

Estudio del comportamiento *in vitro* del cultivar de banano FHIA-01 (AAAB) en la fase de multiplicación

Daymí Ramírez Aguilar*, Juan N. Pérez Ponce, Daniel Agramonte Peñalver, Felipe Jiménez Terry, Martha Pérez Peralta, Odalys Gutiérrez Martínez. *Autor para correspondencia.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento en el medio de cultivo para la fase de multiplicación del cultivar FHIA 01 (AAAB) y el gelificante más eficaz en la fase de multiplicación. Se realizaron varios ensayos donde se estudiaron comparativamente diferentes concentraciones de las auxinas y citoquininas más utilizadas en los medios de cultivos en el género *Musa* analizando su efecto en la formación de brotes, el coeficiente de multiplicación, la emisión de raíces y la altura de las plantas en la fase de multiplicación. Además se compararon diferentes agentes gelificantes para la Fase de multiplicación. Como resultado se obtuvo que el 6 Bencilaminopurina (6-BAP) a razón de 4.0mg.l⁻¹ permitió la formación de mayor número de brotes y un mayor coeficiente de multiplicación. Las auxinas por su parte afectaron de forma general el desarrollo de los indicadores evaluados en la propia fase aunque el ácido indolacético (AIA) fue la auxina que tuvo un mejor comportamiento y el agente gelificante más efectivo para la fase de multiplicación fue el Phytigel.

Palabras clave: Multiplicación de brotes, Reguladores del crecimiento, Agentes gelificantes

ABSTRACT

In the present work different hormonal combinations were evaluated in the way of culture for the phase of multiplication of the cv. FHIA 01 (AAAB) and the most effective gelificante in the phase of multiplication. Several tests were realized where comparatively different doses of the auxinas were studied and citoquininas more used in the medium of cultures in *Musa* analyzing his effect in the formation of outbreaks, the coefficient of multiplication, the emission of roots and the height of the plants in the phase of multiplication. Besides different agents were compared gelificantes for multiplication stage. Since result there was obtained that 6 Bencil aminopurina (6-BAP) because of 4.0mg.l⁻¹ allowed the formation of major number of buds and a major coefficient of multiplication. The auxinas on his part affected of general form the development of the indicators evaluated in the own phase though the acid indolacético (AIA) was the auxina that had a better behavior and the agent gelificante more efectiv for the phase of multiplication was the Phytigel.

Key words: shoot of multiplication, growth of regulators, gelificante agents

INTRODUCCIÓN

En Cuba se ha trabajado en la introducción de cultivares de plátanos y bananos de la Federación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), por su resultados productivos, entre los que se encuentra el cultivar FHIA 01 (AAAB).

Este híbrido conocido como "GOLDFINGER" es derivado del cruzamiento de un diploide resistente a nemátodos (SH-3142) con el "Prata Enano" y es el primer híbrido hecho por el hombre que es resistente a algunas enfermedades que atacan al "Cavendish", además reúne las cualidades necesarias para la exportación.

Para la introducción acelerada de este cultivar en la producción se requiere el empleo de técnicas biotecnológicas.

Por estas razones se llevó a cabo un trabajo investigativo con los siguientes objetivos:

- Estudiar el comportamiento *in vitro* del cultivar FHIA-01 (AAAB) en la fase de multiplicación, con vistas a perfeccionar su sistema de micropropagación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron cuatro experimentos en los que se emplearon explantes procedentes de cuarto subcultivo que se encontraban en un medio de cultivo de multiplicación formado por las sales MS; 4.0 mg.l⁻¹ de 6-Bencilaminopurina (6BAP); 1.0 mg.l⁻¹ de Ácido indolacético (AIA) y 3% de sacarosa, en estado semisólido (agar al 0.7%), en todos los casos el pH se ajustó a 5.8.

En todos los ensayos efectuados se realizaron diez repeticiones por tratamiento y se colocaron diez explantes por frascos de 250 ml de capacidad. Se evaluaron tres subcultivos consecutivos en cada experimento teniendo en cuenta la formación de brotes, el coeficiente de multiplicación, la emisión de raíces y la altura de las plantas (cm).

Influencia de diferentes auxinas en la fase de multiplicación

Se compararon diferentes tipos de auxinas, utilizando tres concentraciones de AIA (0.0; 1.0 y 2.0 mg.l⁻¹) y

dos iguales de Ácido indolbutírico (AIB) y Ácido naftalenacético (ANA), (0.0 y 0.25 mg.l⁻¹) que originaron 12 variantes de medios de cultivo que además contenía sales MS; 4.0 mg.l⁻¹ 6-BAP; Tiamina 1.0 mg.l⁻¹ y 3% de sacarosa.

Tabla 1. Diferentes combinaciones de las auxinas comparadas en el medio de cultivo de multiplicación del cv. FHIA-01 (AAAB).

Tratamiento	AIA (mg.l ⁻¹)	ANA (mg.l ⁻¹)	IBA (mg.l ⁻¹)
1	0	0	0
2	0	0	0.25
3	0	0.25	0
4	0	0.25	0.25
5	1.0	0	0
6	1.0	0	0.25
7	1.0	0.25	0
8	1.0	0.25	0.25
9	2.0	0	0
10	2.0	0	0.25
11	2.0	0.25	0
12	2.0	0.25	0.25

Influencia de diferentes citoquininas en la fase de multiplicación

Se comparó la acción de diferentes citoquininas, utilizando para ello una concentración de 6-BAP (4.0 mg.l⁻¹), una de Kinetina (Kin) (1.0 mg.l⁻¹), dos de 2- Isopentil Adenina (2ip) (1.0 y 2.0 mg.l⁻¹) y cuatro de Thidiazurón (THI) (0.5; 1.0; 2.0 y 3.0 mg.l⁻¹), en un medio de cultivo que además contenía sales MS; 0.65 mg.l⁻¹ AIA; Tiamina 1.0 mg.l⁻¹ y 3% de sacarosa, estas concentraciones se mantuvieron en el medio de cultivo durante tres subcultivos.

Efecto de la combinación del 6BAP, la KIN y el AIA en la fase de multiplicación

Se compararon tres concentraciones de 6-BAP (2.0; 4.0 y 6.0 mg.l⁻¹) y dos iguales de KIN y AIA (0.0 y 1.0 mg.l⁻¹) en un experimento trifactorial originando 12 variantes de medios de cultivo.

Comparación de distintos agentes gelificantes en la fase de multiplicación

Se compararon tres tipos de agentes gelificantes para el medio de cultivo en la fase de multiplicación, Agar, Phytigel y Agargel con las dosis 6.0; 2.0 y 5.0 mg.l⁻¹ respectivamente.

Procesamiento estadístico de los datos

Los datos de los experimentos uno y tres se procesaron mediante un análisis de varianza

multifactorial para tres factores en los datos que manifestaron distribución normal y homogeneidad de varianza, complementándose donde fue necesario con la técnica de polinomios ortogonales.

Los datos del experimento dos no cumplían los requerimientos de normalidad por lo que fueron procesados mediante análisis de varianza de clasificación simple no paramétrico (Kruskal-Wallis), complementándose esta con una prueba de comparación múltiple de medias no paramétricas según la metodología descrita por Sanabria y Avila de Moreno (1989). Los datos del experimento cuatro también fueron procesados por análisis de varianza de clasificación simple. Las diferencias entre las medias fue determinada mediante la prueba de rango múltiple de Duncan para el 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de diferentes auxinas en la fase de multiplicación

En la comparación de diferentes concentraciones de las auxinas (Tabla 2), se demostró que estas influyeron negativamente en la formación de brotes por plantas y en el coeficiente de multiplicación, sin embargo la formación de raíces se vio favorecida lo que constituyó un aspecto negativo en esta fase, lo que coincide con lo referido por Pérez *et al.* (1998).

Tabla 2. Efecto de la combinación de diferentes concentraciones de AIA, ANA y AIB en el medio de cultivo multiplicación del cv. FHIA-01 (AAAB).

Tratamientos	Número de brotes/ planta	Coef. Multiplicación/ planta	Número de raíces/ Frascos	Altura/ plantas (cm)
1 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.44 a	1.82 a	7.6 b	1.19 a
2 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.44 a	1.75 a	10.77 a	1.23 a
3 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.22 b	1.48 b	14.07 a	1.19 a
4 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.36 b	1.67 b	15.17 a	1.15 b
5 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.44 a	1.75 a	12.37 a	1.28 a
6 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.38 a	1.78 a	10.6 a	1.26 a
7 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.26 b	1.53 b	14.1 a	1.13 a
8 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.36 b	1.78 a	13.8 a	1.14 b
9 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.42 a	1.74 a	12.9 a	1.22 a
10 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.53 a	1.82 a	11.67 a	1.23 a
11 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.23 b	1.62 b	14.53 a	1.15 a
12 (0.0mg.l ⁻¹ AIA+0.0mg.l ⁻¹ ANA +0.0mg.l ⁻¹ IBA)	1.26 b	1.63 b	11.47 a	1.12 b

En el análisis de los factores individuales, el AIA fue la auxina que menos afectó la formación de brotes, el coeficiente de multiplicación y la altura de las plantas al no manifestar diferencias significativas.

En tanto el número de brotes, el coeficiente de multiplicación y la altura de las plantas disminuyó con la disminución de la concentración de ANA, que provocó además un

ligero aumento en la formación de raíces (Tabla 3), la marcada influencia de esta auxina en la emisión de raíces en la fase de multiplicación puede ser la causa de la disminución del desarrollo del resto de las variables evaluadas en dicha fase. Con el aumento de las concentraciones de AIB también se encontraron diferencias significativas, lo que influyó en el número de brotes y en el coeficiente de multiplicación (Tabla 4).

Tabla 3. Influencia de las concentraciones de ANA en los indicadores evaluados en la fase de multiplicación del cv. FHIA-21

Dosis de ANA(mg.l ⁻¹)	Número de brotes/ planta	Coef. Multiplicación /planta	Altura/ Planta (cm)	Número de raíces/ planta
0	1.40 a	1.77 a	1.23 a	1.0 a
0.25	1.27 b	1.62 b	1.15 b	1.4 b

* Nivel de significación (p < 0.05)

Tabla 4. Influencia de las concentraciones de AIB en los indicadores evaluados en la fase de multiplicación del cv. FHIA-21.

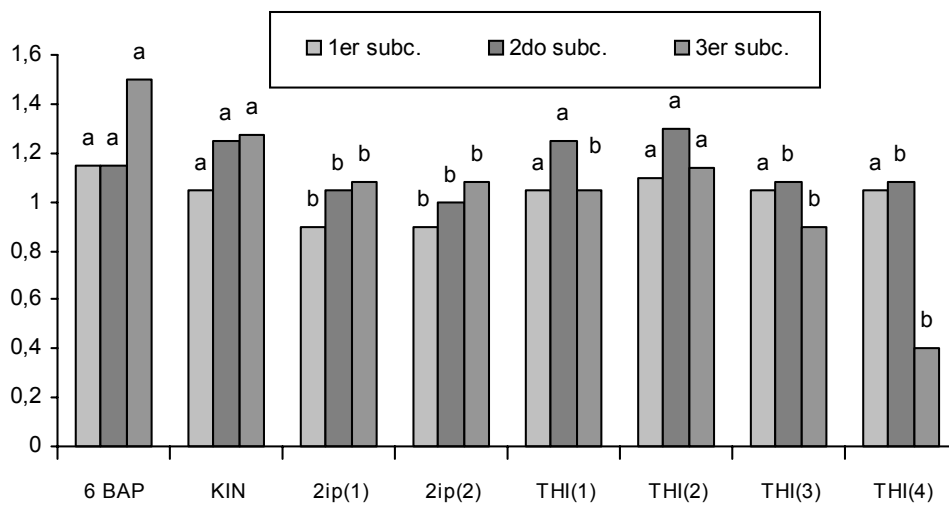
Concentración de AIB (mg.l ⁻¹)	Número de brotes/ planta	Coef. Multiplicación /planta
0	1.40 a	1.74 a
0.25	1.33 b	1.66 b

* Nivel de significación (p < 0.05)

Influencia de diferentes citoquininas en la fase de multiplicación

En los tres subcultivos realizados hubo diferencias significativas en la formación de brotes y el coeficiente de multiplicación, mostrándose en el

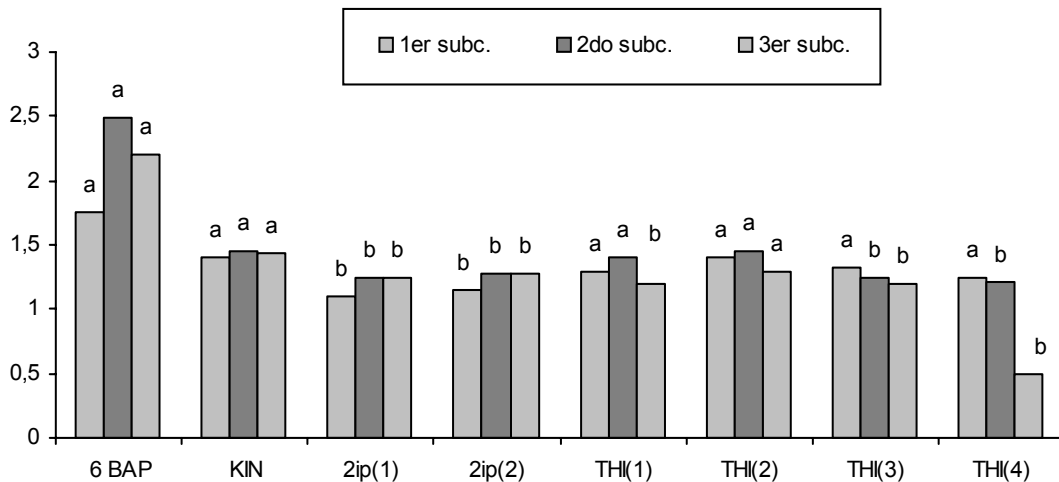
primer subcultivo mejores resultados con la utilización de 4.0 mg.l⁻¹ de 6BAP; 1.0 mg.l⁻¹ de KIN; y THI con las dosis 0.5; 1.0; 2.0 y 3.0 mg.l⁻¹ obteniendo con 4.0 mg.l⁻¹ de 6BAP el mayor número de brotes y coeficientes de multiplicación (Figuras 1 y 2).



Tratamientos

Letras distintas difieren estadísticamente (p<0.05), según Duncan.

Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de citoquininas sobre el número de brotes en la fase de multiplicación del cultivar FHIA-01



Tratamientos

Letras distintas difieren estadísticamente (p<0.05) según Duncan.

Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de citoquininas sobre el coeficiente de multiplicación en la fase de multiplicación del cultivar FHIA-01.

A medida que se incrementó el número de subcultivos disminuyó el número de brotes y el coeficiente de multiplicación con las diferentes concentraciones de THI, que provocaron la formación de yemas múltiples, las cuales se eliminaron durante el proceso. Resultados similares refirió Orellana (1994) para el cultivar FHIA-01 en relación con el comportamiento diferente del coeficiente de multiplicación con el aumento del número de subcultivos.

La Kinetina también promovió la proliferación y ahijamiento en cada subcultivo, pero no fue tan efectiva como el 6 BAP, ya que además provocó la formación de raíces que se mantuvieron desde primer al tercer subcultivo, condición que no favorece el desarrollo en la multiplicación. Comportamiento similar a la KIN mantuvo el 2ip (Figura 3).

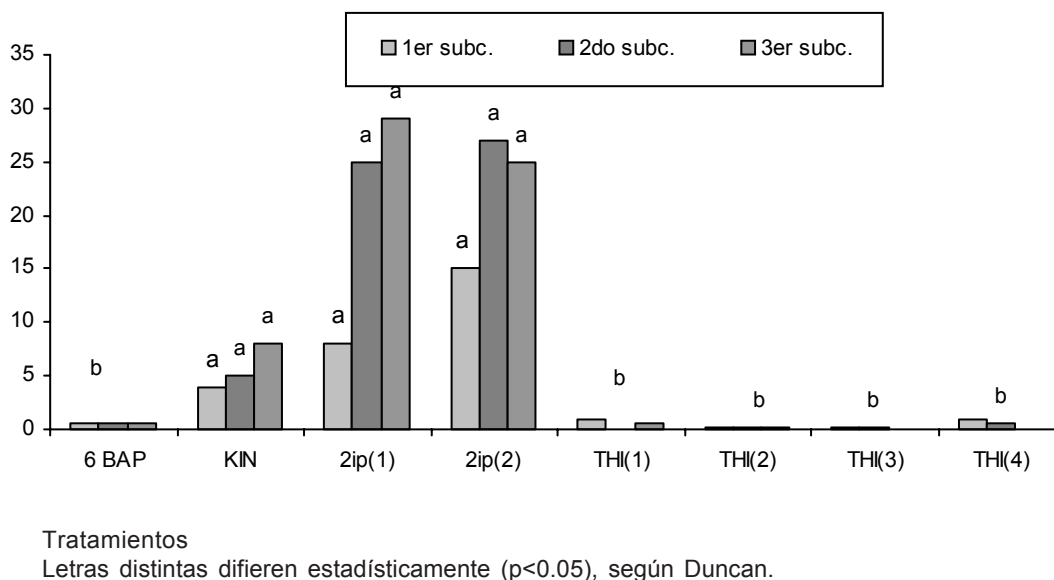


Figura 3. Efecto de diferentes concentraciones de citoquininas sobre la emisión de raíces en la fase de multiplicación del cultivar FHIA-01.

Por otra parte, el 6 BAP favoreció el engrosamiento, así como el alcance de los mayores valores en el indicador altura de los brotes (Figura 4).

Los resultados obtenidos en este experimento indicaron que el 6BAP fue la citoquinina que permitió la formación de las características más adecuadas en la fase de multiplicación del cultivar FHIA-01.

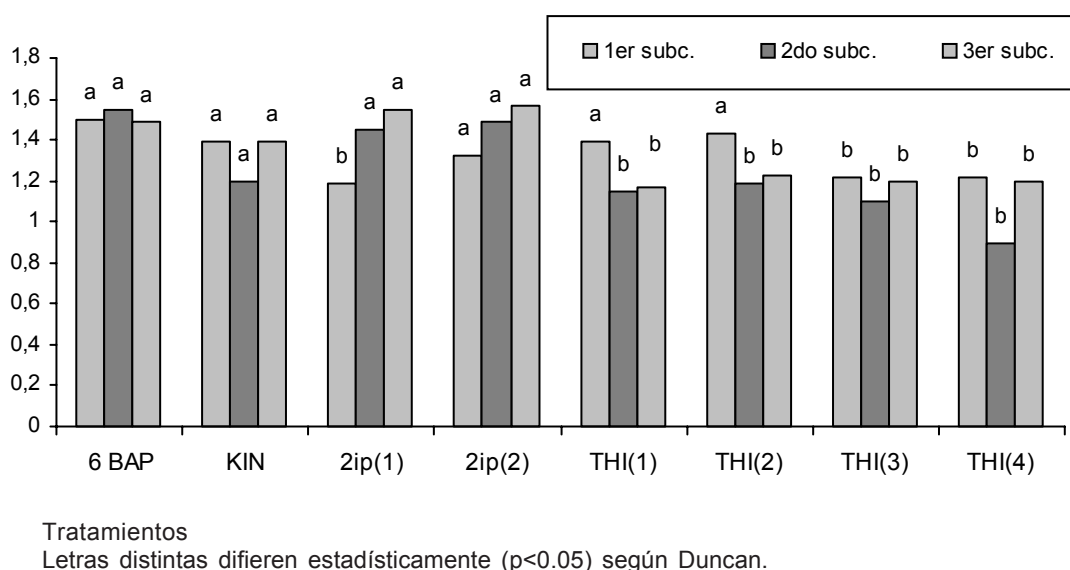


Figura 4. Efecto de diferentes concentraciones de citoquininas sobre la altura de los brotes en la fase de multiplicación del cultivar FHIA-01.

Efecto de la combinación del 6BAP, la KIN y el AIA en la fase de multiplicación

El 6 BAP (4.0mg.l^{-1}) fue el único factor que mostró diferencias significativas (Tabla 5) al comparar el

efecto en la fase de la multiplicación de las citoquininas y auxinas de forma independiente en las variables evaluadas, además no se obtuvieron diferencias significativas en las interacciones entre los factores.

Tabla 5. Influencia del 6BAP en los indicadores evaluados en la fase de multiplicación del cv. FHIA-01.

Factor	Número de brotes/ planta	Coef. de multiplicación/ planta	Número de raíces (X)	Altura/ planta (cm)
6BAP	1.30 **	1.62 **	0.5 ***	1.12

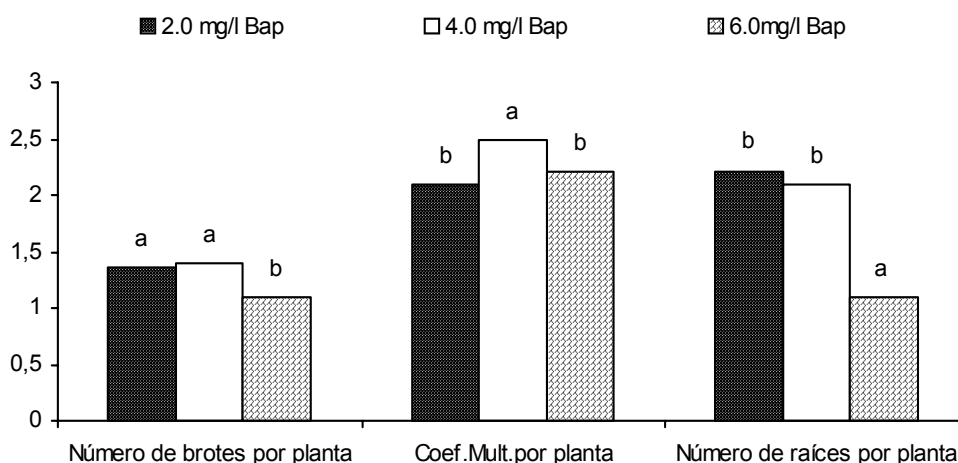
*** $p < 0.001$

** $p < 0.01$

X: Datos transformados por $\log(x+1)$.

Al analizar el número de brotes se observaron diferencias significativas alcanzando el mayor valor con 4.0mg.l^{-1} de 6 BAP, además, se obtuvo una disminución con la mayor concentración aplicada al medio de cultivo lo que pudo estar dado por un exceso en la dosis aplicada provocando la inhibición en el incremento en el número de brotes. En cuanto al coeficiente de multiplicación se encontraron diferencias significativas, se logró el

mayor coeficiente al aplicar 4.0mg.l^{-1} de 6 BAP, en este caso tanto la concentración baja (2.0mg.l^{-1}) como la concentración alta (6.0mg.l^{-1}) influyeron negativamente en el ahijamiento. En cuanto al número de raíces también se encontraron diferencias significativas, se obtuvo la menor formación de raíces a medida que fue más alta la concentración de 6BAP. En tanto las evaluaciones del indicador altura no mostraron diferencias significativas. (Figura 5).



Letras distintas difieren estadísticamente ($p < 0.05$), según Duncan.

Figura 5. Influencia de diferentes concentraciones de 6BAP en la fase de multiplicación del cultivar FHIA -01.

Las mejores respuestas *in vitro* en la fase de multiplicación para el cultivar FHIA-01 se lograron con la aplicación al medio de cultivo 4.0mg.l^{-1} de 6 BAP

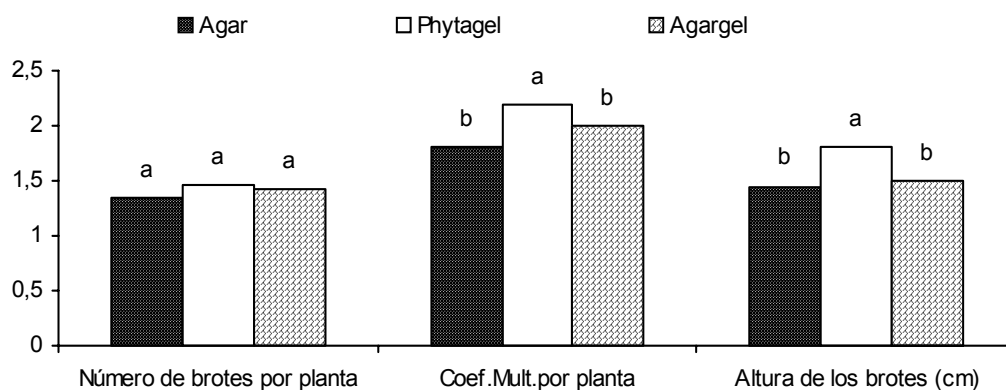
Comparación de distintos agentes gelificantes en la fase de multiplicación

La formación de brotes no estuvo afectada por los diferentes gelificantes utilizados al no existir diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, el coeficiente de multiplicación y la altura de las plantas mostraron diferencias significativas, prevaleciendo en todos los factores evaluados como mejor tratamiento

aquel donde se utilizó Phytigel como agente gelificante (Figura 6).

Varios son los investigadores que plantean que el Phytigel puede sustituir a muchos agentes gelificantes, sin afectar la eficacia de los cultivos empleando diversas técnicas de cultivo (Romberger y Tabor, 1971; Debergh, 1983 y Singha *et al.*, 1985).

Resultados similares a los encontrados en el presente trabajo, refirió Berrantes (1994) en el cv. Curreret Musa (AAB) quien encontró que al solidificar un medio de cultivo, que contenía 4.0mg.l^{-1} de 6BAP, con diferentes agentes gelificantes la mejor consistencia se obtuvo con Phytigel.



Letras distintas difieren estadísticamente ($p < 0.05$) según Duncan.

Figura 6. Influencia de diferentes agentes gelificantes en la fase de multiplicación del cultivar FHIA -01.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados alcanzados en la investigación realizada se concluye que para el cultivar FHIA-01 las mejores respuestas *in vitro* en la fase de multiplicación se lograron con la aplicación al medio de cultivo de 4.0 mg.l^{-1} de 6BAP y con el empleo del Phytigel como agente gelificante.

REFERENCIAS

Berrantes, W, Acuna P (1994) Influencia de la consistencia de medio de cultivo y concentración de 6BAP en la micropropagación

Debergh, PC (1983) Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium. *Physiol. Plantarum* 59: 270-276

Pérez, JN, Orellana P, Suárez M y Valdés C (1998). Propagación masiva en biofábricas (Capítulo 14). En: J N Pérez Ponce (Ed). *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba

Orellana, P (1994) Tecnología para la micropropagación *in vitro* de clones de *Musa* spp. Tesis para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. IBP. UCLV. PP. 1-96

Romberger, JA y Tabor CA (1971) The *Picea abis* shoot apical meristem in culture: Agar and autoclaving effects. *Amer. J. Bot.* 58: 131-140

Sanabria, RJ y Ávila de Moreno C (1989) Prueba no paramétrica para cuando no se cumple el supuesto de normalidad en el ANAVA de una vía. *ICA*, 24(2)

Singha, S, Townsend EC y Oberly GH (1985) Mineral nutrient startur of crabapple and pear shoots cultured *in vitro* on varying concentration of tree commercial agar. *J. Amer. Hort. Sci.* 110: 407-411