkund Analysis Result

**Analysed Document:** tesis universidad 14.docx (D57727129)  
**Submitted:** 10/26/2019 11:25:00 PM  
**Submitted By:** andrea.velasco2014@uteq.edu.ec  
**Significance:** 8 %

### Sources included in the report:

Tesis URKUND Clara Narvaez.docx (D16732273)  
SALTOS PEREZ WILMER IVAN.docx (D30245902)  
<https://www.eluniverso.com/2007/10/08/0001/18/7CF4E55AEDD44C2385F5CD5985FEBAB9.html>  
<https://elproductor.com/editorial-del-mes/mercado-del-platano-en-el-ecuador-y-sus-expectativas/>  
[http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/manual\\_platano\\_04.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_platano_04.pdf)  
fac5c856-a91a-4ba0-87fb-b46d9896c637  
a11d2ea5-6637-4dca-9f4e-07c383b848f9  
66fc8b71-fe42-4304-9adc-5ab9a84238b2  
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/5072/T-1376.pdf?sequence=1&isAllowed=y>  
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/391/html>

### Instances where selected sources appear:

32

---

**Dr. Fernando Abasolo Pacheco**

**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

# **CERTIFICACIÓN DE APROBACION**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**

## **TÍTULO PROYECTO DE INVESTIGACION**

**“Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de cultivares de plátano”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Aprobado por:

---

Dra. Silvia Saucedo  
**Presidente del tribunal**

---

Dr. Fabricio Canchignia  
**Miembro del tribunal**

---

Dr. Daniel Vera  
**Miembro del tribunal**

**QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR**

**2019**

## **AGRADECIMIENTO**

El autor de la presente investigación quiere dejar constancia de su sincero agradecimiento a las personas que hicieron posible la culminación de la misma.

A Dios, por tantas bendiciones brindadas, por permitirme tener salud, sabiduría y personas buenas a mi lado, las mismas que me han apoyado siempre.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, institución digna que me acogió como estudiante y forjo mis conocimientos durante cinco años.

A mi director de tesis, Dr. Fernando Abasolo Pacheco, por su enseñanza y seguimiento para la exitosa culminación de este trabajo de investigación.

Al Ing. Iván Garzón por su guía práctica y apoyo para poder realizar esta investigación, junto con la guía del personal del área de cultivos de tejidos en INIAP.

A mi familia y a mis amigos que han formado parte de mi vida profesional a quienes les encantaría agradecerles su amistad, apoyo y compañía.

## **DEDICATORIA**

Mi trabajo de investigación, lo dedico con todo amor y cariño. A la memoria de mi abuelito, de quien herede sus valores morales y quien fue más que un padre. A mi abuelita por educarme y cuidarme toda mi vida, hasta la actualidad. A mi familia y amigos que han estado conmigo siempre, a pesar de las adversidades. A mi pareja, quien ha sido mi fortaleza y apoyo incondicional.

## RESUMEN

La multiplicación de plantas musáceas mediante el cultivo *in vitro* de tejidos, ha permitido la reproducción masiva de plantas para abastecer la demanda de material de siembra requeridas, especialmente del cultivo de banano. Sin embargo, durante el proceso de propagación los cultivares de plátano han presentado limitaciones como la baja estimulación de brotes, alta tasa de oxidaciones fenólicas. La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto del tamaño de explante sobre la tasa de multiplicación *in vitro* de plantas en dos cultivares de plátano, la misma que se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP. Los cultivares de plátano estudiados fueron Dominico Hartón (*Musa* AAB Simmonds) y Hartón (*Musa* AAB), con dos tamaños de explantes (0,5-1,00 y 1,5-2,0) cm. Se empleó el diseño experimental DCA con 4 repeticiones más dos testigos. Se aplicó la prueba de Tukey al 95% de probabilidad. Se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog. Se evaluaron las variables de porcentaje de contaminación, días a ruptura de dominancia apical (rdp), número de explantes a rdp, número de explantes por repique, número de explantes con yemas laterales y factor de propagación. Obtenidos los resultados, no se encontró agentes contaminantes en la fase de establecimiento, el tamaño de explante inicial que presento el mayor número de días a rdp fue de 0,5-1,0 cm, con un promedio de 30 dds, y se obtuvo como promedio general de número de explantes a rdp 2 explantes, por cada explante inicial. Los resultados indican que el cultivar Hartón con el tamaño de explante inicial 0,5-1,0 cm los que presentaron el mayor número de brotes previo a cada repique, con un promedio de 307 explantes, con un factor de propagación de 3.5 brotes por cada explante.

**Palabras claves:** In vitro, cultivares, explante, repique.

## ABSTRACT

The multiplication of musaceous plants through the in vitro culture of tissues, has allowed the massive reproduction of plants to supply the demand of required planting material, especially banana cultivation. However, during the propagation process, banana crops have presented limitations such as low bud stimulation, high phenolic oxidation rate. This research was carried out in the Tissue Culture Laboratory of the INIAP Tropical Pichilingue Experimental Station. It aimed to assess the effect of the size of explant on the rate of in vitro multiplication of plants in two banana crops. The banana crops studied were Dominico Hartón (Musa AAB Simmonds) and Hartón (Musa AAB), with two sizes of explants (0.5-1.00 and 1.5-2.0) cm. The experimental DCA design was used with 4 repetitions plus two controls. The Tukey test was applied at a 95% probability. Murashige and Skoog culture medium was used. The variables of percentage of contamination, days to rupture of apical dominance (rdp), number of explants at rdp, number of explants per replicate, number of explants with lateral buds and propagation factor were evaluated. Once the results were obtained, the treatments studied in the establishment phase were not contaminated, the initial explant size that presented the greatest number of days at rdp was 0.5-1.0 cm, with an average of 30 dds, and a general average number of explants was obtained at rdp 2 explants, for each initial explainer. The results indicate that the Hartón cultivar with the initial explant size 0.5-1.0 cm indicates the greatest number of shoots prior to each peel, with an average of 307 explants, with a propagation factor of 3.5 shoots for each explant.

**Keywords:** In vitro, cultivars, explant, repique.

# ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	vi
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
CÓDIGO DUBLÍN .....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

## **CAPITULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

1.1. Problema de investigación .....	4
1.1.1. Planteamiento del problema .....	4
1.1.2. Formulación del problema .....	4
1.1.3. Sistematización de problema.....	4
1.2. Objetivos .....	5
1.2.1. Objetivo general .....	5
1.2.2. Objetivos específicos.....	5
1.3. Justificación.....	6

## **CAPITULO II. CONTEXTUALIZACIÓN TEORICA DE LA INVESTIGACIÓN**

2.1. Marco conceptual .....	8
2.1.1. Origen y distribución del plátano ( <i>Musa spp.</i> ) .....	8
2.1.2. Clasificación taxonómica general del plátano .....	9
2.1.2.1. Descripción botánica .....	9
2.1.3. Acciones de plátano .....	11
2.1.3.1. Dominico Hartón ( <i>Musa AAB Simmonds</i> ).....	11
2.1.3.2. Hartón ( <i>Musa AAB</i> ).....	11
2.1.4. Cultivo <i>in vitro</i> .....	12

2.1.4.1.	Etapas del cultivo <i>in vitro</i> .....	13
2.1.4.2.	Experiencias del cultivo in vitro de musáceas .....	16
2.1.4.3.	Principales problemas en el cultivo <i>in vitro</i> .....	18
2.1.4.4.	Tamaño del cormo.....	19
2.1.4.5.	Explante.....	19

### **CAPITULO III. MÉTODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1.	Localización.....	22
3.2.	Tipo de investigación.....	22
3.3.	Métodos de la investigación .....	22
3.4.	Fuentes de recopilación de datos .....	23
3.5.	Diseño de la investigación.....	23
3.5.1.	Material vegetal .....	23
3.5.2.	Tratamientos .....	23
3.5.3.	Diseño experimental .....	23
3.5.4.	Análisis estadístico .....	24
3.6.	Manejo del experimento .....	24
3.6.1.	Selección y preparación de material vegetal .....	24
3.6.2.	Desinfección de materiales .....	25
3.6.3.	Fase de establecimiento .....	26
3.6.4.	Fase de multiplicación .....	27
3.7.	Datos registrados .....	28
3.7.1.	Porcentaje de contaminación .....	28
3.7.2.	Días a la ruptura de dominancia .....	28
3.7.3.	Número de explantes a ruptura de dominancia .....	28
3.7.4.	Número de explantes con yemas laterales.....	28
3.7.5.	Número de explantes/repique.....	29
3.7.6.	Factor de propagación .....	29

3.8.	Recursos humanos y materiales .....	30
3.8.1.	Recursos humanos .....	30
3.8.2.	Recursos Materiales.....	30

#### **CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 32**

4.1.	Resultados.....	33
4.1.1.	Fase de establecimiento aséptico.....	33
4.1.1.1.	Porcentaje de contaminación .....	33
4.1.2.	Fase de multiplicación .....	34
4.1.2.1.	Explantos con ruptura de dominancia apical .....	34
4.1.2.2.	Días a ruptura de dominancia apical.....	34
4.1.2.3.	Número de explante por repique .....	35
4.1.2.4.	Factor de propagación .....	37
4.2.	Discusión .....	38

#### **CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1.	CONCLUSIONES.....	41
5.2.	RECOMENDACIONES .....	42

#### **CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA**

6.1.	Bibliografía.....	44
------	-------------------	----

#### **CAPITULO VII. ANEXOS**

7.1.	ANEXOS .....	<b>48</b>
------	--------------	-----------

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> Tratamientos en estudio para multiplicación in vitro de plátano.....	23
<b>TABLA 2.</b> Análisis de varianza.....	24
<b>TABLA 3.</b> Número de explantes con yemas laterales de plátano (Dominico Hartón y hartón) con dos tamaños de explantes.....	37
<b>TABLA 4.</b> Factor de propagación de dos cultivares de plátano (dominico hartón y hartón) con dos tamaños de explantes.....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Selección y preparación de los cormos de plátano (Dominico Hartón y Hartón).....	25
<b>FIGURA 2.</b> Desinfección del material vegetal, cormos de plátano d. Hartón y Hartón.....	26
<b>FIGURA 3.</b> Establecimiento de explantes de dos cultivares de plátano (Dominico Hartón y Hartón).....	26
<b>FIGURA 4.</b> Ruptura de dominancia apical sobre explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).....	27
<b>FIGURA 5.</b> Explantes con presencia de yemas laterales.....	29
<b>FIGURA 6.</b> Explantes obtenidos del proceso de repique, en un nuevo medio de cultivo.....	29
<b>FIGURA 7.</b> Tratamientos en la fase de establecimiento, sin presencia de agentes contaminantes. (a) Cultivar Hartón y tamaño de explante de 0,5 - 1,0 cm (b-d) cultivar dominico hartón y explante de 0,5-1,0 cm, (c) control 2.....	33
<b>FIGURA 8.</b> Explantes obtenidos de ruptura de dominancia apical, de plátano (Dominico Hartón y Hartón).....	34
<b>FIGURA 9.</b> Días a ruptura de dominancia apical, de dos tamaños de explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).....	35
<b>FIGURA 10.</b> Número de explantes obtenidos por repique, de dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales.....	35
<b>FIGURA 11.</b> Número de explantes obtenidos por repique, de dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales, frente a un testigo1.....	36
<b>FIGURA 12.</b> Número de explantes obtenidos por repique, en dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales, frente a un testigo2.....	36

## CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación <i>in vitro</i> de dos cultivares de plátano ( <i>Musa sp</i> )”.
Autor:	Velasco Párraga Andrea Alexandra
Palabras claves:	In vitro, cultivares, explante, repique.
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen: hasta (300 palabras)	<p>La multiplicación de plantas musáceas mediante el cultivo <i>in vitro</i> de tejidos, ha permitido la reproducción masiva de plantas para abastecer la demanda de material de siembra requeridas, especialmente del cultivo de banano. Sin embargo, durante el proceso de propagación los cultivares de plátano han presentado limitaciones como la baja estimulación de brotes, alta tasa de oxidaciones fenólicas. La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto del tamaño de explante sobre la tasa de multiplicación <i>in vitro</i> de plantas en dos cultivares de plátano, la misma que se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP. Los cultivares de plátano estudiados fueron Dominico Hartón (<i>Musa</i> AAB Simmonds) y Hartón (<i>Musa</i> AAB), con dos tamaños de explantes (0,5-1,00 y 1,5-2,0) cm. Se empleó el diseño experimental DCA con 4 repeticiones más dos testigos. Se aplicó la prueba de Tukey al 95% de probabilidad. Se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog. Se evaluaron las variables de porcentaje de contaminación, días a ruptura de dominancia apical (rdp), número de explantes a rdp, número de explantes por repique, número de explantes con yemas laterales y factor de propagación. Obtenidos los resultados, no se encontró agentes contaminantes en la fase de establecimiento, el tamaño de explante inicial que presento el mayor número de días a rdp fue de 0,5-1,0 cm, con un promedio de 30 dds, y se obtuvo como promedio general de número de explantes a rdp 2 explantes, por cada explante inicial. Los resultados indican que el cultivar Hartón con el tamaño de explante inicial 0,5-1,0 cm los que presentaron el mayor número de brotes previo a cada repique, con un promedio de 307 explantes, con un factor de propagación de 3.5 brotes por cada explante.</p>
Descripción:	
URI:	

## INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa* sp.) es una especie originaria del suroeste asiático, perteneciente a la familia de las musáceas. Es un híbrido triploide proveniente del cruce entre de *Musa acuminata* por *Musa balbisiana*. Fue introducido posiblemente en África del este y oeste, entre los años 1000 y 1.500 de la era cristiana (Chavarría y López, 2010). La especie llegó a las Canarias en el siglo XV y desde allí fue trasladado a América en 1.516 por las constantes corrientes migratorias de la época (Reyes, 2007). Según Méndez, (2014) el cultivo de plátano en el país, actualmente representa un importante aporte para la socio-economía y seguridad alimentaria; genera fuentes estables y transitorias de trabajo, además de proveer permanentemente un alimento rico en energía a la mayoría de la población.

La producción media de plátano oscila entre 7000 y 10000 kg ha<sup>-1</sup>, frente a cultivos con producciones de 25000 – 30000 kg ha<sup>-1</sup> obtenidas cuando el cultivo es manejado técnicamente y con variedades productivas que existen en el mercado (Rodríguez, 2018). En el 2017 EEUU representó el 72% de las exportaciones de Ecuador, Europa 18% y el resto del mundo 10%. A pesar de estas cifras, Ecuador ha venido soportando una marcada disminución de su volumen exportable en los mercados desde el año 2013.

Por la importancia del cultivo en términos de la existencia de nuevos mercados, pero también por la problemática relacionada con la presencia de nuevos organismos fitopatógenos que ha obligado a la eliminación de plantaciones y a la apertura de nuevas zonas para el cultivo, la demanda de material de siembra ha crecido considerablemente. Convencionalmente la propagación de plantas de plátano ha sido efectuada mediante el uso de material de siembra asexual (colinos o cepas) cosechados de cualquier planta y lote, en donde a criterio del productor, puede ser una fuente para la extracción del material; con el consiguiente problema tanto en términos de su disponibilidad, así como de la desuniformidad y sobre todo respecto a la sanidad del material genético.

En esta situación, una de las alternativas tecnológicas para la producción masiva de plantas es el cultivo *in vitro* de tejidos, el cual permite la producción de material de siembra garantizado tanto genética como fitosanitariamente. A nivel comercial, existen protocolo bien definidos para la propagación *in vitro* de plantas de especies musáceas y muy

particularmente para el caso de banano (Galan *et al.*, 2018), los cuales soportan programas masivos de propagación, dando respuesta a las demandas de material de siembra calificado.

Generalmente estas mismas metodologías y procedimientos vienen siendo aplicadas para la propagación de los diferentes cultivares de plátano, con niveles de eficiencia considerablemente menores en relación a banano; lo cual es explicable si se consideran que las dos especies corresponden a grupos genéticos diferentes. Por lo mencionado, es necesario verificar el comportamiento de los materiales genéticos; y de ser el caso, efectuar los respectivos ajustes a la metodología de propagación, a efectos de adecuar la misma a las características genéticas de los diferentes materiales de plátano que se vienen cultivando en el país. El propósito final de esta investigación es disponer de un tamaño de explante inicial óptimo, como parte de una metodología eficiente en términos de cantidad de plantas a obtener, sin pérdida de material y menor costo de la tecnología de producción.

**CAPITULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de investigación**

### **1.1.1. Planteamiento del problema**

La multiplicación de plantas de especies musáceas mediante el cultivo *in vitro* de tejidos, ha permitido la reproducción masiva de plantas para abastecer la demanda de material de siembra requeridas para programas de renovación de plantaciones o para la iniciación de nuevas plantaciones comerciales, especialmente del cultivo de banano. Sin embargo, se ha observado que, durante el proceso de propagación los cultivares de plátano presentan limitaciones respecto al cultivo de banano; reflejándose entre otras, en la baja estimulación de brotes, alta tasa de oxidaciones fenólicas, que se manifiestan como oscurecimiento del tejido y que generalmente precede a la inhibición del crecimiento y en ciertos casos, conlleva a la necrosis y muerte del tejido. Además de la presencia de contaminaciones tardías de explantes, lo cual incide directamente en las tasas finales de multiplicación de plantas. A nivel convencional, se conoce que cada “cormo o colino” es una oportunidad de mejorar el rendimiento y la calidad de la cosecha, pero también puede contribuir a una planta poco productiva; en tal sentido se considera que la mala preparación del explante para iniciar cultivos *in vitro* de plátano, podría también influir en el comportamiento de sus explantes durante el proceso de propagación.

### **1.1.2. Formulación del problema**

¿Qué tamaño de explante presenta la tasa de multiplicación *in vitro* más alta en plátano?

¿Qué variedad de plátano tiene mejor respuesta en procesos de multiplicación *in vitro*?

### **1.1.3. Sistematización de problema**

¿Qué efecto tienen los diferentes tamaños de explantes en la tasa de multiplicación *in vitro* en plátano?

¿Qué diferencias presentaron las variedades de plátano en procesos de multiplicación *in vitro*?

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto del tamaño de explante sobre la tasa de multiplicación *in vitro* de plantas en dos cultivares de plátano.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Determinar el tamaño óptimo del explante utilizado para iniciar procesos de multiplicación *in vitro* de plantas, en cultivares de plátano (*Musa spp.*).
- Determinar diferencias en la tasa de multiplicación *in vitro*, de dos cultivares de plátano (*Musa spp.*).

### **1.3. Justificación**

Debido a la importancia que ha tomado el cultivo, y consecuentemente la demanda de material de siembra, es imprescindible disponer de herramientas tecnológicas confiables y altamente eficientes para la multiplicación masiva de plantas de los diferentes cultivares de plátano que está demandando el sector para la ejecución de planes de renovación, rehabilitación o implementación de nuevas áreas del cultivo. La metodología que se viene aplicando para la propagación *in vitro* si bien permite la multiplicación de plantas de varios cultivares de plátano (AAB), ésta no permite alcanzar las frecuencias de propagación obtenidas con los cultivares de banano (AAA), lo cual es explicable si se consideran que los cultivos pertenecen a grupos genéticos diferentes.

Consecuentemente con lo señalado, mediante este trabajo de investigación, se busca determinar los factores relacionados con el explante inicial que se conoce constituye un factor que podría estar influenciando en los bajos niveles de inducción de yemas y brotes laterales, observados a nivel de laboratorio con varios cultivares de plátano. Y por tanto en los niveles de propagación, a efectos de disponer de una metodología eficiente que permitan la propagación masiva de los mismos.

Los resultados obtenidos serán de gran aporte para el agro y el área de investigación del sector platanero del país, los cuales se presentan como alternativas eficientes en la multiplicación *in vitro* de plantas de plátano.

**CAPITULO II**  
**CONTEXTUALIZACIÒN TEORICA DE LA INVESTIGACIÒN**

## **2.1. Marco conceptual**

### **2.1.1. Origen y distribución del plátano (*Musa spp.*)**

El plátano (*Musa spp.*) es una especie originaria del suroeste asiático, perteneciente a la familia de las musáceas. Es un híbrido triploide proveniente del cruce entre de *Musa acuminata* por *Musa balbisiana*. Fue introducido posiblemente en África del este y oeste, entre los años 1000 y 1500 de la era cristiana (Chavarría y López, 2010). La especie llegó a las Canarias en el siglo XV y desde allí fue trasladado a América en 1.516 por las constantes corrientes migratorias de la época (Reyes, 2007).

La mayor área para cultivos de plátano en el país, se encuentra en el cantón el Carmen de la provincia de Manabí, Ecuador. Existen alrededor de 40.000 hectáreas de este cultivo dedicadas a la exportación. La producción anual en Manabí representa aproximadamente el 45,10% respecto a la producción nacional y alrededor del 70% de la producción de la región Costa. Esta superficie cultivada le convierte a este cantón en el primer productor y exportador de plátano, y el segundo en América del Sur. Además, constituye el mayor exportador del producto hacia Estados Unidos y Europa. Los plataneros de la zona de El Carmen tienen grandes ventajas respecto a los productores de otras regiones del país. Entre ellas pueden considerarse el clima y las condiciones del suelo que favorecen el desarrollo del cultivo; cuya producción es fuente generadora permanente de empleo directo e indirecto. La demanda se da tanto interna como externamente, y se considera que aún hay disponibilidad de tierras aptas para incrementar el área del cultivo, en caso de tener perspectivas favorables de demanda del producto (Cedeño *et al.*, 2018).

De acuerdo a estadísticas de comercio exterior reportadas por el Banco Central, Ecuador ocupa el segundo lugar entre los países exportadores de plátano; abasteciendo el 17% de las importaciones de la fruta a nivel mundial. Durante el periodo 2013 – 2017, las exportaciones de plátano ecuatoriano han presentado una tasa de crecimiento promedio anual del 5.8% en volumen, siendo los Estados Unidos el destino principal, seguido por el bloque de países de la Unión Europea, dentro del cual las principales plazas son Bélgica con un 66%, España (14%) y Holanda (10%). Lo anteriormente mencionado permite afirmar que el cultivo del plátano se ha constituido en un cultivo de creciente importancia socioeconómica para el país

(Cedeño *et al.*, 2018). Según datos aportados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (MAG, 2017), resulta significativo el número de pequeños productores que se dedican a este cultivo en la región y que sustentan su economía dicha producción, estos representan aproximadamente el 67% de todos los productores de plátano del cantón el Carmen y alrededor del 57% de las hectáreas plantadas.

### **2.1.2. Clasificación taxonómica general del plátano**

- División: Magnoliophyta
- Clase: Monocotiledónea (herbácea)
- Orden: Escitaminales
- Familia: *Musaceae*
- Género: *Musa* (Méndez, 2014)

#### **2.1.2.1. Descripción botánica**

El plátano es una planta herbácea, perteneciente a la familia de las musáceas, que consta de un tallo subterráneo (cormo o rizoma) del cual brota un pseudotallo aéreo; el cual emite raíces y yemas laterales que formaran los hijuelos (Carvajal, 2011). Los bananos y plátanos son monocotiledóneas de porte alto, originadas de cruces intra e inter-específicas entre *Musa acuminata* Colla (genoma A) y *Musa balbisiana* Colla (genoma B) que pertenecen a la familia Musaceae. Estas especies diploides provienen de los genomas A y B, respectivamente (Nadal, 2009).

##### **a. Sistema radicular**

Está conformado por raíces adventicias, fasciculadas y fibrosas, la mayor parte se desarrollan entre los 20 a 60 centímetros del suelo. La longitud está influenciada por la textura y estructura del suelo y aparecen en grupos de 3 a 4, miden de 5 a 10 mm de grosor y pueden alcanzar una longitud de más de 5 m si no son obstruidas (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2003).

##### **b. Cormo o rizoma**

Se considera que el cormo es el tallo verdadero de la planta, el cual es subterráneo, con ramificaciones monopódicas de donde se originan las hojas que parten del meristemo apical

o punto vegetativo que se encuentra en la parte superior del rizoma. El tallo está formado por muchos entrenudos cortos, cubiertos externamente por la base de las hojas y de los nudos que es el sitio desde donde brotan las raíces adventicias. Un cormo bien desarrollado puede tener de 25 a 40 cm de diámetro y pesar de 6.9 a 11.5 Kg, de acuerdo con el clon y la edad de la planta. Los cormos que se usan para la reproducción en las siembras comerciales tienen un peso que varía de 0.5 a 1.5 Kg (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2003).

### **c. Sistema foliar**

Está formado por cuatro partes que son: ápice, limbo, seudopecíolo y vaina. El Ápice es un órgano foliar temporal, que puede alcanzar una longitud de 6.5 a 8.5 cm. El Limbo u hoja posee forma ovalada, con extremo apical romo o cónico y en número de  $38 \pm 2$  hojas hasta su parición. El seudopecíolo que es la porción de la hoja que une la vaina con la nervadura central y cumple la función de soportar y permitir la divergencia de las láminas foliares.

La vaina que es la estructura foliar que se origina en la túnica meristemática apical del tallo subterráneo formando una estructura erecta, cilíndrica denominada pseudotallo y cumple una función de soporte del sistema foliar, el tallo aéreo y la inflorescencia (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2003).

### **d. La inflorescencia y el racimo**

La inflorescencia inicia una vez ocurrida la diferenciación que conduce a la formación del racimo. Una vez que el ápice de la inflorescencia aparece en la parte superior de la planta (la chira o bellota), el proceso en el cual las brácteas se empiezan a levantar secuencialmente dejando en descubierto las manos, dura alrededor de 15 días. El racimo está formado por frutos partenocarpicos, (sin polinización) cuyo desarrollo está condicionado única y exclusivamente por la acumulación de la pulpa en las paredes internas del pericarpio (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2003).

### **e. Factores agroclimáticos del cultivo de plátano**

El plátano es una planta adaptada a regiones tropicales que poseen un clima húmedo y cálido. La altitud apta para su siembra es de 0 a 400 msnm, moderado de los 400 a 800 msnm y no

apto mayor a los 800 msnm. La temperatura óptima para el desarrollo del cultivo es entre los 20 y 30 °C, la moderada de 30-35 °C y no apto inferior a 20 y mayor a 35 °C. Se recomienda sembrar el plátano en aquellas zonas cuya precipitación oscila entre 1800 y 3600 mm de promedio anual (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2003).

### **2.1.3. Accesiones de plátano**

#### **2.1.3.1. Dominico Hartón (*Musa* AAB Simmonds)**

Al igual que otros clones del género *Musa*, el plátano Dominico Hartón (*Musa* AAB Simmonds) es un clon resultante del cruzamiento de *Musa* balbisiana (B) y *Musa* acuminata, (A) (Ramirez, 2016). Es una especie triploide, estéril partenocárpico, cuya reproducción y perpetuación de la especie es a través de la propagación vegetativa o asexual.

Las “semillas” utilizadas para la siembra corresponden a partes vegetativas como retoños, rizomas o hijos con tamaños y edades variables, lo que se traduce en marcadas diferencias en la época de maduración y cosecha (Florio, 2010). El racimo producido es de 78.5 cm de largo y pesa 15 kg en promedio, contiene alrededor de 7.5 manos igualmente separados 4.5 dedos por mano los cuales son grandes en forma de un cuerno (Quispe, 2010).

#### **2.1.3.2. Hartón (*Musa* AAB)**

El plátano cuerno o Hartón es un fruto de la familia Musaceae, especie *Musa* AAB con características diferentes a otras variedades de la misma familia, ya que este fruto es más grande con una forma alargada, levemente curva, con un peso aproximado de 390 gramos con cáscara, de cáscara gruesa y pulpa rosada, posee un sabor amargo en crudo con un ligero sabor dulce debido a que no contempla hidratos de carbono sencillos en su composición (Flores, 2018).

Como parte de las estrategias de mejoramiento del cultivo, se ha efectuado caracterización morfológica del germoplasma del tipo Falso Cuerno. En base a su posterior multiplicación y selección, básicamente con cultivares de porte alto, y la agrupación de estos, de acuerdo con las características del racimo y de sus frutos, permitió la conformación de dos fenotipos. El primero de ellos, estuvo definido por racimos de menor peso, con menos manos

y frutos, pero estos últimos de mayores dimensiones que se denominó Hartón y el segundo, por racimos de mayor peso, más manos y frutos, aunque de menores dimensiones que se denominó Dominico Hartón (Vargas, 2015).

Las características del racimo de estos fenotipos y su relación con las exigencias de calidad basadas en el grosor y en la longitud del fruto para exportación, respaldan la orientación de la producción de los cultivares del fenotipo Hartón, como fruta fresca para consumo directo y la de los cultivares del fenotipo Dominico Hartón, como materia prima para la industria (Vargas, 2015).

#### **2.1.4. Cultivo *in vitro***

El cultivo de tejidos vegetales es una técnica que consiste en emplear una porción de planta denominada explante, a la que se le brinda todas las condiciones ambientales para que pueda expresar su “potencial intrínseco o inducido”. Esta técnica es conocida como propagación *in vitro*, porque se lleva a cabo en frascos o recipientes transparentes, se desarrolla en condiciones estériles empleando una dieta balanceada en nutrientes y hormonas, contenida en un medio de cultivo que busca la regeneración de órganos, tejidos e incluso plantas enteras (Méndez, 2014).

Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales en musáceas mediante yemas apicales de hijuelos, constituyen una de las prácticas más importantes de la biotecnológica para la obtención de grandes volúmenes de plantas de plátanos y bananos libre de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas, así como para la propagación clonal de plantas sanas, por su estabilidad genética y en la conservación e intercambio de germoplasma (Medina *et al.*, 2015)

Mora, (2017), indica que la técnica de multiplicación que se utilice y el rendimiento de la propagación, pueden tener consecuencias en las siguientes etapas y en su comportamiento *ex vitro*. Las condiciones culturales en las cuales crece el explante son el resultado de la interacción de tres factores: el estado del explante o material vegetal, determinado en parte por el medio de cultivo, el recipiente de cultivo y el ambiente externo o condiciones de crecimiento del cuarto de cultivo. La capacidad de respuesta de los explantes a un mismo

medio de cultivo cambia con el número de subcultivos, el tipo de explante subcultivado y el método del repique.

#### **2.1.4.1. Etapas del cultivo *in vitro***

Dentro del proceso de micropropagación de plantas de especies musáceas mediante métodos organogénicos se diferencian varias fases o etapas, a saber:

##### **a. Selección y preparación de la planta madre**

Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades (Castillo, 2008).

##### **❖ Desinfección del material vegetal**

Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia. A efectos de obtener las condiciones de asepsia, se trabajará en cabinas de flujo laminar para extraer los explantes a partir del material vegetal.

Estos explantes se introducirán en un tubo de cultivo conteniendo medio de iniciación para poder controlar la sanidad y la viabilidad, luego de realizar la desinfección del material con hipoclorito de sodio 4% (agua clorada comercial), pura o diluída durante un período de 5 a 15 minutos, seguido por 3 a 4 enjuagues en agua esterilizada (Castillo, 2008). Saltos (2017), menciona que en la etapa de desinfección el material seleccionado debe enjuagarse con agua y jabón líquido.

## ❖ Medios de cultivo

Por su parte, el medio de cultivo se compone de una mezcla de sales minerales, vitaminas reguladoras de crecimiento, carbohidratos, agua y agar. La composición del medio depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación (Chavarría y López, 2010).

En el caso de la micropropagación de musáceas, generalmente se ha utilizado el medio Murashige y Skoog (1962), adicionados con vitaminas, sacarosa, reguladores de crecimiento (BAP benzilaminopurina) y gelificando generalmente con agar o phytigel, convirtiéndose en el medio más usado en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales (Anexo 1) (Flores, 2010). Los reguladores de crecimiento más comúnmente usados son IBA, 2,4-D, AIA, ANA y picloram, y las citocininas BA, CIN, ZEA, y TDZ. El rango de concentración empleado varía con el regulador del crecimiento, así es que el 2,4-D, por ejemplo se utiliza en concentraciones de 4-35  $\mu\text{M}$  mientras que otra auxina como él IBA, tiene un rango de 0,1 a 2  $\mu\text{M}$  (Saltos, 2017).

## Factores ambientales

### • Luz

Quispe (2010), menciona que es un estímulo para la orientación del crecimiento de hojas y tallos, debido a su importancia en el proceso fotosintético, en el cultivo de tejidos vegetales es uno de los factores principales que determinan el desarrollo de los organismos autótrofos. Los aspectos relacionados con la luz que son importantes en los cultivos *in vitro* son: la cantidad de luz (irradiación), la calidad de la luz (espectro) y la alternancia de los ciclos de luz con los de oscuridad (fotoperiodo).

### • Temperatura

La temperatura en condiciones *in vitro* usualmente se mantienen entre 24 – 26 °C, pero depende de la especie con la que se esté trabajando, así es posible hacerlo con temperaturas bajas como 18°C ó altas de 28 - 29°C para especies tropicales en condiciones *in vivo*. Pudiendo utilizar bajas o muy bajas temperaturas para detener el crecimiento en cultivo *in vitro* (Quispe, 2010).

## **b. Fase de establecimiento**

El objetivo de esta fase es lograr el establecimiento de cultivos axénicos y fisiológicamente vigorosos para posteriormente iniciar el proceso de multiplicación (Galan *et al.*, 2018). Luego de realizar la desinfección mantener los explantes dentro de una caja Petri con solución Benlate - Cisteína al 5% (fungicida y antioxidante, respectivamente). Reducir al tamaño final establecido 1 cm de longitud, asegurando una buena porción de la parte basal del explante. Sembrar los ápices individualmente en forma vertical y sobre el medio de cultivo Murashige y Skoog al 50% (M&S), en tubos de ensayo que contengan 25 ml del medio de inducción (Castillo, 2008). Al culminar la siembra *in vitro* de los explantes, los tubos de ensayo deberán ser colocados en un lugar oscuro por 10 días para evitar oxidación y posteriormente llevar a fotoperiodo 16/8 hasta completar 28 días a partir del día de siembra. A los 28 días de siembra se romperá la dominancia apical, tomando el ápice y disectando justamente por la mitad en forma longitudinal, sembrando los explantes de manera que el corte realizado quede en contacto con el medio para estimular los brotes laterales.

## **c. Fase de multiplicación**

Sandoval (1991) citado por Saltos (2017), menciona que una vez establecidos los explantes, estos son transferidos al mismo medio de iniciación, pero se aumenta la concentración de citoquinina para estimular la formación y multiplicación de brotes. El periodo de formación de brotes laterales es de aproximadamente 45 días. Posteriormente, se pueden establecer ciclos de multiplicación cada 22 días. Además, menciona que se debe considerar que la tasa de multiplicación varía dependiendo del genotipo.

## **d. Fase de enraizamiento**

Los brotes que tengan un tamaño aproximado de 2cm, son separados individualmente y colocados en un medio de enraizamiento, que permite la obtención de plantas completas. Para esta fase se suprime el BAP en el medio de cultivo y no es necesario inducir enraizamiento, ya que la emisión radicular es espontánea, obteniéndose una planta completa en un período de 25 a 30 días. Una vez que ocurre la formación de raíces y la emisión foliar, las plantas están aptas para su transferencia a condiciones de invernadero (Saltos, 2017).

#### **e. Fase de aclimatación**

Sharry, Adema y Abedini (2015), citado por Saltos (2017), mencionan que esta etapa es conocida como de endurecimiento, se remueven las plantas del frasco de cultivo y el residuo de gelificante adherido a las raíces se lava con agua corriente; luego, las plantas se siembran en recipientes plásticos o en bolsas de polietileno de color negro, con suelo de adecuada textura, preferiblemente esterilizado. Inicialmente, las plantas requieren de una alta humedad relativa y deben colocarse durante las primeras tres semanas, en un ambiente húmedo y con 75% de sombra.

#### **2.1.4.2. Experiencias del cultivo in vitro de musáceas**

La propagación *in vitro* de musáceas según Macías y Sotomayor, (1984), el cultivo in vitro de ápices de banano constituye un método de propagación asexual eficaz que permite una rápida multiplicación en gran escala a partir de una sola planta. La propagación puede realizarse durante todo el año y ser programada para facilitar la disponibilidad de material de siembra, permitiendo también la conservación y el intercambio internacional de germoplasma. Quindio, (1997), manifiesta que la propagación *in vitro* de plátano es un cultivo que se hace en condiciones estériles y se realiza tomando de la planta el ápice vegetativo; posteriormente se lleva a un frasco que contiene un medio nutritivo que le garantiza su desarrollo igual que si estuviera in vivo (campo).

En caracterización de las variedades de plátano Vargas, (2015), nos dice que: las variables de crecimiento y producción fueron medidas en tres experimentos desarrollados en el Caribe de Costa Rica, donde se compararon, en plátanos del tipo Falso Cuerno (Musa AAB) y para un primer ciclo de cultivo, dos fenotipos con sus respectivos cultivares (experimentos 1 y 2) además de cinco tipos de materiales de siembra (experimento 3). Los cultivares del fenotipo Hartón presentaron racimos de menor peso, con menos manos y frutos ( $p < 0,0001$ ), pero estos últimos de mayores dimensiones ( $p < 0,0073$ ) que aquellos del fenotipo Dominico Hartón.

Como título de investigación: Nuevo protocolo para la rápida inducción de yemas adventicias y la regeneración de plantas en banano cv. 'Grande naine' (Musa AAA), García

*et al.*, (2006), resume: Fue desarrollado un protocolo para la rápida formación de yemas adventicias en banano cv. ‘Grande naine’ y el desarrollo de plantas. Varias concentraciones y 1-phenil-3-(1, 2,3-thidiazol-5-yl) urea de 6-Bencilaminopurina (TDZ) fueron estudiadas en el medio de cultivo para la inducción de estas estructuras y se evaluaron cuatro tamaños de explante para la multiplicación. Los explantes de 1.0 mm<sup>3</sup> fueron seleccionados para la multiplicación y un medio de cultivo compuesto por las sales MS, 1.0 mg.l<sup>-1</sup> de tiamina y 2.0% de sacarosa para la regeneración de plantas, alcanzando valores de 96%.

Según López, (2015), El cultivo in vitro es una herramienta invaluable que promueve una serie de ventajas, por ejemplo, dar soluciones a los inconvenientes que conlleva la propagación de cultivos estériles debido a su condición de triploides, como es el caso del Barraganete. Por consiguiente, el objetivo de este proyecto es estandarizar un protocolo de cultivo in vitro para producir eficientemente la biomasa del plátano (*Musa* spp. AAB) variedad Barraganete, con el propósito de dejar una puerta abierta para las diferentes aplicaciones que se puedan generar a futuro como la clonación de plantas con características agronómicas muy deseables durante todo el año, la producción de nuevos híbridos y la obtención de plantas transgénicas, entre otras.

Con el propósito de evaluar el comportamiento in vitro de ápices de plátano *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón “Doble Tallo”; Uzcátegui *et al.*, (2010) indica que para realizar su investigación, colectaron 20 cormos de ambos clones para su iniciación en cultivo in vitro en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum”. El medio de cultivo empleado es el Murashige y Skoog (1962) suplementado con vitaminas de Morel (100 ml/l); como reguladores hormonales se utilizó N<sup>6</sup>-bencilademinopurina para la fase de establecimiento y ácido indolbutírico (1.30 mg/l) en la fase de enraizamiento. Los ápices de *Musa* AAB cv. Hartón manifestaron una respuesta fisiológica positiva al establecimiento, con un promedio de cuatro rebrotes por explante, una oxidación fenólica en el grado de moderadamente oxidado y un porcentaje de muerte por necrosis del 25%, obteniendo plántulas aptas para ser aclimatadas a los seis meses de iniciado el ensayo. Por su parte el plátano Hartón “Doble Tallo”, obtuvo una respuesta tardía en comparación al *Musa* AAB cv. Hartón, observándose unas estructuras parecidas a callos; una oxidación más pronunciada (65%) de explantes necróticos. Al finalizar el ensayo, 36 plántulas fueron aclimatadas, 27 en estado de brotación y 19 explantes en enraizamiento para

Musa AAB cv. Hartón, a diferencia del Hartón “Doble Tallo” los cuales formaron 5 callos que aún permanecen en brotación.

### **2.1.4.3. Principales problemas en el cultivo *in vitro***

#### **a. Oxidación fenólica**

Quispe (2010), indica que la liberación de fenoles al medio de cultivo, que reaccionan con el oxígeno del frasco, produciendo una coloración rojiza, amarillenta o café. Los compuestos fenólicos actúan como inhibidores del crecimiento emitidos por el propio explante, capaces de causar el envejecimiento y muerte del mismo. Se han documentado incluso diferencias en los grados de oxidación entre los cultivares de una misma especie. (Monzón, 2005), indica que los compuestos fenólicos son exudados por la herida del tejido hacia el medio, a la vez son atrapados por el gelificante y acumulados, formando un área negra alrededor del explante, causando la inhibición del crecimiento. La oxidación de compuestos fenólico en cultivo *in vitro* son catalizados por la enzima polifenol oxidasas (PPO) que producen quinonas, que son compuestos químicos reactivos y propensos a reaccionar, causando daño e incluso la muerte celular. Ancasi *et al.*, (2016) señala que en la etapa de establecimiento *in vitro* en algunas especies es necesario agregar al medio de cultivos antioxidantes para evitar la oxidación del explante o medio de cultivo. Los antioxidantes más usados en el plátano son el ácido ascórbico, ácido cítrico y L-cisteína, estos compuestos se utilizan antes del establecimiento del material o adicional al medio de cultivo.

#### **b. Contaminación**

La contaminación en cultivo *in vitro* según Quispe (2010), es ocasionada por fallas en la esterilización del medio de cultivo o instrumentos, ineficiente desinfección del material, manipulación inadecuada y presencia de contaminantes endógenos, cuya incidencia aumenta en las estaciones de mayor humedad relativa.

Se ha señalado la influencia del tamaño del explante inicial en la incidencia de contaminación y se ha comprobado que en la medida que el tejido es más pequeño y más cercano al meristema apical las poblaciones de microorganismos disminuyen (Florio, 2010).

#### **2.1.4.4. Tamaño del cormo.**

El tamaño del cormo en plátano que se corresponde a su edad fisiológica, juega un papel fundamental en la determinación de la medida necesaria para su uso, ya sea como material para la siembra directa, así como para el establecimiento de cultivos asépticos, control de la exudación fenólica y capacidad de respuesta del cultivo a la propagación *in vitro*. Al respecto y con el fin de lograr un equilibrio entre estos parámetros (Arun y Bohra, 2018), señala que se requiere la identificación de tamaño apropiado/edad.

#### **2.1.4.5. Explante**

El termino explante se define como un fragmento de una planta (célula, tejido u órgano; el ápice, una hoja o segmento de ella, segmento de tallo, meristemo, embrión, nudo, semilla, antera, etc.), que se escinde y se prepara de forma aséptica para su cultivo en un medio nutritivo (Jimenez, 2017).

Al respecto Santos y Bernardino, (2016) señala que con el empleo de un corte longitudinal al micro-cormo hasta el domo apical y sin corte transversalmente del seudotallo, se logra un incremento significativo del número de brotes por explante. Adicionalmente, proporciona plantas de mayor altura, requeridas para ser transferidas a la fase de enraizamiento en medios de cultivo líquidos. Se ha señalado también la influencia del tamaño del explante inicial en la incidencia de contaminación y se ha comprobado que en la medida que el tejido es más pequeño y más cercano al meristemo apical, las poblaciones de microorganismos disminuyen (Porteles *et al.*, 2017).

Mora (2017), menciona que el estado de desarrollo de la planta madre y la edad fisiológica del explante, así como su tamaño, son de gran influencia en el éxito del cultivo *in vitro*. El tamaño del explante es otro factor que influye ya que mientras más pequeño es el explante menor el riesgo de contaminación. Así mismo Quindío, (1997) contribuye mencionando que el tamaño del explante influye mucho el éxito del cultivo de tejidos, los explantes muy pequeños presentan alta mortalidad y crecen lentamente, por otro lado, los explantes grandes muestran mayor porcentaje de ennegrecimiento y contaminación. La capacidad morfogénica y los coeficientes de proliferación de los explantes cultivados bajo las condiciones *in vitro* tradicionales, son desuniformes y dependen de factores endógenos tales como el tamaño y

el estado fisiológico del explante utilizado, así como de factores externos como la consistencia de los medios utilizados y el número de subcultivos a los que se someten los explantes originales (García, 2015).

**CAPITULO III**  
**MÉTODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización

La presente investigación se efectuó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos del Departamento de Biotecnología de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicada en la provincia de Los Ríos en el Km 5 vía Quevedo - El Empalme.

La Estación se encuentra ubicada a una altitud promedio de 75 msnm y posesionada geográficamente en las coordenadas 01°05'24'' latitud Sur y 79°28'06'' longitud Occidental. La temperatura media anual es de 25°C, con 2.223 mm de precipitación, 85% de humedad relativa y 898 horas sol.

### 3.2. Tipo de investigación

Se realizó una investigación de tipo experimental, mediante la cual se evaluaron dos tamaños de explantes en dos cultivares de plátano (*Musa spp.*), que permitieron identificar el mejor tamaño y cultivar para la multiplicación *in vitro*.

### 3.3. Métodos de la investigación

En la presente investigación se aplicaron los métodos inductivos, deductivos, analítico y de observación teniendo en cuenta la literatura mencionada en este proyecto.

**Inductivo:** en la delimitación de las variables, además con este método se construyó información relevante y generalizada sobre el efecto de los diferentes tamaños de explantes en la tasa de multiplicación *in vitro* de cultivares de plátano (*Musa spp.*).

**Deductivo:** este método se aplicó partiendo de lo general a lo específico, a fin de identificar el efecto de los diferentes tamaños de explantes en la tasa de multiplicación *in vitro* de plátano, basándose en generalidades existentes en diferentes fuentes de información.

**Analítico:** Se aplicó para el análisis e interpretación de los datos y resultados obtenidos.

### 3.4. Fuentes de recopilación de datos

Para la siguiente investigación se recopiló información a través de observaciones directas mediante la medición de diferentes variables así como también otras fuentes como libros, revistas, tesis, boletines divulgativos y publicaciones científicas.

### 3.5. Diseño de la investigación

#### 3.5.1. Material vegetal

El material vegetal requerido para el estudio fue proporcionado por el Programa de Banano Plátano y otras Musáceas de INIAP, el cual se seleccionó de lotes experimentales establecidos con los cultivares Hartón y Dominico-Hartón en la Estación Experimental Tropical Pichilingue.

#### 3.5.2. Tratamientos

Se estudió un total de 4 tratamientos, resultantes de la combinación de los cultivares de plátano (Dominico Hartón y Hartón) y dos tamaños de explantes (0,5-1,0 y 1,5-2,0) cm, más dos testigos, mismos que corresponden al procedimiento y metodología actual utilizada para la propagación de plantas *in vitro* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Tratamientos en estudio para multiplicación *in vitro* de plátano.

Tratamientos	Cultivares	Tamaño explante (cm)
T1	Dominico Hartón	0,5 – 1,0
T2	Dominico Hartón	1,5 – 2,0
T3	Hartón	0,5 – 1,0
T4	Hartón	1,5 – 2,0
Testigo1 (T5)	Dominico Hartón	1,0-1,5
Testigo2 (T6)	Hartón	1,0-1,5

#### 3.5.3. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 4 repeticiones, en el mismo que la unidad experimental inicial se conformó por un tubo de ensayo con 25ml de medio de cultivo de inducción MS (Anexo 1) conteniendo una yema apical (meristemo). A partir de esta se

manejaron todos los explantes obtenidos hasta el cuarto repique o corte, previo a las fases de desintoxicación y enraizamiento de plántulas.

### 3.5.4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se aplicó un Análisis de varianza, el mismo que mostró que existía significancia estadística, lo cual indicó la necesidad de la utilizar la prueba de Tukey al 95% y permita ver diferencia entre las media de los diversos tratamientos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de varianza.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Tratamientos	3
Testigo 1 vs resto	1
Testigo 2 vs resto	1
Error Experimental	18
TOTAL	23

### 3.6. Manejo del experimento

Se utilizó la metodología de propagación propuesta por (Castillo, 2008), ajustada y modificada por INIAP (2013, 2014), consistente en las siguientes fases:

#### 3.6.1. Selección y preparación de material vegetal

Se realizó la selección de plantas madres vigorosas y sin la presencia de síntomas de enfermedades, o agentes contaminantes.

Se seleccionaron hijuelos apropiados con una altura no mayor a 1.20 cm, con hojas aun no desarrolladas. A nivel de invernadero, se redujeron a un tamaño de 5 x 5 cm, evitando lastimar el meristemo (Figura 1). Una vez terminado el proceso de preparación en invernadero se conservó los cormos en condiciones frescas (agua y cloro comercial), mientras se inicia el proceso de desinfección.



**Figura 1.** Selección y preparación de los cormos de plátano (Dominico Hartón y Hartón).

### 3.6.2. Desinfección de materiales

Desinfectantes: Jabón neutro, alcohol al 96%, Hipoclorito de sodio al 3% (invernadero), solución Benlate-Cisteína (B-C) al 5%.

Se eliminó vainas foliares dejando el rizoma hasta de un tamaño de 3 x 3 cm, para inmediatamente lavar con agua corriente más jabón neutro y sumergirlos en alcohol al 96% durante 20 segundos en contante agitación. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada y dentro de la cámara de flujo laminar (Anexo 2) se sumergieron los explantes en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 10 minutos. Finalmente se realizaron 3 enjuagues con agua destilada y esterilizada durante 4 minutos cada uno para eliminar residuos de cloro (Figura 2).



**Figura 2.** Desinfección del material vegetal, cormos de plátano D. Hartón y Hartón.

### 3.6.3. Fase de establecimiento

Se mantuvieron los explantes dentro de una caja petri con solución B-C al 5% (Benomil–Cisteina, respectivamente), mientras son recortados hasta el tamaño final establecido de acuerdo a los tratamientos, asegurando una buena porción de la parte basal del explante (Anexo 3). La siembra se realizó individualmente en forma vertical y sobre el medio de cultivo Murashige y Skoog al 50% (M&S) modificado, en tubos de ensayo con 25 ml de medio de establecimiento (Figura 3).



**Figura 3.** Establecimiento de explantes de dos cultivares de plátano (Dominico Hartón y Hartón).

Al culminar la siembra *in vitro* de los explantes, los tubos de ensayo se colocaron en un lugar oscuro por 10 días para evitar oxidación y posteriormente llevar a fotoperiodo 16/8 (en cuarto de crecimiento con luz blanca fría a una intensidad lumínica de  $40 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$ ), temperatura de  $25 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ , (Porteles *et al.*, 2017) (Anexo 9) hasta el momento de ruptura de dominancia la cual se realizó a los 28 días después de la siembra (dds), tomando el ápice y disectando justamente por la mitad en forma longitudinal.

Si hay suficiente desarrollo antes de los 28 dds, se procedió a la ruptura de dominancia, anotando los días requeridos por ese explante/tratamiento en particular. La siembra de los explantes se realizó de manera que el corte realizado quede en contacto con el medio para estimular los brotes laterales. La siembra se realizó en frascos o contenedores descartables (tarrinas de 125 ml de capacidad), conteniendo 40 ml de medio de multiplicación MS2 (Figura 4).



**Figura 4.** Ruptura de dominancia apical sobre explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).

#### **3.6.4. Fase de multiplicación**

A los 42 - 45 días de romper la dominancia apical, se realizó el primer corte o repique dividiendo los explantes en segmentos que incluyan yemas apicales y/o laterales, que se sembraron en recipientes de plástico autoclave (tarrinas) conteniendo 70 ml de medio (MS2). Se colocaron dos o tres segmentos por tarrina, dependiendo de la reacción del explante. Si hay suficiente desarrollo antes de los 42 - 45 días de romper la dominancia apical, se procedió a realizar el primer repique.

El segundo repique se lo realizo a los 21 días después del primer repique y luego cada 21 días, hasta un cuarto subcultivo. Los explantes se sembraron en el segundo medio de multiplicación MS/2, el cual contenia además 4 ml BAP L<sup>-1</sup> (BAP 1mg/ml) (Anexo 5). Se utilizaron tarrinas de 250 ml conteniendo 150 ml de medio, sobre los cuales se colocaron no más de 20 explantes/ tarrina, a efecto de dejar espacio para el desarrollo de los respectivos brotes.

A partir del tercer repique, no era necesario que en cada repique se limpie completamente la parte necrosada de la base del explante, basta con que una parte limpia entre en contacto con el medio de cultivo, lo importante era asegurar que las yemas no sean eliminadas en el momento de limpiar el explante.

### **3.7. Datos registrados**

En cada corte o intervención efectuada a los explantes durante las diferentes fases del proceso de propagación, se registraron los datos de las siguientes variables:

#### **3.7.1. Porcentaje de contaminación**

El porcentaje de contaminación se evaluó, por el número de explantes que presenten contaminación sea bacteriana o fúngica. Esto se evaluó mediante observación de estructuras que presentan los microorganismos. Los datos se expresaron en porcentaje por tratamiento de acuerdo al número de repeticiones contaminadas en relación al total de repeticiones de tratamientos.

#### **3.7.2. Días a la ruptura de dominancia**

Se contabilizó el número de días transcurridos desde la siembra *in vitro* del explante inicial, hasta el momento de ruptura de dominancia del mismo. Se entiende por ruptura de dominancia apical al corte vertical que se ejecuta al explante inicial para detener el crecimiento radial y promover la activación de yemas laterales.

#### **3.7.3. Número de explantes a ruptura de dominancia**

Se registró el número de explantes resultantes del corte efectuado al momento de la ruptura de dominancia en cada uno de los meristemas. El vigor del explante y el desarrollo de yemas ayudan a definir el tamaño de explantes los cuales podrían ser de 1x1 cm.

#### **3.7.4. Número de explantes con yemas laterales**

Antes de iniciar el proceso de cada repique/corte se registró el número de explantes con abundante presencia de yemas laterales y los oxidados. Los datos se registrarán como número de explantes por recipiente (Figura 5).



**Figura 5.** Explantes con presencia de yemas laterales.

### 3.7.5. Número de explantes/repique

Bajo los protocolos establecidos cada 21 días se registró el número de explantes resultantes del proceso de corte o repique de los mismos, para promover la activación de nuevas yemas. Los datos relacionarán el número explantes con abundantes yemas laterales previas al corte y el total de explantes finales/repique (Figura 6).



**Figura 6.** Explantes obtenidos del proceso de repique, en un nuevo medio de cultivo.

### 3.7.6. Factor de propagación

En cada repique, se calculó el número promedio de explantes resultantes del proceso de corte de los mismos. Se considerará el número de explantes sembrados en el corte previo y los presentes en el siguiente corte. Mediante la fórmula de Coeficiente de Multiplicación =  $N^{\circ}$ . explantes totales/  $N^{\circ}$ . explantes iniciales (Pérez *et al*, 2014).

### **3.8. Recursos humanos y materiales**

#### **3.8.1. Recursos humanos**

En el presente Proyecto de Investigación se con los siguientes recursos humanos:

El Ing. Iván Garzón en calidad de tutor del Proyecto de Investigación, quien dirigió todo el proceso realizado en laboratorio de cultivos de tejido del departamento de Biotecnología en INIAP.

El Dr. Fernando Abasolo Pacheco como director del Proyecto de Investigación, quien dirigió el mismo.

#### **3.8.2. Recursos Materiales**

##### **3.8.2.1. Reactivos**

###### **Macronutrientes**

- ❖ Nitrato de amonio  $\text{NH}_4\text{NO}_3$
- ❖ Nitrato de potasio  $\text{KNO}_3$
- ❖ Sulfato de magnesio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- ❖ Fosfato de potasio  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- ❖ Calcio  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

###### **Stock de hierro**

- ❖ Na-EDTA  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- ❖ Sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

###### **Micronutrientes**

- ❖ Ácido bórico  $\text{H}_3\text{BO}_3$
- ❖ Sulfato manganoso  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- ❖ Sulfato de zinc  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- ❖ Molibdato de sodio  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- ❖ Sulfato cúprico  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- ❖ Cloruro de cobalto  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

- ❖ Ioduro de potasio KI

### **Vitaminas**

- ❖ Mio inositol
- ❖ Glicin
- ❖ Nicotínico
- ❖ Piridoxina
- ❖ Tiamina

### **3.8.2.2. Materiales de laboratorio**

- Medio de cultivo
- Alcohol
- Cloro
- Phytaghel
- Jabón neutro

### **3.8.2.3. Equipo de laboratorio**

- Balanza analítica
- Estufa
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Tubos de ensayo
- Cajas Petri
- Mechero
- Pinzas
- Medidor de pH

### **3.8.2.4. Oficina**

- Marcadores de CD
- Bolígrafo
- Computadora

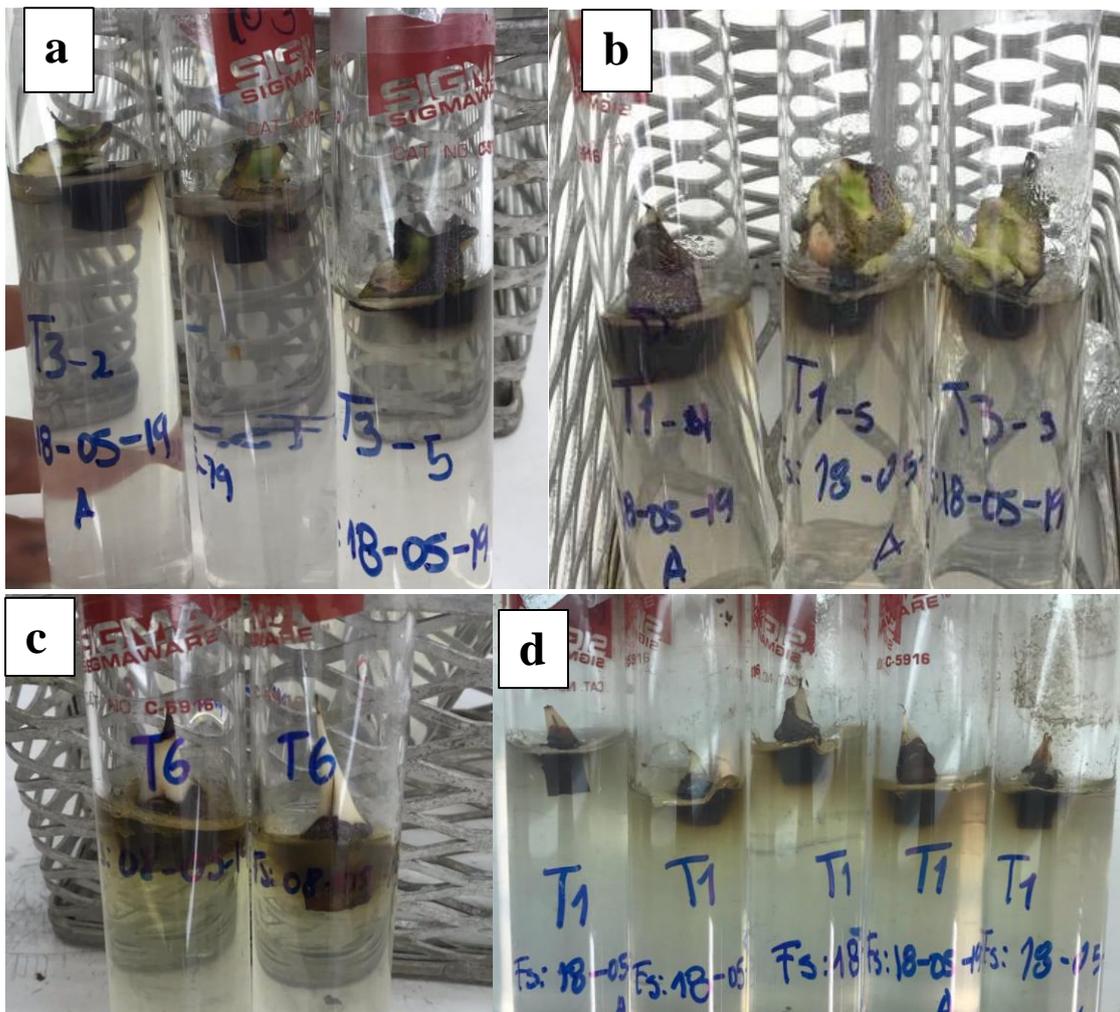
**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Resultados

### 4.1.1. Fase de establecimiento aséptico

#### 4.1.1.1. Porcentaje de contaminación

Al evaluar la variable porcentaje de contaminación en la fase de establecimiento, se muestra que los tratamientos, no presentaron diferencia estadística significativa, con 100% de explantes libres de agentes contaminantes, a lo cual se atribuye que el proceso de desinfección fue eficiente (Figura 7).



**Figura 7.** Tratamientos en la fase de establecimiento, sin presencia de agentes contaminantes. (a) Cultivar Hartón y tamaño de explante de 0,5-1,0 cm (b-d), cultivar Dominic Hartón y explante de 0,5-1,0 cm, (c) control 2.

## 4.1.2. Fase de multiplicación

### 4.1.2.1. Explantes con ruptura de dominancia apical

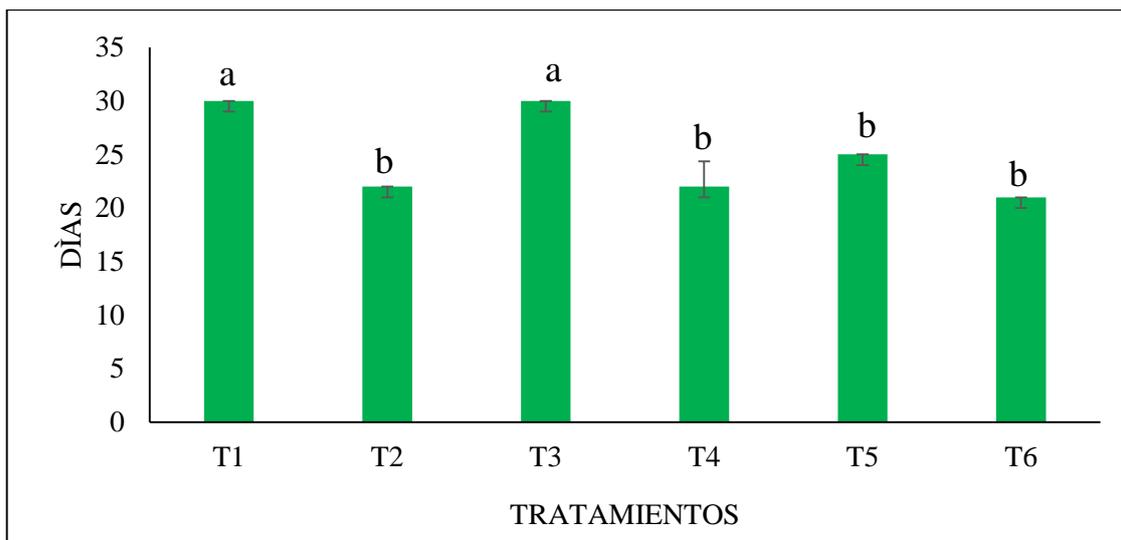
Para la variable explantes obtenidos de ruptura de dominancia apical, no se presentó diferencia estadística significativa, obteniéndose dos explantes después del primer corte en todos los tratamientos, mostrando que el tamaño de explante no influye en esta fase del proceso de cultivo *in vitro*, en los cultivares de plátano Dominico Hartón y Hartón (Figura 8).



**Figura 8.** Explantes obtenidos de ruptura de dominancia apical, de plátano (Dominico Hartón y Hartón).

### 4.1.2.2. Días a ruptura de dominancia apical

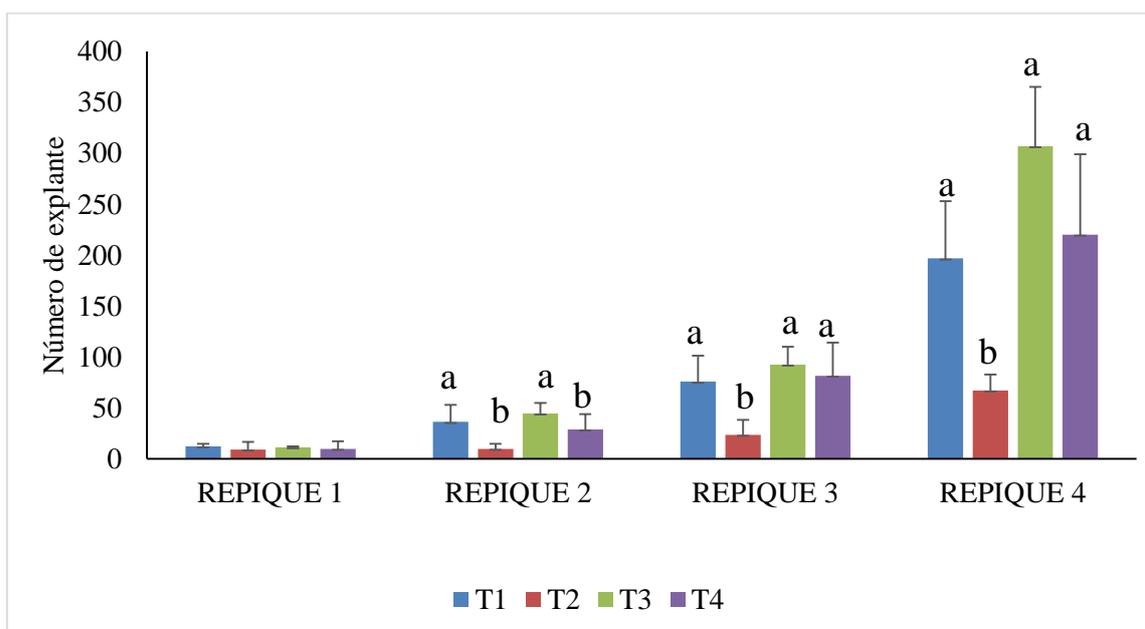
En esta variable los tratamientos mostraron diferencia significativa, los explantes de 0,5-1,0 cm fueron los que requirieron de mayor tiempo para estar llegar a un desarrollo óptimo para realizar el corte o ruptura de dominancia apical, esto se puede reflejar debido a que menor tamaño le tomara mayor tiempo obtener el desarrollo necesario para realizar el corte, mientras que los cultivares no influyeron en el periodo de tiempo requerido para el primer corte o ruptura de dominancia apical (Figura 9).



**Figura 9.** Días a ruptura de dominancia apical, de dos tamaños de explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).

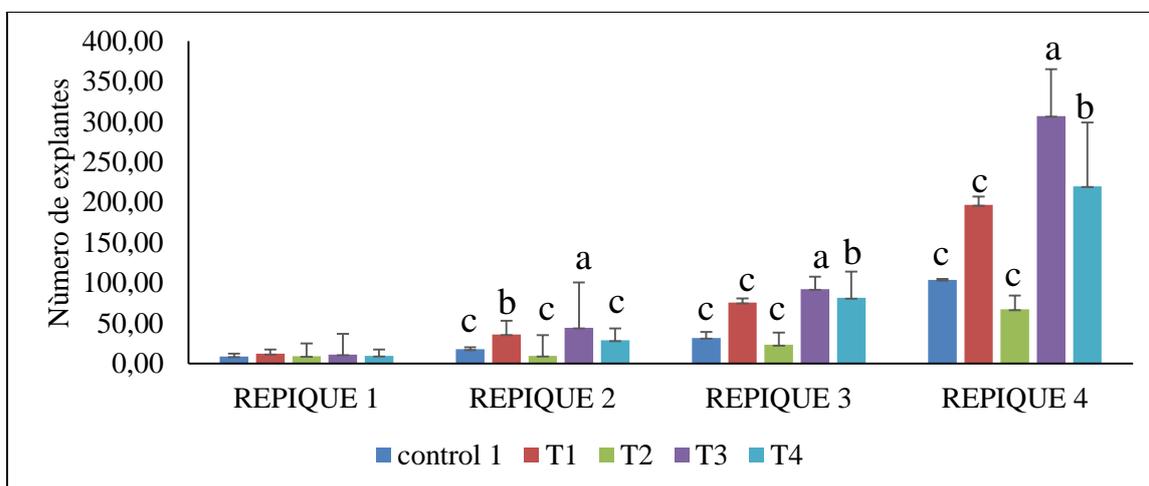
#### 4.1.2.3. Número de explante por repique

Los tratamientos presentaron significancia estadística para la variable número de explante por repique, siendo el T3 (cultivar Hartón, con tamaño de explante inicial 0,5-1,0 cm), el que presentó mayor respuesta en la fase de multiplicación con 307 explantes obtenidos en el cuarto repique, en igualdad estadística con los tratamientos 1 y 4 (Figura 12).



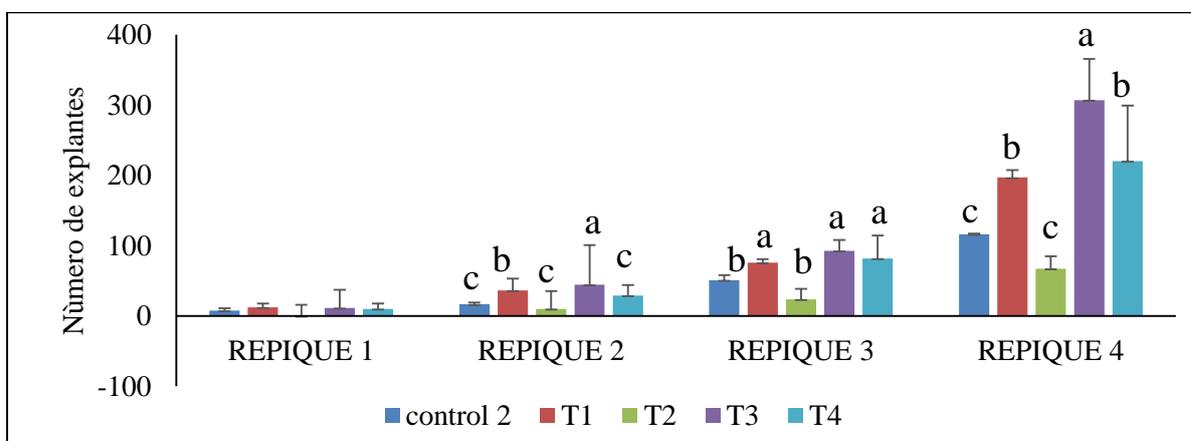
**Figura 10.** Número de explantes obtenidos por repique, de dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales.

Para la variable número de explante por repique, el comportamiento del testigo 1 frente a los tratamientos en estudio mostro diferencia estadística significativa, presentando baja estimulación de yemas laterales con un promedio de 104 explantes, frente al tratamiento #3 que presento un promedio de 307 explantes al cuarto repique (Figura 13).



**Figura 11.** Número de explantes obtenidos por repique, de dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales, frente a un testigo1.

El comportamiento del testigo dos frente a los tratamientos estudiados, para la variable número de explante por repique demostró diferencia estadística significativa, presentando baja estimulación de yemas laterales con un promedio de 116.25 explantes, frente al tratamiento #3 que presento un promedio de 307 explantes al cuarto repique (Figura 14).



**Figura 12.** Número de explantes obtenidos por repique, en dos cultivares de plátano, y dos tamaños de explantes iniciales, frente a un testigo2.

Para la variable número de explantes con yemas laterales se mostró diferencia estadística significativa, siendo el tratamientos #3 el que alcanzo la mayor proliferación de las mismas, con un promedio de 79 explantes listos para un cuarto repique, promoviendo así alcanzar una alta tasa de multiplicación *in vitro* (tabla 3).

**Tabla 3.** Número de explantes con yemas laterales de plátano (Dominico Hartón y Hartón) con dos tamaños de explantes.

Tratamientos	MEDIA		
	REPIQUE 1	REPIQUE 2	REPIQUE 3
T1	12.00±2.94 a	33.75±13.18 b	52.50±24.96 b
T2	7.00±4.97 b	9.75±4.99 c	23.00±14.85 b
T3	11.25±0.96 b	41.75±8.22 a	79.00± 7.79 a
T4	4.50± 2.58 b	27.50±12.37 c	76.00±26.73 a
T5	8.25±1.71 b	17.75±9.07 c	27.50±17.92 b
T6	7.00±3.46 b	16.50±5.20 c	46.50±17.79 b
<b>p-valor</b>	0.03	0.00	0.00

#### 4.1.2.4. Factor de propagación

Para esta variable, el número de brotes alcanzados para los tratamientos estudiados no presento diferencia estadística significativa, sin embargo, se observó mayor regeneración de brotes en el T3, cultivar Hartón y tamaño de explante 0,5-1,0 cm, presentando un promedio de 3.41 brotes por cada explante (Tabla 4).

**Tabla 4.** Factor de propagación de dos cultivares de plátano (Dominico Hartón y Hartón) con dos tamaños de explantes.

Tratamientos	REPIQUE 1	REPIQUE 2	REPIQUE 3	REPIQUE 4
T1	6.12	2.89	2.23	2.65
T2	4.63	1.21	2.36	3.61
T3	5.63	3.95	2.17	3.41
T4	4.88	3.63	3.01	2.77
T5	4.5	1.94	1.69	3.3
T6	3.75	2.59	3.21	2.33
<b>P-valor</b>	0.7	0.05	0.05	0.28

## 4.2. Discusión

Los resultados obtenidos en el establecimiento aséptico de los tratamientos en estudio mostraron que el proceso de desinfección aplicado tiene 100% de eficiencia al no encontrar presencia de agentes contaminantes tanto bacterianos como fúngicos, a su vez se puede atribuir a el estricto control de limpieza del área antes de proceder a iniciar el establecimiento respetando las medidas establecidas en la técnica del cultivo in vitro.

Se logró obtener una alta regeneración de brotes con abundantes yemas lateral con explantes entre 0,5 y 1,00 cm como tamaño inicial, estos resultados son similares a los de Florio *et al.*, (2010), que manifiesta, que durante la fase de iniciación del plátano, el mejor desarrollo de los ápices se obtuvo mediante el cultivo de ápices caulinares de 5 mm de longitud en el medio de Murashige y Skoog (MS). Así mismo Canchignia *et al.*, (2008) mencionan que con explantes de 5 mm se puede obtener una gran cantidad de explantes sanos, los autores mencionan que dicho efecto es resultado del control eficiente de bacterias endógenas que presentan las musáceas. Colmenares y Giménez (2007) citado por Méndez, (2014) señalaron, que la longitud óptima de los ápices caulinares para el cultivo in vitro de bananos (AAA) y plátanos (AAB) debe encontrarse en un rango de 3 a 5 mm y cultivados en medios sólidos, principalmente para evitar el incremento de la contaminación por organismos patógenos. Galan *et al.*, (2018) consideran 0,5 cm como el tamaño más apropiado del explante para garantizar un proceso de propagación eficiente.

En base a los resultados obtenidos en esta investigación sobre el factor de propagación, se puede concordar con Canchignia *et al.*, (2008), ya que se obtuvieron entre 2.33 hasta 3.61 brotes por explante y Canchignia menciona que para la regeneración de brotes en maqueño se pudo obtener hasta 2.5 brotes por explante, esto difiere con lo obtenido por Canchignia y Ramos, (2004) quienes en plátano barraganete obtuvieron 5.25 brotes por explante, este efecto se debe principalmente a la variabilidad que existe entre una misma especie y a las concentraciones hormonales que ejercen de distinta manera para cada individuo, lo cual concuerdan con Conam (2005), quien expresa que la población de una especie vegetal, no existen individuos que tengan la misma información genética (ADN), que se conoce como variabilidad genética, lo que influye a la variación de las concentraciones hormonales en la regeneración de brotes. Con esta misma información se puede atribuir el por qué la diferencia

en la tasa de multiplicación obtenida de los cultivares de plátano Dominico Hartón y Hartón en este estudio, siendo el cultivar Hartón con mejor respuesta al proceso de propagación *in vitro*, obteniendo el mayor número de explantes.

Una de las ventajas que podrían presentar los explantes entre 0,5-1,0 cm, es que absorben mayor cantidad de solución de benomil y cisteína al 5% (5mg/100ml), previo a la fase de establecimiento aséptico lo cual reduce el nivel de oxidaciones fenólicas en la primera parte de la fase de multiplicación, presentándose a partir del segundo repique, provocando la disminución de explantes con yemas laterales, y a su vez disminuyendo el número final de plántulas; lo cual podría darse por el mayor número de corte que se realizan y se lastima el meristemo, de acuerdo con Monzón (2005), indica que los compuestos fenólicos son exudados por la herida del tejido hacia el medio, a la vez son atrapados por el gelificante y acumulados, formando un área negra alrededor del explante, causando la inhibición del crecimiento.

Se observó contaminación a partir del tercer repique, lo cual se pudo ocasionar por el manejo de un número más grande de explantes lo cual indica mayor manipulación de los materiales (pinzas, tarrinas). La presencia de agentes contaminantes ya sean bacterias u hongos en los cultivos *in vitro* se debe a varios factores, entre los que sobresalen la asociación del explante a su medio, así como por las condiciones de la introducción y la fuente origen del material vegetal; de ahí la importancia de obtener un material vegetal adecuado para usarlo como explante, así mismo Ancasi (2016), menciona que la contaminación, más que matar a los explantes directamente, invade el cultivo haciendo que el explante no sea apto para su micro propagación.

**CAPITULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. CONCLUSIONES

Para iniciar procesos de multiplicación *in vitro* en los cultivares de plátano Hartón y Dominico Hartón, el tamaño óptimo de explante es de 0,5-1,00 cm de longitud.

Los cultivares de plátano presentaron diferencias en la tasa de multiplicación *in vitro* en medio sólido Murashige y Skoog, siendo el cultivar Hartón el mejor, presentando un promedio de 307 explantes al cuarto repique, mientras que el cultivar Dominico Hartón alcanzo un promedio de 202 explantes al cuarto repique.

La correcta aplicación del proceso de desinfección ayuda a reducir el porcentaje de contaminación en la fase del establecimiento, con 100% de explantes sanos en todos los tratamientos, al ser un procedimiento que exige medidas asépticas.

Los principales factores delimitantes en la fase de multiplicación son la presencia de oxidación fenólica y agentes contaminantes.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

Continuar con la investigación hasta la fase de aclimatación, con la misma metodología aplicada en este proyecto de investigación, para así poder ver la diferencia en número de plantas finales obtenidas.

Realizar la investigación con mayor número de cultivares de plátano, a fin de mostrar si presentan diferencias en comportamiento en procesos de propagación in vitro.

Evaluar el comportamiento de estas plantas a nivel de campo.

Micropropagar el plátano en medio líquido y sólido para verificar en cual se lograra mejor desarrollo.

**CAPITULO VI**  
**BIBLIOGRAFIA**

## 6.1. Bibliografía

- Ancasi, R., Montero, J., Ferreira, N., y Muñoz, I. (2016). Determinación un mejor medio de cultivo en la fase de establecimiento para la propagación in vitro de plátano (*Musa paradisiaca* L). In *J. Selva Andina Res. Soc* (Vol. 7).
- Arun, A., y Bohra, P. (2018). Factors Governing Success in Shoot Tip Culture of Bananas with Special Reference to Mixed Genomic Groups: an Overview. *Erwerbs-Obstbau*, *61*(1), 9–21. <https://doi.org/10.1007/s10341-018-0391-9>
- Canchignia, H., Toaquiza, P., Ramos, L., Sigcha, E., Carranza, M., Cevallos, O., y Saucedo, S. (2008). Alternativas Para la propagación in vitro de plátano variedad maqueño (*Musa balbisiana* AAB). *Ciencia y Tecnología*, *1*(1), 43–48. <https://doi.org/10.18779/cyt.v1i1.21>
- Carvajal, C. (2011). *Guia Cultivo Platano 2011*. 14, 12.
- Castillo, A. (2008). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA*, 8. Retrieved from: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentoscompartidos/111219220807102417>.
- Chavarría, D., y López, G. (2010). Micropropagación de ápices caulinares en Plátano (*Musa* spp. AAB) cultivar Cuerno Gigante. *Managua, Nicaragua*.
- Conam (2005). *Variabilidad Genética* (en línea). Lima, PE. Consultado el 24 Oct. 2005. Disponible en: [http://portalagrario.gov.pe/rn\\_gene.shtml](http://portalagrario.gov.pe/rn_gene.shtml).
- Flores, D. (2018). Obtención de harina de plátano verde tipo HARTÓN (*Musa* AAB) precocida y fortificada. 78. Retrieved from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16340/1/T-UCE-0008-CQU-027>
- Florio, S., Real, L., y Mogollón, N. (2010). Regeneración in vitro del plátano CV. ‘Hartón

- En Venezuela, el plátano Hartón Gigante “ (*Musa AAB*). 44(4), 425–440.
- Galan, V., Rangel, A., Lopez, J., Hernandez, P., Sandoval, J., y Rocha, S. (2018). Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(4). <https://doi.org/10.1590/0100-29452018574>
- García, C. (2015). “Biorreguladores para la propagación intensiva del banano williams (*Musa AAA Simmonds*) en cámara térmica.” (511), 114.
- García, R., Pérez, P., Bermúdez, I., Orellana, P., Veitía, N., Padrón, Y., y Romero, C. (2006). Nuevo protocolo para la rápida inducción de yemas adventicias y la regeneración de plantas en banano cv. ‘Grande naine’ (*Musa AAA*). *Culture*, 6(1), 15–21.
- Jimenez, A., Gabriel, J., y Ramos, P. (2017). UNESUM Aporta a la Biotecnología de Plantas. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/322900900>
- Jiménez, Z. (2004). Micropropagación de plátano (*Musa AAB*, cv curare) en un medio sustitución de insumos.
- López, V. (2015). Estandarización de un protocolo de cultivo in vitro para el incremento de biomasa de los callos de plátano (*Musa spp. AAB*) variedad barraganete.
- Macías, F., y Sotomayor, I. (1984). Propagación “in vitro” de musáceas. Quevedo, Ecuador.
- Medina, A., Medina, L., y Medina, L. (2015). Propagación in vitro de *Musa acuminata* (*Simmonds*) plátano bocadillo del Chocó, Colombia, a partir del cultivo de meristemos apicales. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.18636/bioneotropical.v5i1.206>
- Méndez, O. (2014). Efectos de cinco dosis de quitosano para el establecimiento in vitro del plátano dominico hartón (*Musa AAB Simmonds*) en la zona de Daule.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2003). Aspectos tecnológicos del plátano. Obtenido de: [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/manual\\_platano\\_04](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_platano_04)

- Monzón, O. (2005). Recomendaciones para mejorar el cultivo de especies agrícolas y forestales en la finca y caserío panimachabac en el municipio de tecpán, chimaltenango (Universidad De San Carlos De Guatemala). Retrieved from <http://sitios.usac.edu.gt/cunsur/wp-content/uploads/2013/07/CICLO-4-TEOR?A-pedagogica-del-nivel-medio>.
- Mora, A. (2017). Establecimiento in vitro de musáceas (AA, AAA, AAB) vía organogénesis directa. Retrieved from <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/3372>
- Nadal, R., Manzo, G., Orozco, J., Orozco, M., y Guzmán, S. (2009). Diversidad genética de bananos y plátanos (*Musa spp.*) Determinada mediante marcadores RAPD. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 1–7. Retrieved from <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/artpdfred.jsp?Icve=61011105001>
- Porteles, M., Torres, J., Rodrigues, D., y Ulacio, D. (2017). Iniciación y multiplicación in vitro de tres variedades de *Musa spp.* Cvs.: ‘Cambur manzano’, ‘Topocho criollo’ y ‘Gran enano’ in vitro | Initiation and propagation of three cultivars of *Musa spp.* Cvs.: ‘Apple banana’, ‘Bluggoe banana’ and ‘Grand nain.’ *Saber*, 29(0), 183–190.
- Quindio, A. (1997). Multiplicación in-vitro de plátano. Quindio.
- Quispe, D. (2010). Evaluación de dos medios de cultivo y diferentes concentraciones de benzil amino purina (BAP) en la multiplicación in vitro de seis accesiones del genero *musa (Musa acuminata y Musa balbisiana)*. (Universidad mayor de San Andrés).
- Ramirez, L. (2016). Modelo sustentable de producción de plátano dominico hartón. Retrieved from [http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21733/46122002\\_2016.pdf?Sequence=1&isallowed=y](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21733/46122002_2016.pdf?Sequence=1&isallowed=y)
- Reyes, V. (2007). El plátano verde llego del Asia a la mesa costeña. Periódico “El Universo”. Guayaquil, Ecuador. Obtenido de: <https://www.eluniverso.com/2007/10/08/0001/18/7CF4E55AEDD44C2385F5CD59>

- Rodriguez, M. (2018). Mercado del plátano en el Ecuador y sus expectativas. Periódico “El Productor” Quito, Ecuador. Obtenido de: <https://elproductor.com/editorial-del-mes/mercado-del-platano-en-el-ecuador-y-susexpectativas/>
- Saltos, I. (2017). “Potencial de propagación in vitro de 20 musáceas (*Musa* AA, AAA, AAAB, AAB, ABB) vía organogénesis directa”. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Santos, F., y Bernardino, S. (2016). Efecto de la forma de corte y división de los brotes sobre la multiplicación in vitro de tres cultivares de plátanos y bananos. Innovation from below: Dynamic Capabilitie of the Territory as a Source for New Social Ventures, pp. P1-6.
- Uzcátegui, P., Hernández, Y., Osorio, D., y Rivas, M. (2010). Evaluación del comportamiento in vitro de ápices de plátano *Musa* AAB cv.Hartón y Hartón Doble Tallo. Produccion Agropecuaria, 3(1), 7–12. Retrieved from [http://www.unesur.edu.ve/unidades/investigacion/prod\\_agrop\\_V1\\_N1.html](http://www.unesur.edu.ve/unidades/investigacion/prod_agrop_V1_N1.html)
- Vargas, A. (2015). Evaluation of cultivars and planting materials in False Horn plantain type under intensively management plantation. Cultivos Tropicales, 36(2), 72–82. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27429.29920>

## **CAPITULO VII**

### **ANEXOS**

## 7.1. Anexos

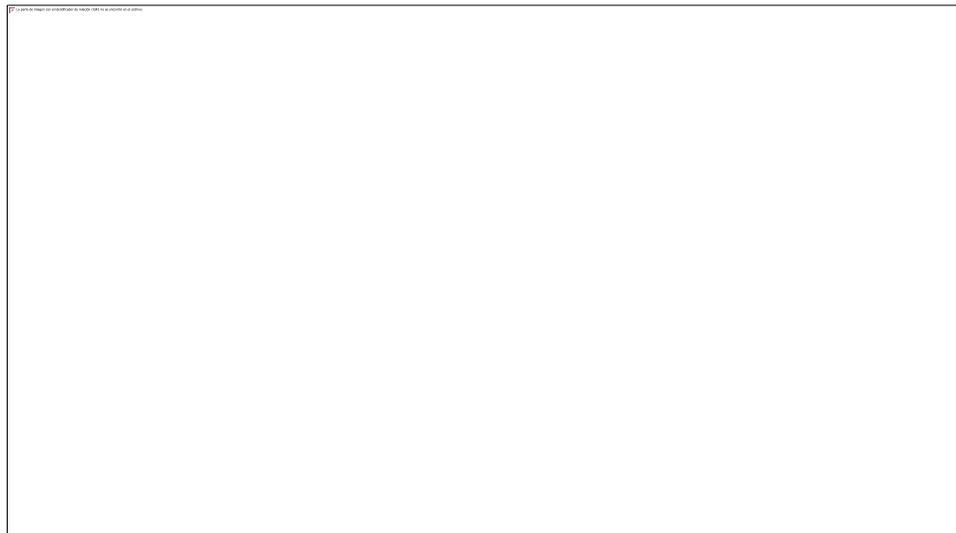
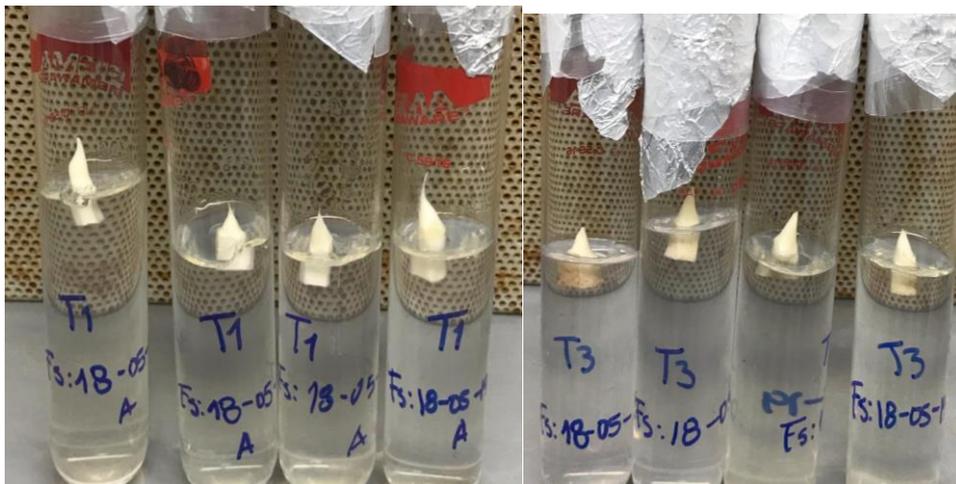
### Anexo 1. Componentes del medio de cultivo Murashige y Skoog MS

Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962)	MS/ 1	MS/2	MS/3	Desintox.	Enraiz.
<b>Componente</b>	<b>Concentración en el medio de cultivo (mg/L)</b>				
<b>Macroelementos</b>					
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650				
KNO <sub>3</sub>	1900				
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370				
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170				
CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	440				
<b>Hierro</b>					
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> 2H <sub>2</sub> O	3730				
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27,8				
<b>Microelementos</b>					
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2				
MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	22,3				
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6				
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25				
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025				
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,025				
KI	0,83				
<b>Vitaminas</b>					
MIO INOSITOL	100				
GLICINA	2				
A NICOTINICO	0,5				
PIRIDOXINA	0,5				
TIAMINA	0,5				
AIA		0,1ml			
BAP		6ml	2ml	4ml	
SACAROSA	30.000				
PHYTAGEL		2100		1900	
IBA					1
CARBON ACTIVADO				0,5	0,5
pH	5,6				

Adaptado de Mogrinski y Roca, 1991, p. 22 (López, 2015).



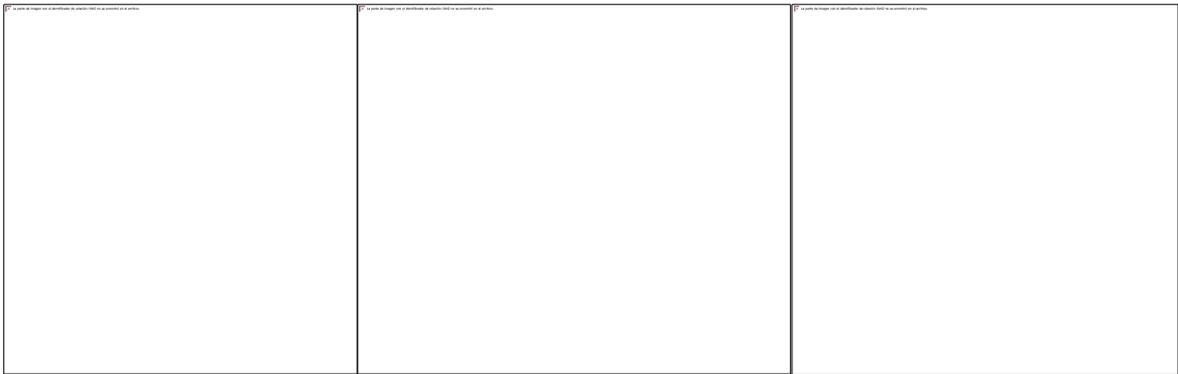
**Anexo 2.** Cámara de flujo laminar preparada para fase de establecimiento de explantes de plátano.



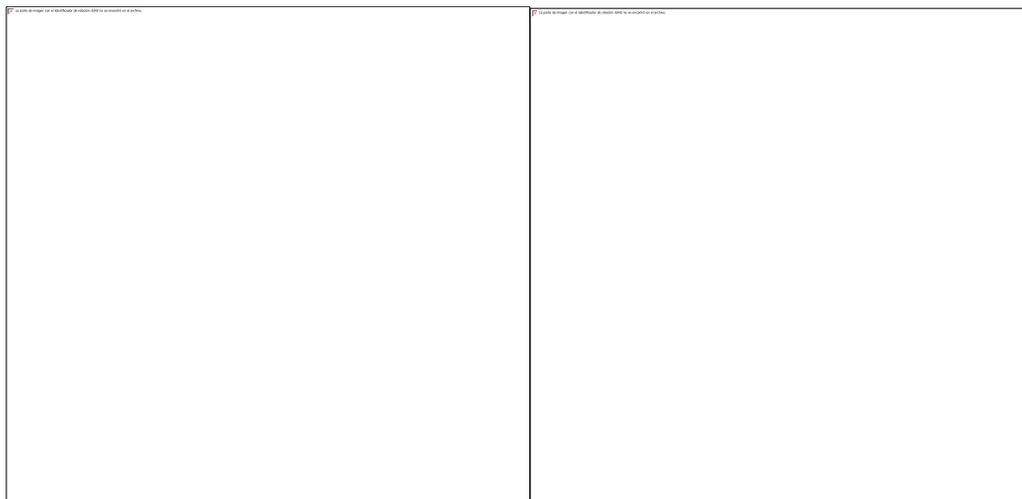
**Anexo 3.** Siembra de dos tamaños de explantes, y dos cultivares de plátano (Dominico Hartón y Hartón).



**Anexo 4.** Ruptura de Dominancia Apical de un explante de plátano.



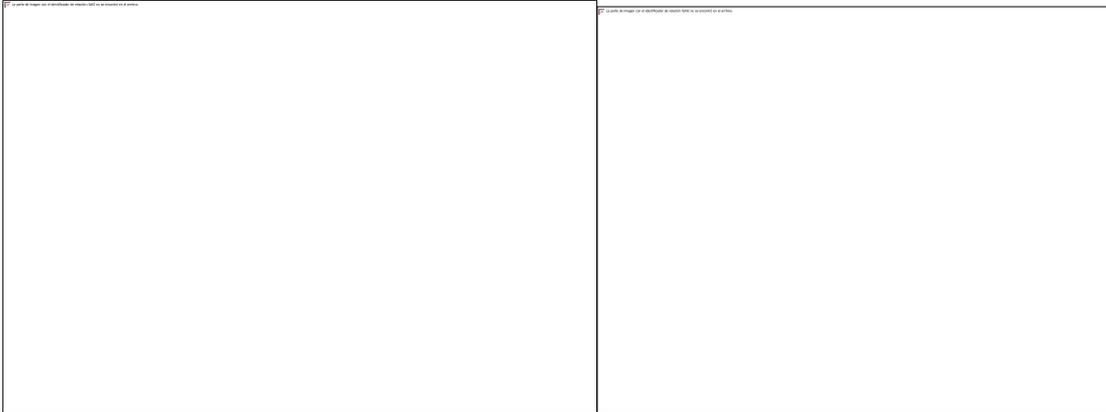
**Anexo 5.** Repique #1 de explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).



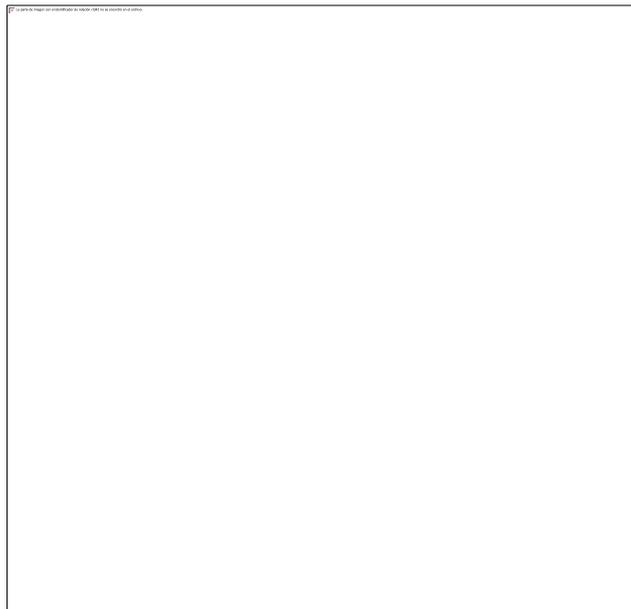
**Anexo 6.** Repique #2 de explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).



**Anexo 7.** Repique #3 de explantes de plátano, (Dominico Hartón y Hartón).



**Anexo 8.** Repique #4 de explantes de plátano (Dominico Hartón y Hartón).



**Anexo 9.** Fase de fotoperiodo.



