



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



INFORME DE REVISIÓN

Se ha realizado el análisis con el software antiplagio de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", por parte del Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, quien deja:

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título es:

Factores que influyen en el establecimiento *in vitro* de *Musa sp.* L. "banano" variedad Williams

Presentado por:

LUZ CLARITA BELLO NOA

Del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** obteniéndose como resultado una coincidencia de **0%** otorgándosele el calificativo de:

APROBADO

Se adjunta al presenta el reporte de evaluación del software antiplagio.

Observaciones:

SE APRUEBA EL PRESENTE TRABAJO POR TENER UNA SIMILITUD MENOR O IGUAL AL LIMITE ESTABLECIDO EN EL REGLAMENTO CORRESPONDIENTE (MENOR A 20%).

Ica, 24 de Abril de 2024

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FAC. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
U.N. "SAN LUIS GONZAGA" ICA

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Ciencias Biológicas



Factores que influyen en el establecimiento *in vitro* de *Musa sp.* L.
“banano” variedad Williams

Línea de investigación: Salud pública y conservación del medio ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR:

BACH. BELLO NOA, LUZ CLARITA

Ica, Perú

2024

DEDICATORIA

A mis queridos padres, por su amor incondicional y apoyo en toda mi formación personal y profesional.

A mi hermana y mi abuela, por su cariño, compañía y ánimo constante.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Msc. Lourdes Tapia y Figueroa, responsable del Área de Cultivo de Tejidos del Instituto de Biotecnología (IBT), de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por haberme dado la oportunidad de realizar el presente trabajo.

Al equipo de trabajo del IBT por toda la ayuda que me brindaron durante mi estancia.

A mis asesores; la Dra. Rosa Bertha Altamirano Díaz y el Dr. Juan Carlos Tantaleán Vásquez por brindarme su orientación y tiempo para llevar a cabo este trabajo de tesis.

Al Ing. Msc. Julián Chura Chuquiya por su apoyo y recomendaciones en el desarrollo de esta investigación.

A las amigas que hice durante mi estadía en el IBT por su compañía y amistad.

A mi Universidad y a todos mis maestros por brindarme la oportunidad de adquirir conocimientos y habilidades valiosas que me han preparado para mi futuro.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.....	5
2.1. Material biológico.....	5
2.2. Evaluación de tratamientos de desinfección.....	5
2.2.1. Diseño experimental.....	5
2.2.2. Preparación del medio basal.....	5
2.2.3. Desinfección del material vegetal.....	5
2.2.4. Siembra de explantes para la evaluación de tratamientos de desinfección.....	6
2.2.5. Parámetros de evaluación.....	6
2.3. Evaluación de tratamientos de regulador de crecimiento y antioxidantes.....	7
2.3.1. Diseño experimental.....	7
2.3.2. Preparación del medio de establecimiento.....	7
2.3.3. Siembra de los explantes para la evaluación del medio de establecimiento.....	8
2.3.4. Procesamiento estadístico de datos.....	8
2.3.5. Respuestas morfoanatómicas evaluadas.....	8
III. RESULTADOS.....	10
IV. DISCUSIÓN.....	25
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. RECOMENDACIONES.....	30
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
VIII. ANEXOS.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Combinaciones entre las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio a distintos tiempos de inmersión.	6
Tabla 2. Combinaciones entre las diferentes concentraciones del regulador de crecimiento BAP con carbón activado, ácido ascórbico y cisteína.....	8
Tabla 3. Escala de los diferentes grados de oxidación para los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.....	9
Tabla 4. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para la altura de explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	22
Tabla 5. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para la anchura de explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	22
Tabla 6. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de brotes de <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	23
Tabla 7. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de hojas <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.....	23
Tabla 8. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de raíces <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad William.	24
Tabla 9. Clasificación taxonómica.....	37
Tabla 10. Medición de los hijuelos de banano variedad Williams.....	37
Tabla 11. Número y porcentaje de explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams sobrevivientes y contaminados sometidos a tratamientos de desinfección, a los 21 días de cultivo.	45
Tabla 12. Número y porcentaje de los diferentes grados de oxidación presentes en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams, sometidos a los tratamientos con bencilaminopurina y antioxidantes, en 48 días de cultivo.	45
Tabla 13. Datos de las diferentes respuestas morfoanatómicas de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams, a los tratamientos con bencilaminopurina y antioxidantes, en 48 días de cultivo.....	46

Tabla 14. Medidas estadísticas resumen de la altura de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp. L.</i> variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	47
Tabla 15. Medidas estadísticas resumen de la anchura de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp. L.</i> variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	47
Tabla 16. Medidas estadísticas resumen del número de brotes de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp. L.</i> variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	47
Tabla 17. Medidas estadísticas resumen del número de hojas de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp. L.</i> variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	48
Tabla 18. Medidas estadísticas resumen del número de raíces de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp. L.</i> variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	48
Tabla 19. Composición del medio MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado por el IBT.	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de sobrevivencia y contaminación de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento, a los 21 días de cultivo.....	10
Figura 2. Grados de oxidación en explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams. A) Grado de oxidación 0, Yema viva de color verde claro; B) Grado de oxidación 1, Yema de color verde amarillento; C) Grado de oxidación 2, Yema moribunda de color amarillo oscuro; D) Grado de oxidación 3, Yema totalmente necrosada de color marrón oscuro o negro.....	11
Figura 3. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams del tratamiento M0, a los 48 días de cultivo. ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 4. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams del tratamiento M1, a los 48 días de cultivo.	12
Figura 5. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Misa sp.</i> L. variedad Williams. del tratamiento M2, a los 48 días de cultivo.....	13
Figura 6. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams del tratamiento M3, a los 48 días de cultivo. ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 7. Altura promedio de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.....	14
Figura 8. Anchura promedio de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.....	15
Figura 9. Número promedio de brotes desarrollados en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento evaluado, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.	16
Figura 10. Porcentaje de brotación de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams, a los 48 días de cultivo.....	17
Figura 11. Promedio de hojas desarrolladas en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.	18

Figura 12. Porcentaje de explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams que desarrollaron hojas, a los 48 días de cultivo.....	19
Figura 13. Promedio de raíces desarrolladas en los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.	20
Figura 14. Porcentaje de explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams que desarrollaron raíces, a los 48 días de cultivo.....	21
Figura 15. Sección longitudinal del rizoma de banano; sh: vainas; s: hijuelo o retoño; gp: punto de crecimiento y cambium; c: corteza; cc: cilindro central; ri: grupo de cuatro raíces iniciales; r: grupo de cuatro raíces emergidas; plt: raquis principal de la hoja; cb: haces centrales. Adaptada de: Khalid, 2018 (50).	38
Figura 16. Partes medidas de un hijuelo de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	39
Figura 17. Medición de la altura y anchura de los explantes <i>in vitro</i> de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	40
Figura 18. Explantes sobrevivientes: A) Tratamiento T1 y B) Tratamiento T2.	40
Figura 19. Explante necrosado de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams.	41
Figura 20. Corte de los hijuelos de <i>Musa sp.</i> L. variedad Williams fuera de la cabina de flujo laminar: A) Primer corte. B) Segundo corte. C) Tercer corte.	42
Figura 21. Diseño experimental para la evaluación de tratamientos de desinfección.....	43
Figura 22. Diseño experimental para la evaluación de tratamientos de regulador de crecimiento y antioxidantes.	44

RESUMEN

La propagación *in vitro* de *Musa sp. L.* “banano”, requiere una etapa de establecimiento para eliminar contaminantes y adaptar el tejido vegetal a las nuevas condiciones de cultivo. El objetivo del presente estudio fue determinar la influencia de factores como el desinfectante, regulador de crecimiento y antioxidantes, en el establecimiento *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams. Para lograr dicho objetivo se evaluaron tratamientos de desinfección con distintas concentraciones y tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio (T0: testigo; T1: 3% NaClO por 15 minutos; T2: 4% NaClO por 10 minutos) y en el medio de establecimiento se evaluaron diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en conjunto con antioxidantes como ácido ascórbico, cisteína y carbón activado (M0: testigo; M1: BAP, 1mg/l; ácido ascórbico, 100mg/l y cisteína, 60mg/l; M2: BAP, 3,5mg/l; ácido ascórbico, 30mg/l y cisteína, 40mg/l; M3: BAP, 5mg/l; carbón activado, 3g/l y ácido ascórbico, 100mg/l). El mejor resultado se obtuvo en el tratamiento T1 con 92,86% de sobrevivencia y 7,14% de contaminación. Se utilizó un diseño completamente al azar desbalanceado. Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para analizar las respuestas morfoanatómicas de los explantes de *Musa sp. L.* variedad Williams. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la altura, número de brotes, hojas y raíces, excepto en la anchura, donde los tratamientos M2 y M3 presentaron diferencia estadísticamente significativa del M0.

Palabras clave: Desinfección, establecimiento, *Musa sp. L.*, explante, bencilaminopurina.

ABSTRACT

The in vitro propagation of *Musa sp. L.* “banano”, requires an establishment stage to eliminate contaminants and adapt plant tissue to new cultivation conditions. The aim of this study was to determine the influence of factors such as the disinfectant, growth regulator, and antioxidants on the in vitro establishment of *Musa sp. L.* Williams variety. To achieve this goal, disinfection treatments were evaluated with different concentrations and immersion times in sodium hypochlorite (T0: control; T1: 3% NaClO for 15 minutes; T2: 4% NaClO for 10 minutes). In the establishment medium, different concentrations of benzylaminopurine (BAP) were assessed in conjunction with antioxidants such as ascorbic acid, cysteine, and activated carbon (M0: control; M1: BAP, 1mg/l; ascorbic acid, 100mg/l; cysteine, 60mg/l; M2: BAP, 3.5mg/l; ascorbic acid, 30mg/l; cysteine, 40mg/l; M3: BAP, 5mg/l; activated carbon, 3g/l; ascorbic acid, 100mg/l). The best result was achieved in treatment T1 with 92.86% survival and 7.14% contamination. A unbalanced completely randomized design was used. The non-parametric Kruskal-Wallis test was applied to analyze the morphoanatomical responses of the *Musa sp. L.* Williams variety explants. There were no statistically significant differences in height, number of shoots, leaves, and roots, except for width, where treatments M2 and M3 showed a statistically significant difference from M0.

Keywords: Disinfection, establishment, *Musa sp. L.*, explant, benzylaminopurine.

I. INTRODUCCIÓN

Musa sp. L. “banano” es una especie originaria del sudeste asiático que pertenece a la familia *Musaceae* Juss. Es un cultivo de gran importancia económica y alimentaria debido a que se encuentra entre los principales cultivos frutales más consumidos en el mundo. Dentro de la especie *Musa sp.* L., existe una gran cantidad de variedades, que se diferencian en el tamaño, sabor, textura y color de los frutos. Entre las más conocidas se encuentran Gran Naine, Robusta, Dwarf Cavendish, Valery y Williams, las cuales pertenecen al subgrupo Cavendish (grupo triploide AAA) (1 - 3). La variedad Williams presenta buena adaptabilidad a factores de estrés abiótico, además de un alto potencial productivo. Las plantas de esta variedad tienen una estatura que varía entre 2,4 a 3,7 metros, con un pseudotallo fuerte y un sistema de raíces amplio que, en conjunto con las características organolépticas de sus frutos, hace que se aprecie bien en el mercado interno y externo (4).

En el Perú, existen alrededor de 170 mil hectáreas de cultivo de banano. Desde el año 2000 nuestro país se ha convertido en uno de los principales exportadores permitiendo así una mejor calidad de vida para los productores, solamente en Piura y Tumbes se producen cerca de 15 mil hectáreas de banano orgánico. En Piura se concentran más de 12 mil hectáreas, con un rendimiento promedio de 13,9 t/ha, allí aproximadamente 8411 agricultores bananeros se dedican a producir para la exportación (5 - 7).

Uno de los principales desafíos que enfrenta la producción de banano en el Perú es la presencia de diversas enfermedades que reducen la calidad y cantidad del cultivo, pudiendo ser causadas por diferentes virus entre ellos; el virus del rayado del banano (BSV), virus del mosaico del banano (CMV) y virus del cogollo racimoso del banano (BBTV). Asimismo, bacterias como *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) causan el “moko” del plátano y *Erwinia carotovora* (Smith 1896) generan pudrición en el rizoma. Dentro de las enfermedades fúngicas se destacan la “sigatoka negra” (*Mycosphaerella fijiensis* var. *Difformis* J.L. Mulder & R.H. Stover 1976), la “sigatoka amarilla” (*Mycosphaerella musicola* R. Leach ex J.L. Mulder 1976) y el “mal de Panamá” (*Fusarium oxysporum* f. *sp. cubense* (E.F.Smith) Snyder & Hansen, 1940) (Foc RT4). Entre los nemátodos que afectan al banano, se encuentran: *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949; *Pratylenchus coffeae* Goodey, 1951; *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956; *Meloidogyne spp* Göldi, 1889 (7, 8).

Las variedades comerciales de banano no producen semillas, la propagación convencional se realiza a través de rizomas enteros o fragmentados, y brotes, llamados "hijuelos", obtenidos de plantas madre, sin embargo, este método presenta limitaciones, como una tasa de multiplicación

baja y lenta, y no garantiza la sanidad del material vegetal de siembra, si este material se encontrara infectado y/o infestado, podría diseminar plagas y enfermedades hacia otras plantaciones (9).

La biotecnología vegetal se enfoca en el estudio y manipulación de los procesos biológicos de las plantas con el propósito de producir bienes y servicios, mejorar las características de los cultivos, optimizar su rendimiento, generar resistencia a enfermedades y adaptarlos a condiciones ambientales desfavorables. Una técnica fundamental de esta disciplina es el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, que consiste en cultivar de forma aséptica, partes separadas de una planta (protoplastos, embriones, yemas, órganos o células), denominado explante, en un medio de cultivo nutritivo con una composición química específica (10 - 12).

La propagación *in vitro* es una forma de reproducción masiva en condiciones controladas, en comparación con los métodos convencionales, las ventajas que ofrece son: reducción de los tiempos de propagación, capacidad de multiplicar en grandes cantidades la especie vegetal de interés en espacios reducidos y mayor control de la sanidad de las plantas (13, 14). A lo largo del proceso de propagación *in vitro*, se siguen varias etapas claves; selección y recolección del material vegetal, establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación, que permiten obtener nuevas plantas con características deseadas (10). Durante la etapa de establecimiento, los explantes se adaptan a las condiciones de crecimiento *in vitro*, superan el estrés y comienzan a crecer, para ello, previamente los fragmentos de tejido vegetal son sometidos a un meticuloso proceso de desinfección para eliminar cualquier contaminación microbiana externa, comúnmente se utilizan agentes desinfectantes, como el hipoclorito de sodio y el alcohol, con menor frecuencia el hipoclorito de calcio y cloruro de mercurio (10, 11). Se ha reportado un 93,4% de explantes sanos y libres de contaminación de *Musa sp. L.*, variedad Williams, con un proceso de doble desinfección con largos periodos de inmersión en hipoclorito de sodio, alcohol al 70% y antibióticos (15), y un 49% de explantes vivos sin oxidación ni contaminación en la variedad Pacovan, con el mismo proceso (16). Una vez desinfectados, estos explantes se transfieren a un medio de cultivo estéril donde son incubados en condiciones óptimas de temperatura, humedad y luz (11).

La formulación de sales y nutrientes desarrollada por los científicos Murashige & Skoog (17), abreviado MS, es la más utilizada en la propagación *in vitro* de tejidos vegetales, que en conjunto con otras sustancias como vitaminas, reguladores de crecimiento, fuentes de carbono y gelificantes, conforman un medio de cultivo; sin embargo, la composición exacta puede variar dependiendo de las necesidades específicas del tejido en cultivo y de los objetivos a alcanzar, ajustándose la concentración de sus componentes o incluso eliminándose algunos (10).

Los reguladores de crecimiento, anteriormente llamados fitohormonas, los cuales desempeñan un rol fundamental en el crecimiento y la regulación de la morfogénesis, controlando la división celular, diferenciación y desarrollo de los tejidos (14). Se pueden clasificar en diferentes grupos según su estructura química y sus funciones en el desarrollo de las plantas. Los principales grupos de reguladores de crecimiento son: citoquininas, auxinas, giberelinas, ácido abscísico (ABA) y el etileno (10, 13). Las citoquininas o citocininas, destacan por su relevancia económica, siendo la bencilaminopurina (BAP) o benciladenina, la más utilizada. Las citoquininas desempeñan diversas funciones en las plantas como estimular la división celular en los tejidos vegetales, retrasar el envejecimiento de las yemas laterales y regular la síntesis de clorofila, no obstante, estas funciones varían dependiendo de la concentración, la presencia de otros reguladores de crecimiento en el medio de cultivo y de la etapa de desarrollo en la que se apliquen (12, 18, 19).

Investigaciones realizadas en diferentes variedades de *Musa sp.* L. “banano”, han señalado efectos positivos de las citoquininas en la fase de establecimiento *in vitro*, por ejemplo en la variedad Williams, la aplicación de 2,5 mg/L de benciladenina en el medio de cultivo afecta los cambios morfoanatómicos del ápice del vástago y de la raíz, aumentando el diámetro del ápice y produciendo un mayor número de brotes por explante a los 35 días, sin embargo, retrasa el período de emergencia radical, produce distorsiones en la morfoanatomía de las raíces y disminuye su cantidad y longitud (21). En meristemas de la variedad Giant Cavendish, la dosis de 1mg/L de BAP presenta un mayor porcentaje de iniciación de brotes, número promedio de brotes por explante y menor día de inducción de brotes (4).

No existe una convención para el uso de un solo regulador de crecimiento o su combinación con otros en la fase de establecimiento *in vitro* de tejidos vegetales. El uso de auxinas, como el ácido indolacético (AIA), y la bencilaminopurina (22) a concentraciones de 0,2 mg/l y 4 mg/l, respectivamente, aumenta la formación de brotes probables con una media de 2,8 a los 68 días de cultivo en la variedad Curaré enano (23).

Los agentes antioxidantes son factores importantes que influyen en esta etapa y son añadidos al medio de cultivo porque ayudan a absorber los compuestos fenólicos producidos por el tejido vegetal al ser sometido a estrés. Entre los más comúnmente utilizados se puede encontrar al carbón activado, ácido ascórbico, ácido cítrico y cisteína (10). En una investigación, se encontró que el uso de 100 mg/l de ácido ascórbico y 60 mg/l de cisteína es favorable para el establecimiento *in vitro* de meristemas de las variedades Gros Michel y Williams, cuando se utiliza el medio MS modificado por Colmenares y Giménez (24, 25). Además, se pueden utilizar gelificantes como antifenolizantes, tal es el caso del Phytigel que usado al 0,15% en el medio MS

completo en *M. acuminata* L. variedad Cavendish, durante las primeras fases del cultivo *in vitro*, obtuvo el mayor número de plántulas con grado 0 de fenolización (20).

En este contexto, la propagación *in vitro* se presenta como una solución para mejorar la calidad del cultivo de *Musa sp.* L., siendo la etapa de establecimiento crucial en el desarrollo de un protocolo *in vitro* y teniendo en cuenta que actualmente no se han reportado estudios similares enfocados en *Musa sp.* L. “banano” variedad Williams en el Perú. Por lo que, el presente trabajo tuvo los siguientes objetivos: determinar la concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de exposición óptimo para la desinfección de los explantes; determinar la influencia del regulador de crecimiento bencilaminopurina (BAP) y antioxidantes como el carbón activado, ácido ascórbico y cisteína a diferentes concentraciones, mediante la evaluación de las respuestas morfoanatómicas de los explantes durante el establecimiento *in vitro* de *Musa sp.* L. “banano” variedad Williams. Los resultados de la presente investigación pueden contribuir en el desarrollo de un protocolo de propagación completo para esta variedad u otras que se consideren de interés agroeconómico, además de ampliar la información sobre el cultivo *in vitro* de musáceas en el Perú.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Material biológico

Estuvo compuesto por yemas extraídas de hijuelos espada de 8 meses de edad, que provinieron de campos agrícolas en Piura. Se escogieron cinco hijuelos al azar para obtener un promedio de la altura, circunferencia del pseudotallo, circunferencia del cuello del pseudotallo y circunferencia del rizoma (Anexo; Tabla 10 y Figura 16) (25).

2.2. Evaluación de tratamientos de desinfección

2.2.1. Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) desbalanceado, donde las unidades experimentales (yemas) se asignaron de manera aleatoria a los tratamientos, en proporciones desiguales. En el tratamiento T0 se sembraron 5 yemas; en el tratamiento T1, 14 yemas y en el T2, 15 yemas (Anexo; Figura 21) (20).

El estudio se desarrolló en el Área de cultivo de tejidos vegetales del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

2.2.2. Preparación del medio base

Se preparó el medio base MS modificado por el IBT (Anexo; Tabla 19), suplementado con 30 g/l de sacarosa, 8 g/l de agar, el pH se ajustó a 5.7 ± 0.1 utilizando hidróxido de sodio (NaOH 1N) o ácido clorhídrico (ClOH 0.5N). Se dispensaron 15 ml del medio preparado por cada tubo de ensayo de 30 ml de capacidad. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 25 minutos. Los tubos de ensayo se sellaron con papel film y se incubaron durante 7 días a temperatura ambiente (21°C) con el fin de observar contaminación. La preparación del medio de cultivo se siguió de acuerdo con el estudio de Al Ghasheem *et al.* (26).

2.2.3. Desinfección del material vegetal

Inicialmente, se removieron las vainas foliares de los hijuelos utilizando machetes y cuchillos afilados, logrando reducir su tamaño en aproximadamente 13 a 15 cm de alto y 6 a 7 cm de ancho, se lavaron con detergente común y abundante agua para eliminar la tierra, luego se conservaron en refrigeración. Al día siguiente, las muestras se volvieron a cortar, reduciéndolas a 6 cm de alto y 4 cm de ancho, evitando dañar el meristema apical, enseguida, se introdujeron por

30 minutos en una solución que contenía Benomil, 50 mg/l; detergente, 3g/l y Tween 20, 1gota/l, después se enjuagaron tres veces con agua destilada no estéril y se trasladaron a la cabina de flujo laminar previamente desinfectada con alcohol de 70°, donde se retiraron las vainas foliares expuestas y se recortó el rizoma 1 cm. Las muestras se sumergieron en diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio con 2 gotas de Tween 20 por cada 100 ml de solución, por distintos tiempos (Tabla 1). Se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril durante un minuto por cada enjuague, posteriormente, se realizó una sección final, donde se eliminaron las vainas foliares que habían estado en contacto con el desinfectante, así como las hojas inmaduras circundantes a la yema. Por último, las yemas se sembraron en el medio base para su evaluación. Se utilizó el proceso de desinfección y corte de Velasco (27), con algunas modificaciones.

Tabla 1. Combinaciones entre las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio a distintos tiempos de inmersión.

Tratamiento	Concentración de NaClO (%)	Tiempo de inmersión (min)
T0	0	0
T1	3	15
T2	4	10

2.2.4. Siembra de explantes para la evaluación de tratamientos de desinfección

Tras completar los tratamientos de desinfección, se prepararon instrumentos como el mechero, platos, papel y pinzas estériles, se procedió a retirar el plástico protector y la tapa de aluminio del tubo de ensayo cerca del mechero a fin de evitar la contaminación, se sembró la yema usando una pinza estéril, sumergiendo completamente el rizoma en el medio MS. Los instrumentos se flamearon con alcohol de 96° después de cada uso. Una vez concluida la siembra, se rotularon según el tratamiento. La incubación fue a temperatura ambiente 25 ± 2 °C (4). Durante los primeros 21 días, se mantuvieron en oscuridad dentro de una caja de Tecnopor. El método de siembra utilizado fue de Velasco (27) modificado.

2.2.5. Parámetros de evaluación

- a) Supervivencia de explantes: Se identificaron por el cambio de color en la base de la yema, de blanco a verde claro (15).

- b) Contaminación de explantes: Se identificaron aquellos que presentaron crecimiento de microorganismos en la superficie del medio de cultivo (15, 27).

2.3. Evaluación de tratamientos de regulador de crecimiento y antioxidantes en medio de establecimiento

2.3.1. Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) desbalanceado, donde las unidades experimentales (yemas) se asignaron de manera aleatoria a los tratamientos, en proporciones desiguales. En el tratamiento testigo se sembraron 5 yemas, mientras que en los tratamientos restantes se sembraron 10 yemas en cada uno (Anexo; Figura 22) (20).

El estudio se desarrolló en el Área de cultivo de tejidos vegetales del Instituto de Biotecnología (IBT) perteneciente a la Universidad Nacional Agraria La Molina.

2.3.2. Preparación del medio de establecimiento

Se preparó el medio base MS modificado por el IBT (Anexo; Tabla 19), suplementado con 30 g/l de sacarosa y 8 g/l de agar, el pH se ajustó a 5.7 ± 0.1 utilizando hidróxido de sodio (NaOH 1N) o ácido clorhídrico (ClOH 0.5N), luego se agregaron; Bencilaminopurina, carbón activado, ácido ascórbico y cisteína (Tabla 2). Se dispensaron 15 ml del medio preparado por cada tubo de ensayo de 30 ml de capacidad. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 25 minutos. Los tubos se sellaron con papel film y se incubaron durante 7 días a temperatura ambiente (26).

Se preparó por segunda vez el medio base MS y se sustituyeron los tubos de ensayo por frascos de 300 ml de capacidad. Las concentraciones de bencilaminopurina, ácido ascórbico y cisteína se escogieron en base a la literatura (25, 28, 29).

Tabla 2. Combinaciones entre las diferentes concentraciones del regulador de crecimiento BAP con carbón activado, ácido ascórbico y cisteína.

Tratamiento	Regulador de crecimiento		Agente antioxidante	
	Bencilaminopurina (BAP) (mg/l)	Carbón activado (g/l)	Ácido ascórbico (mg/l)	Cisteína (mg/l)
	M0	0	0	0
M1	1	0	100	60
M2	3,5	0	30	40
M3	5	3	100	0

2.3.3. Siembra de los explantes para la evaluación del medio de establecimiento

Se utilizaron yemas previamente cultivadas *in vitro* por el IBT, las cuales se mantuvieron en el medio base MS por 21 días para evaluar la contaminación.

Las yemas se sembraron siguiendo los pasos descritos anteriormente (apartado 2.2.4), sin embargo, se incubaron en un ciclo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, empleando lámparas fluorescentes de 40 W, que proporcionaron una intensidad de iluminación de 3000 lux, durante un periodo de 48 días a temperatura ambiente 25 ± 2 °C (4).

2.3.4. Procesamiento estadístico de datos

Los datos obtenidos de la evaluación de la altura, anchura, número de brotes, hojas y raíces, fueron sometidos a la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para verificar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos aplicados.

2.3.5. Respuestas morfoanatómicas evaluadas

Entre ellas tenemos (20):

- a) Altura de los explantes: Se evaluó con una regla de 20 centímetros, colocándola verticalmente a través del vidrio cada 10 días (las dos primeras veces) y luego cada 7 días. Se midió sobre el rizoma hasta el ápice de la yema (Anexo; Figura 17).
- b) Anchura de los explantes: Se evaluó con una regla de 20 centímetros, colocándola horizontalmente a través del vidrio cada 10 días (las dos primeras veces) y luego cada 7 días, se midió la base sobre el rizoma (Anexo; Figura 17).

- c) Número de brotes: Se identificó visualmente la presencia de brotes y se contabilizaron. La evaluación se realizó en intervalos de 10 días.
- d) Número de raíces: Se identificó visualmente la presencia de raíces y se contabilizaron. La evaluación se realizó en intervalos de 10 días.
- e) Número de hojas: Se identificó visualmente la presencia de hojas y se contabilizaron. La evaluación se realizó en intervalos de 10 días.
- f) Grado de oxidación del explante: Se evaluó visualmente el porcentaje de oxidación que presentaban las yemas, cada 10 días (Tabla 3).

Tabla 3. Escala de los diferentes grados de oxidación para los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams.

Grado de oxidación	Descripción
0	Yema viva de color verde claro
1	Yema de color verde amarillento
2	Yema moribunda de color amarillo oscuro
3	Yema totalmente necrosada de color marrón oscuro o negro

Fuente: Elaboración propia.

III. RESULTADOS

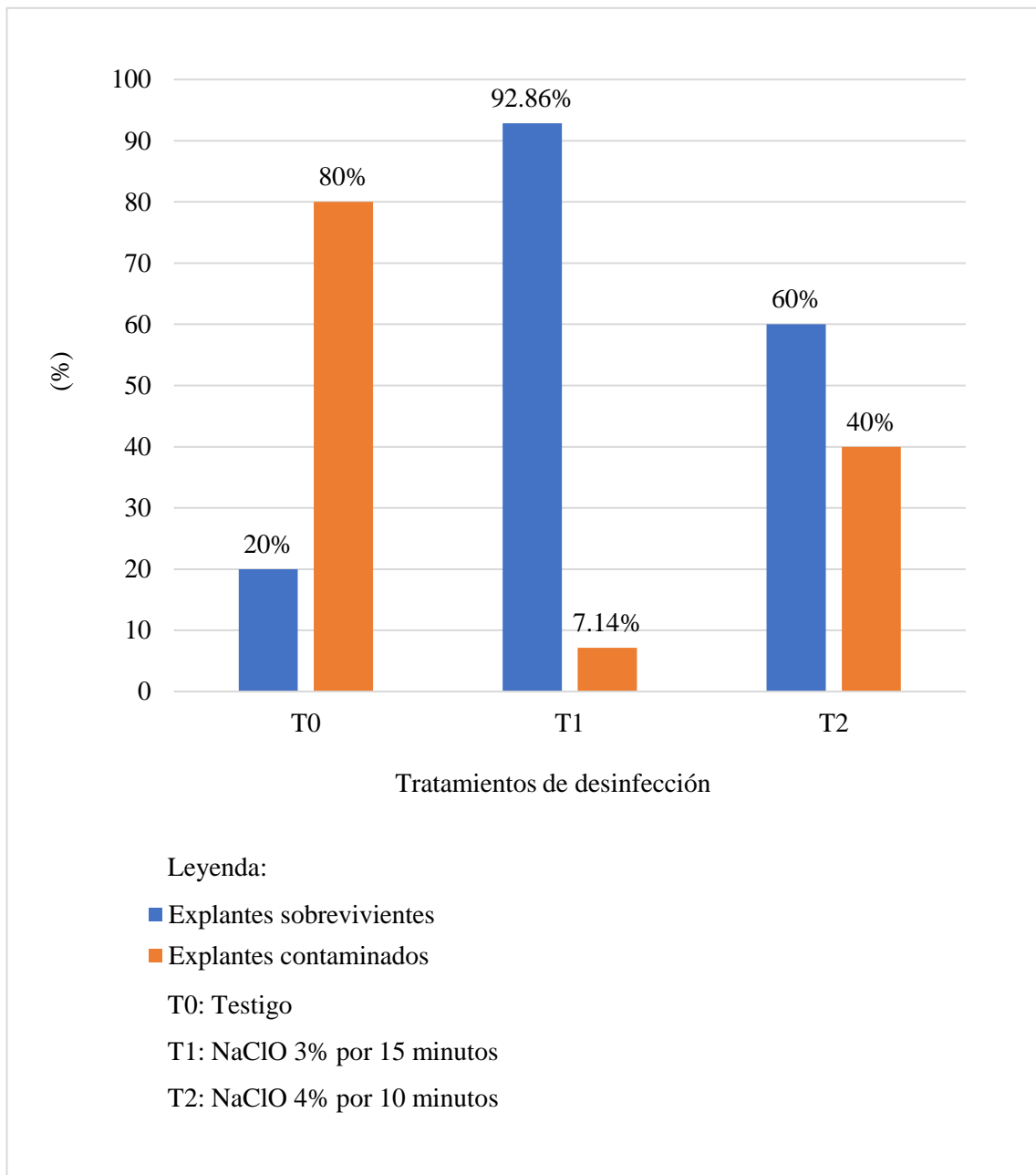


Figura 1. Porcentaje de sobrevivencia y contaminación de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento, a los 21 días de cultivo.

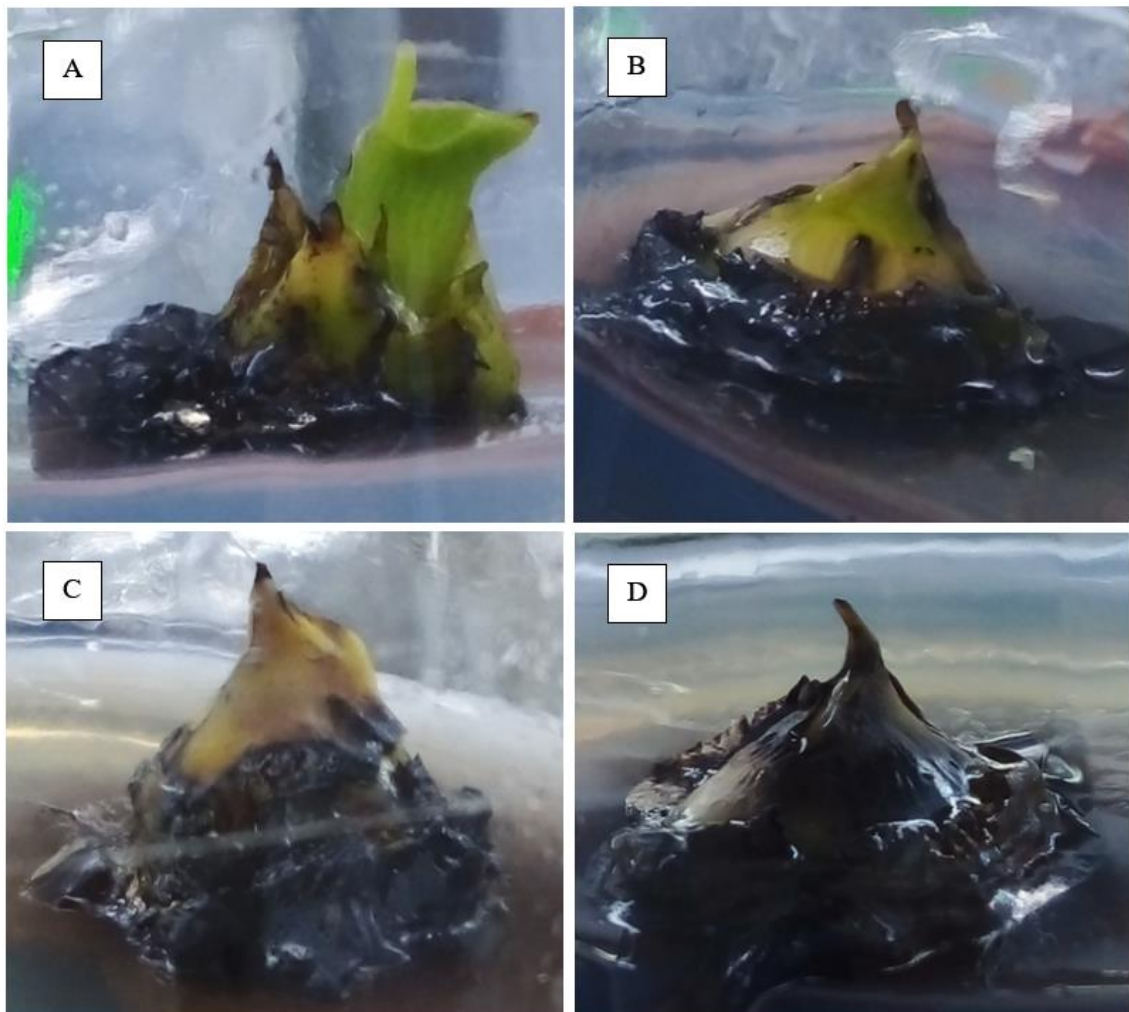


Figura 2. Grados de oxidación en explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams. A) Grado de oxidación 0, Yema viva de color verde claro; B) Grado de oxidación 1, Yema de color verde amarillento; C) Grado de oxidación 2, Yema moribunda de color amarillo oscuro; D) Grado de oxidación 3, Yema totalmente necrosada de color marrón oscuro o negro.

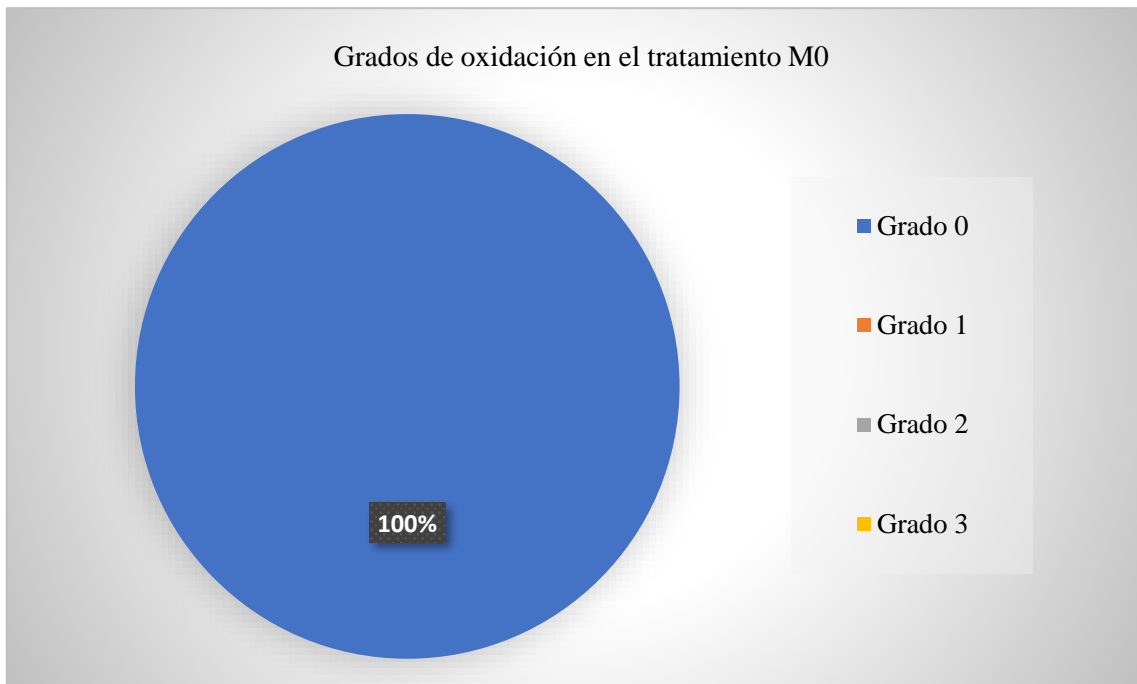


Figura 3. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams del tratamiento M0, a los 48 días de cultivo.

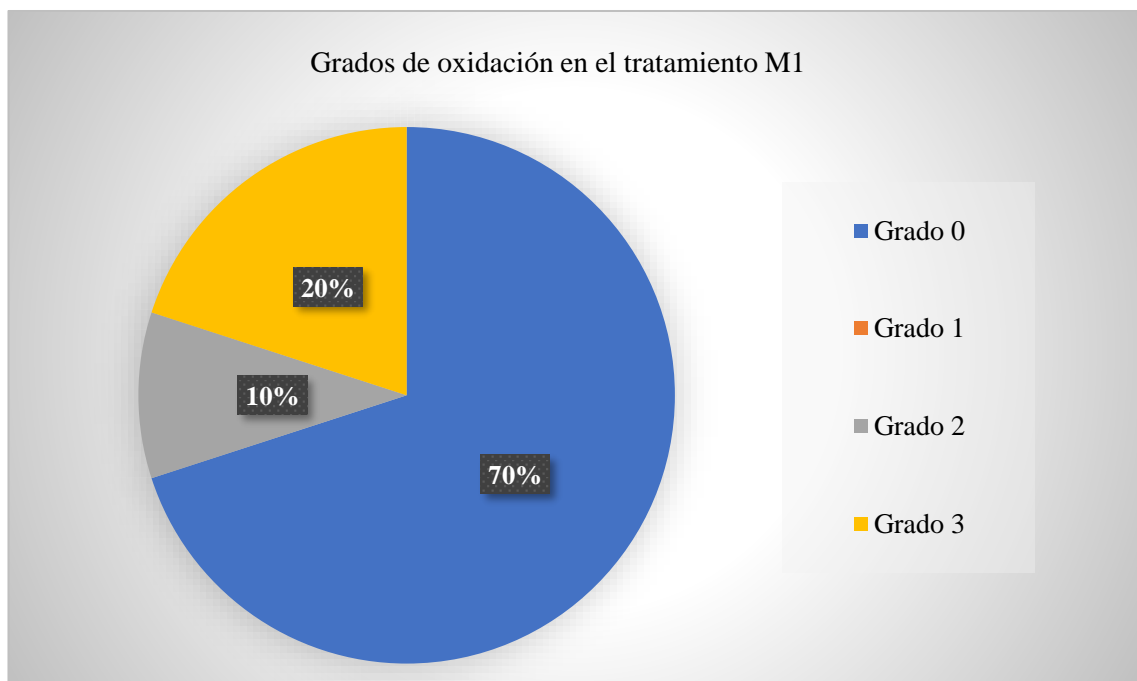


Figura 4. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams del tratamiento M1, a los 48 días de cultivo.

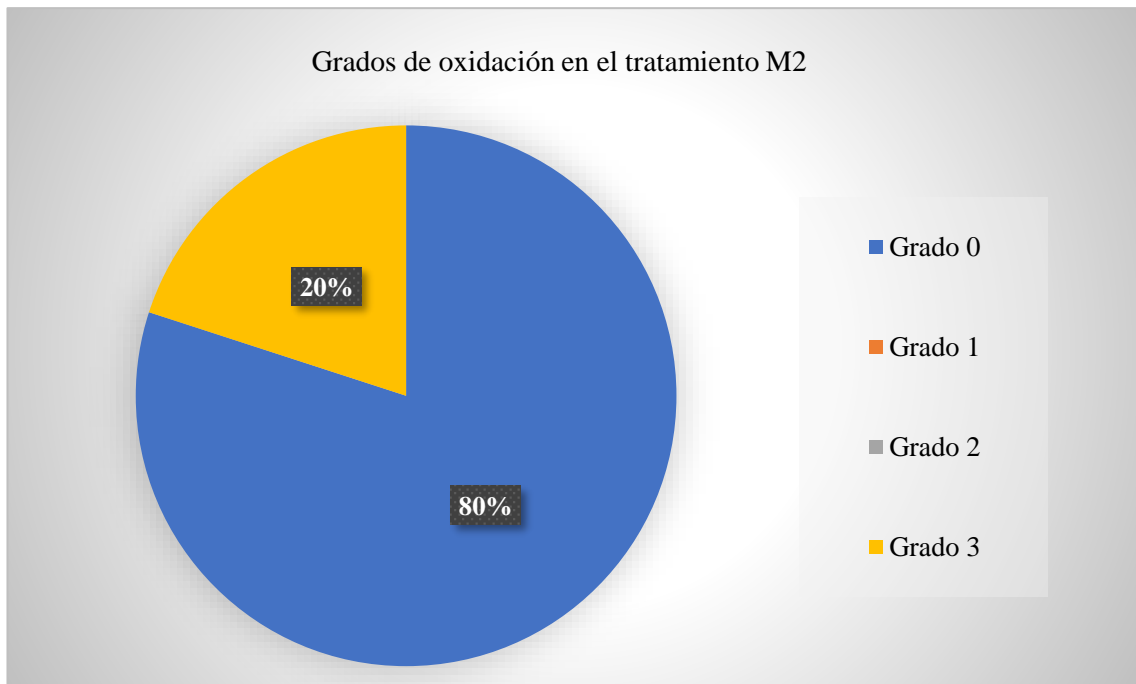


Figura 6. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams. del tratamiento M2, a los 48 días de cultivo.

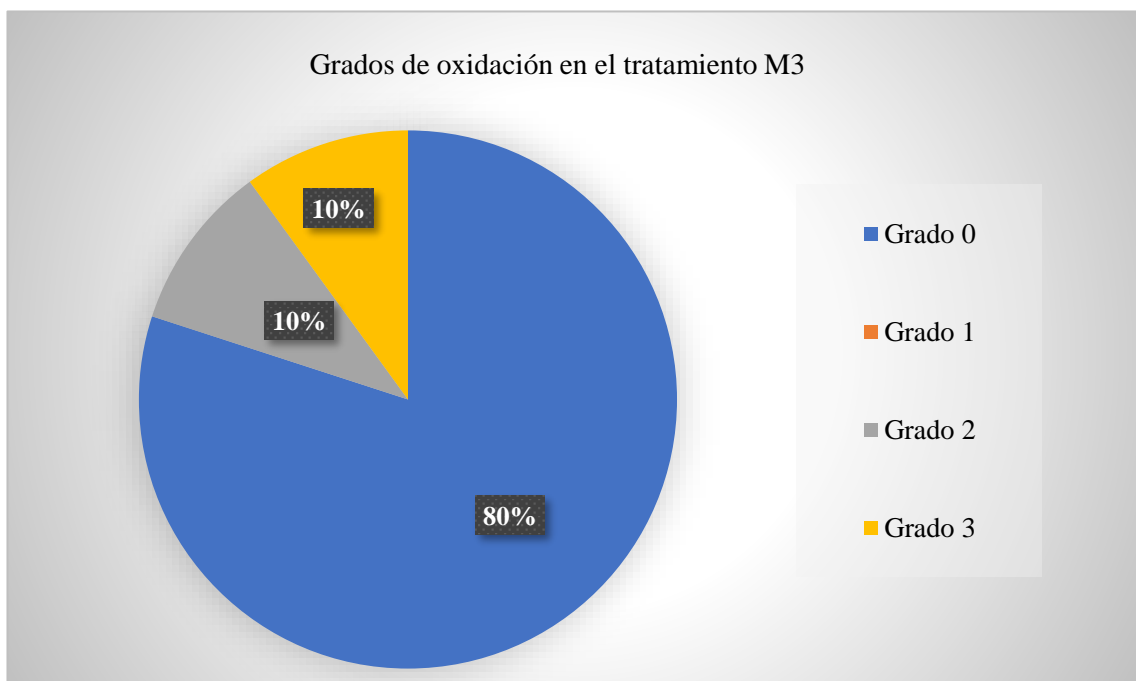


Figura 5. Porcentaje de los diferentes grados de oxidación en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams del tratamiento M3, a los 48 días de cultivo.

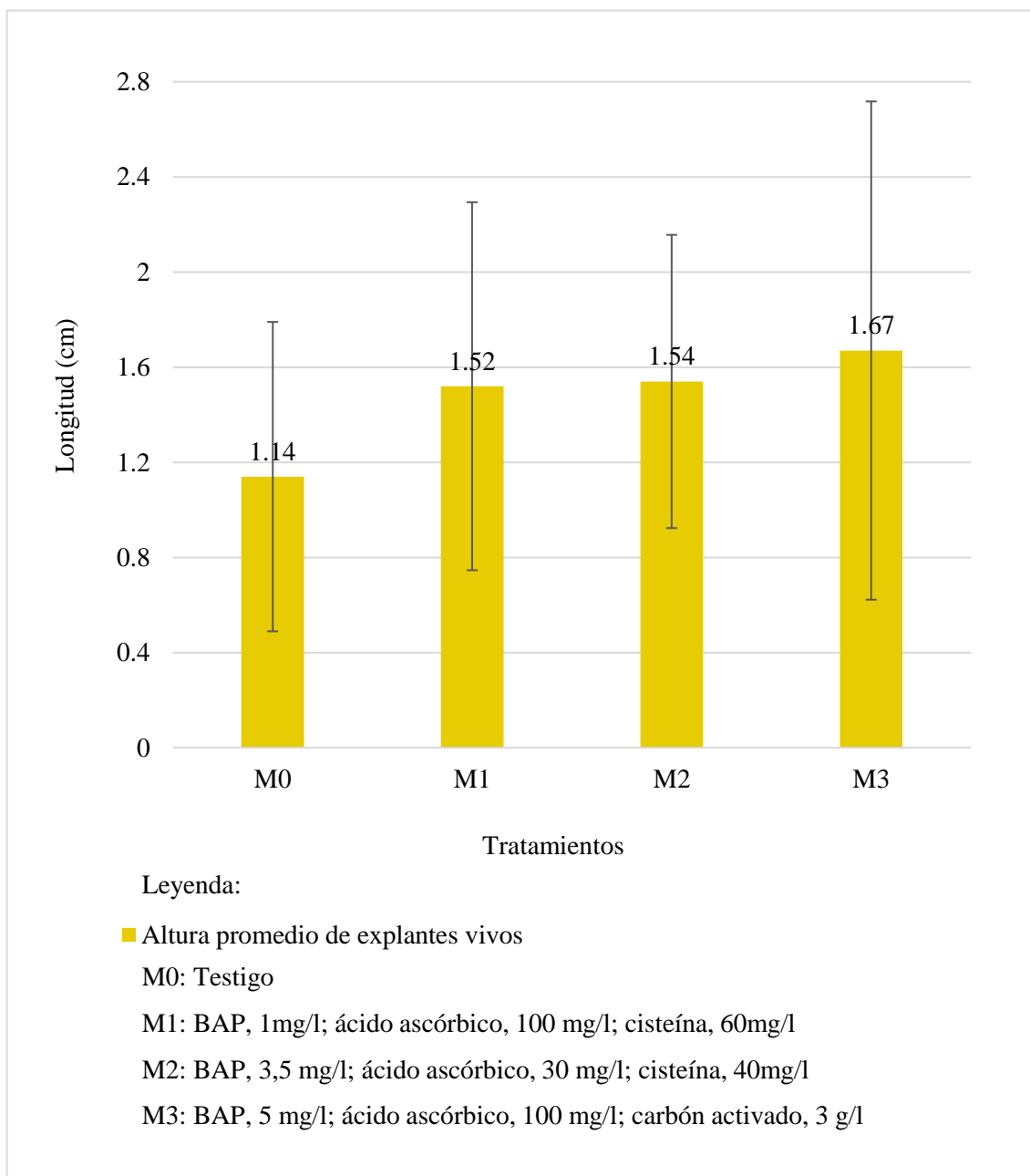


Figura 7. Altura promedio de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.

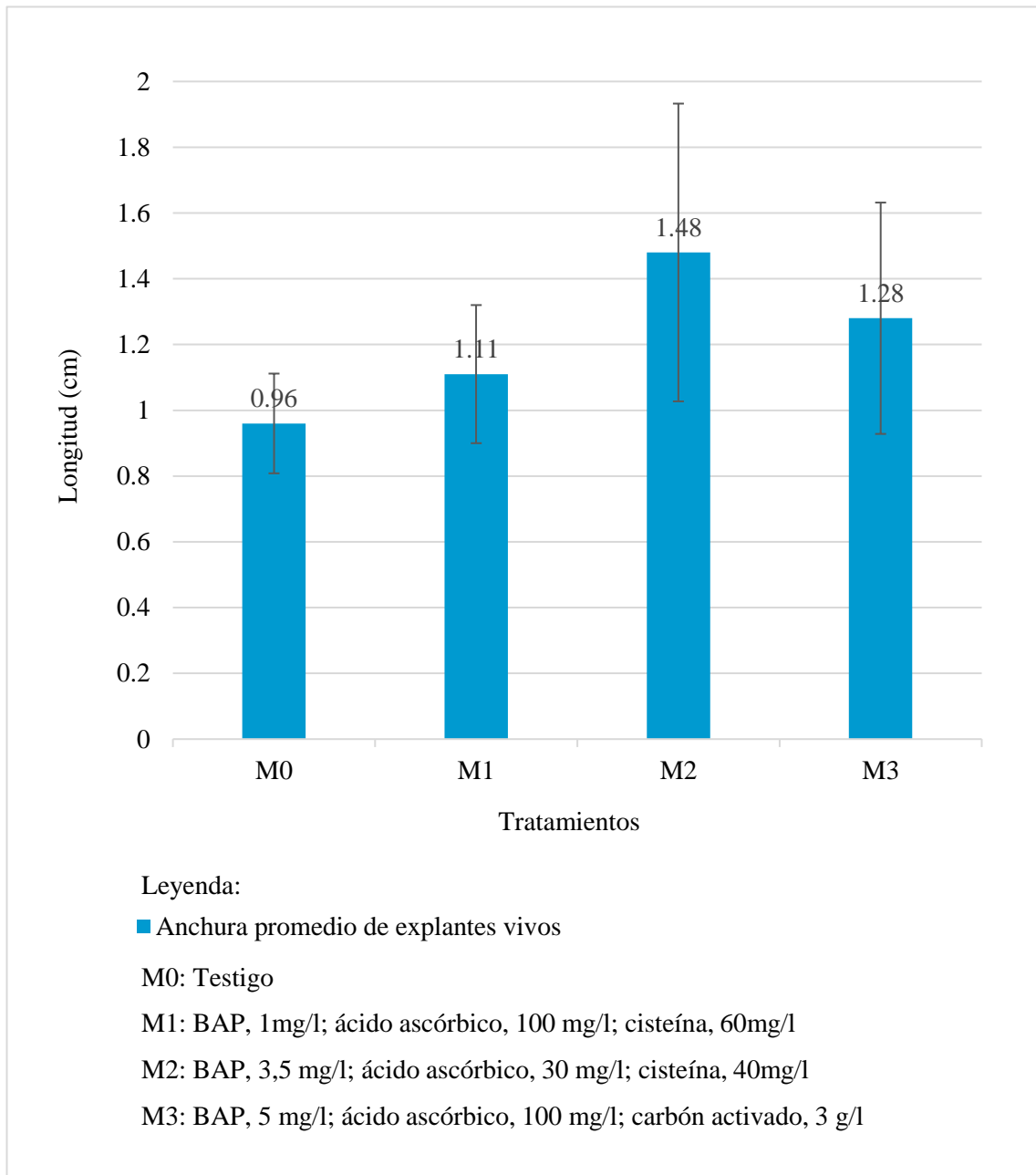


Figura 8. Anchura promedio de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.

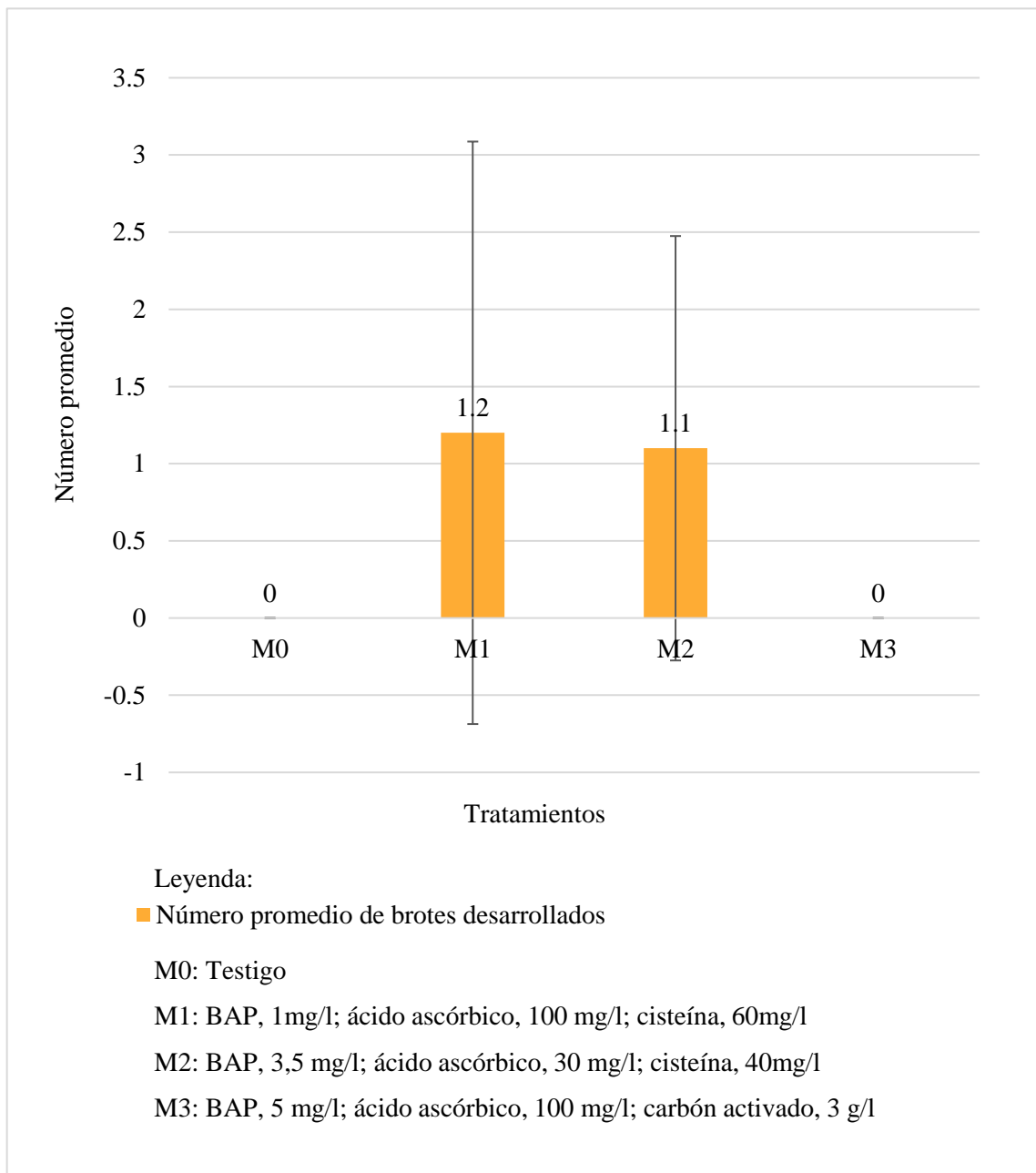


Figura 9. Número promedio de brotes desarrollados en los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento evaluado, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.

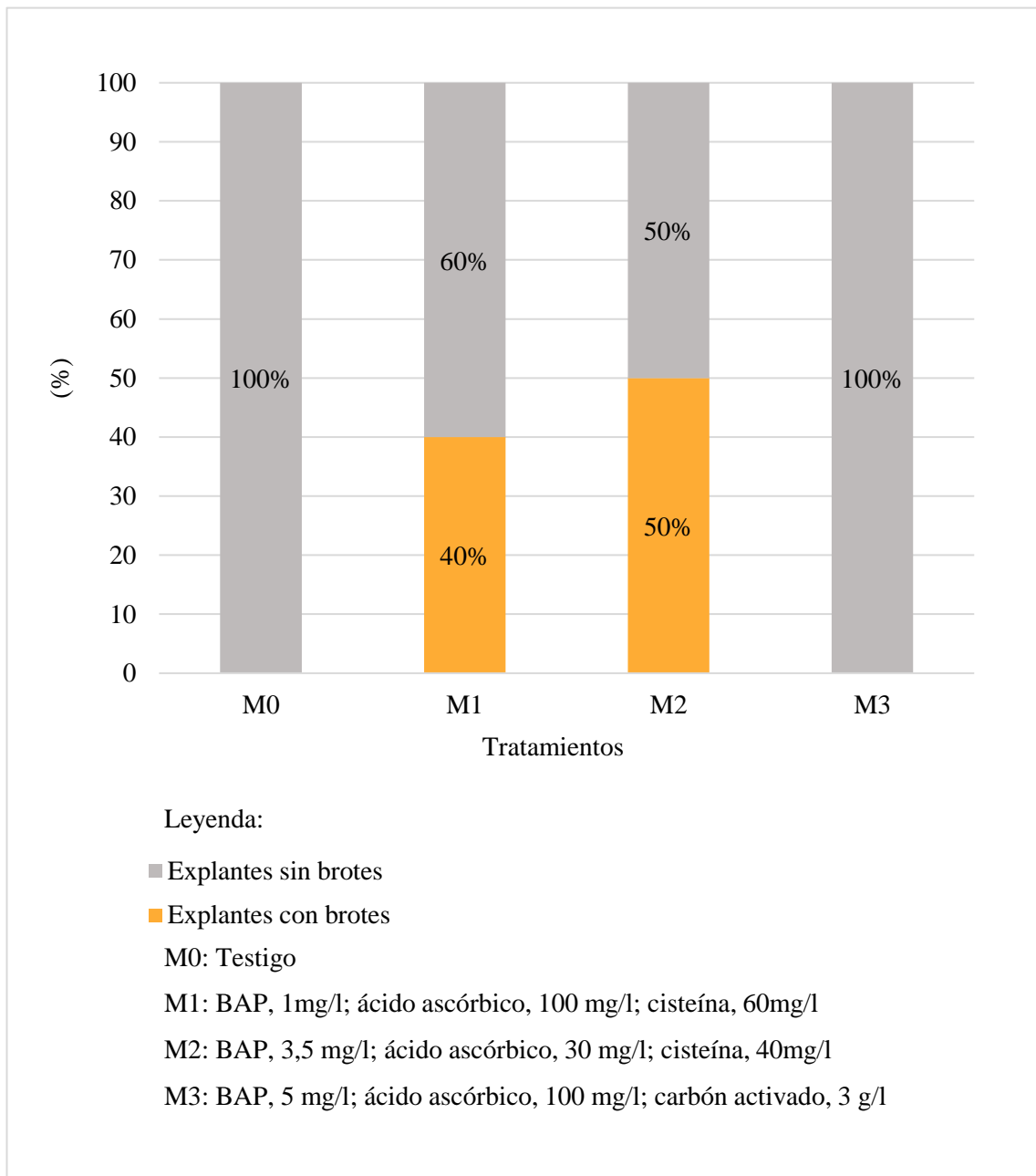


Figura 10. Porcentaje de brotación de los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

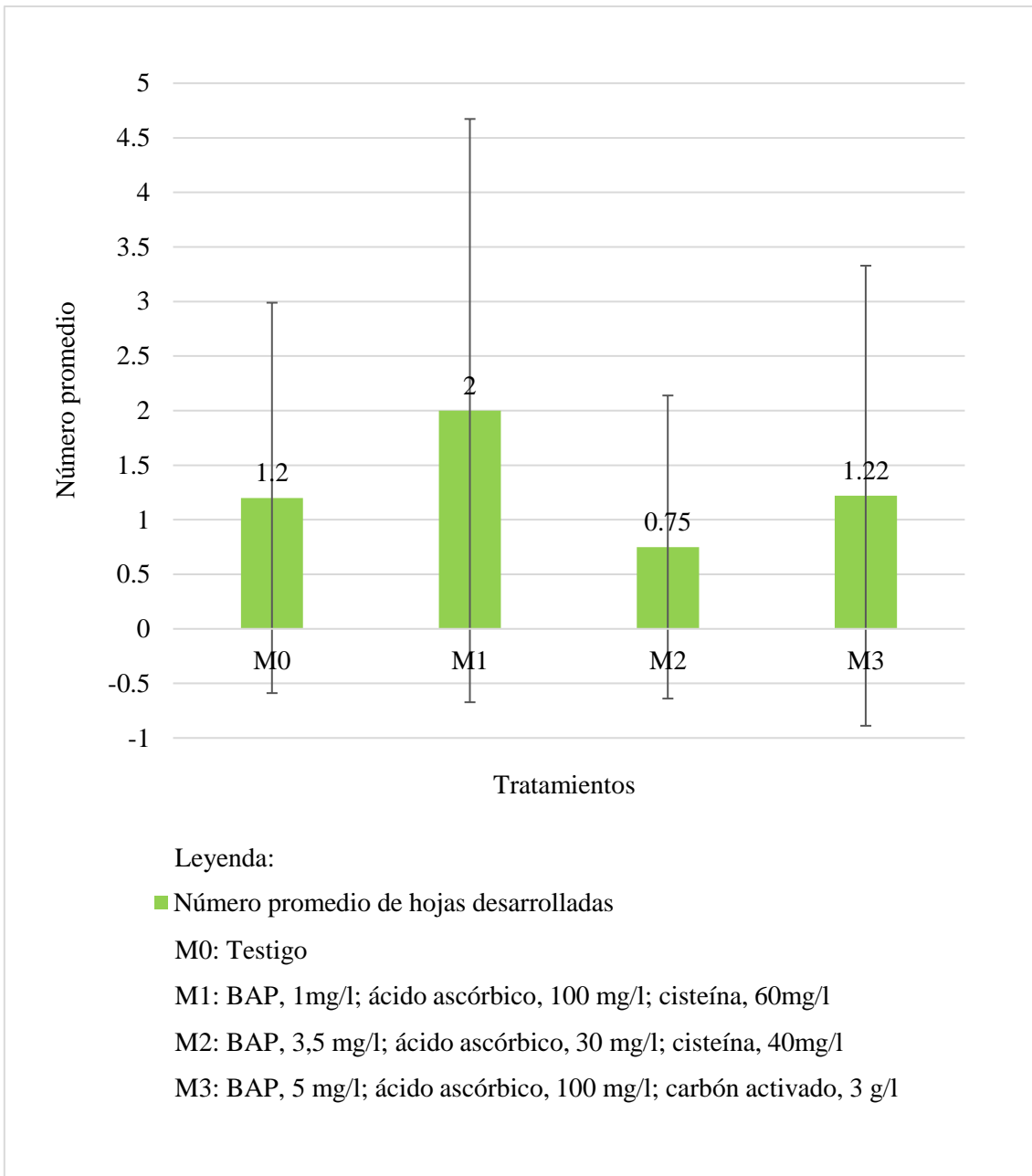


Figura 11. Promedio de hojas desarrolladas en los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.

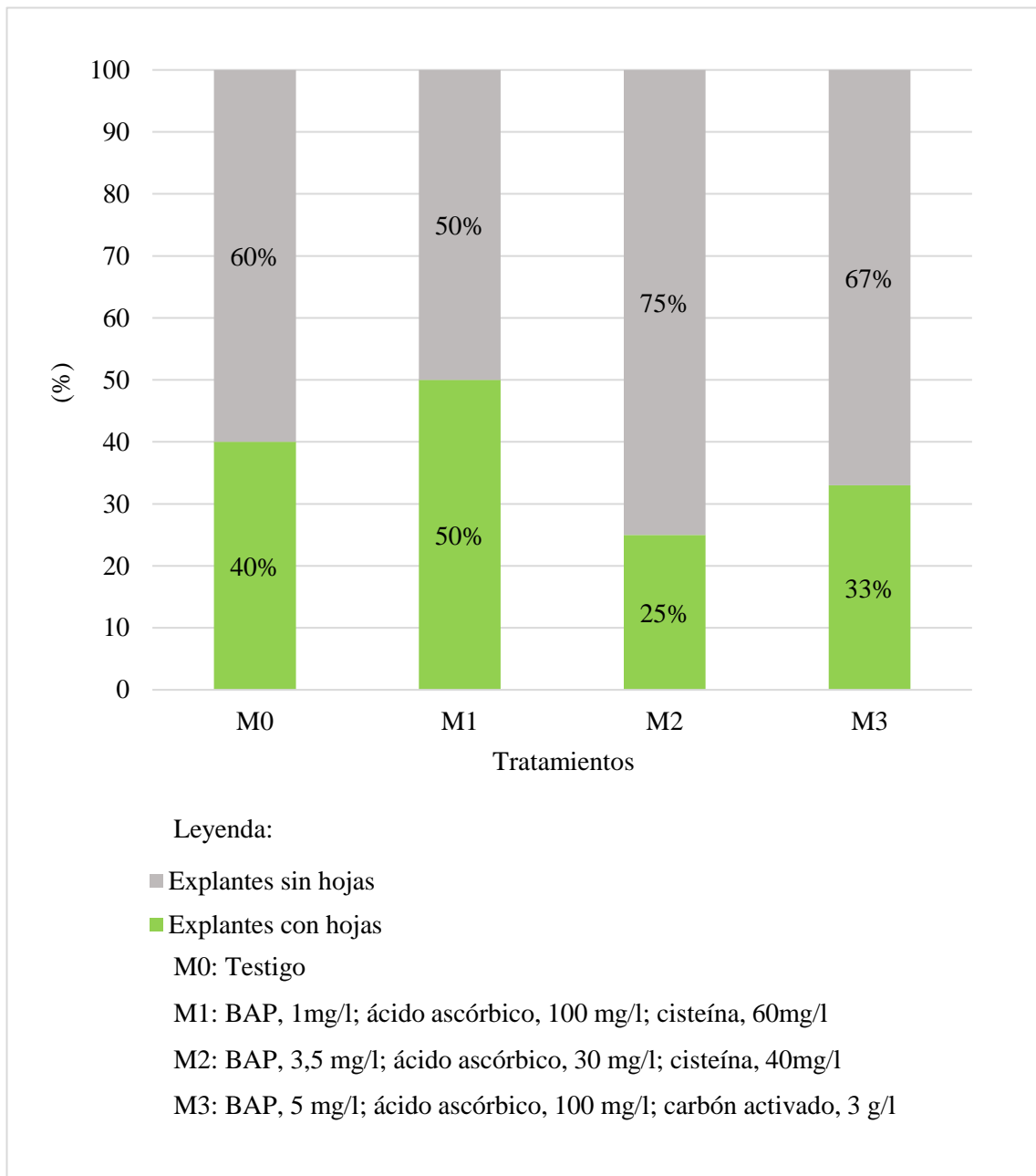


Figura 12. Porcentaje de explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams que desarrollaron hojas, a los 48 días de cultivo.

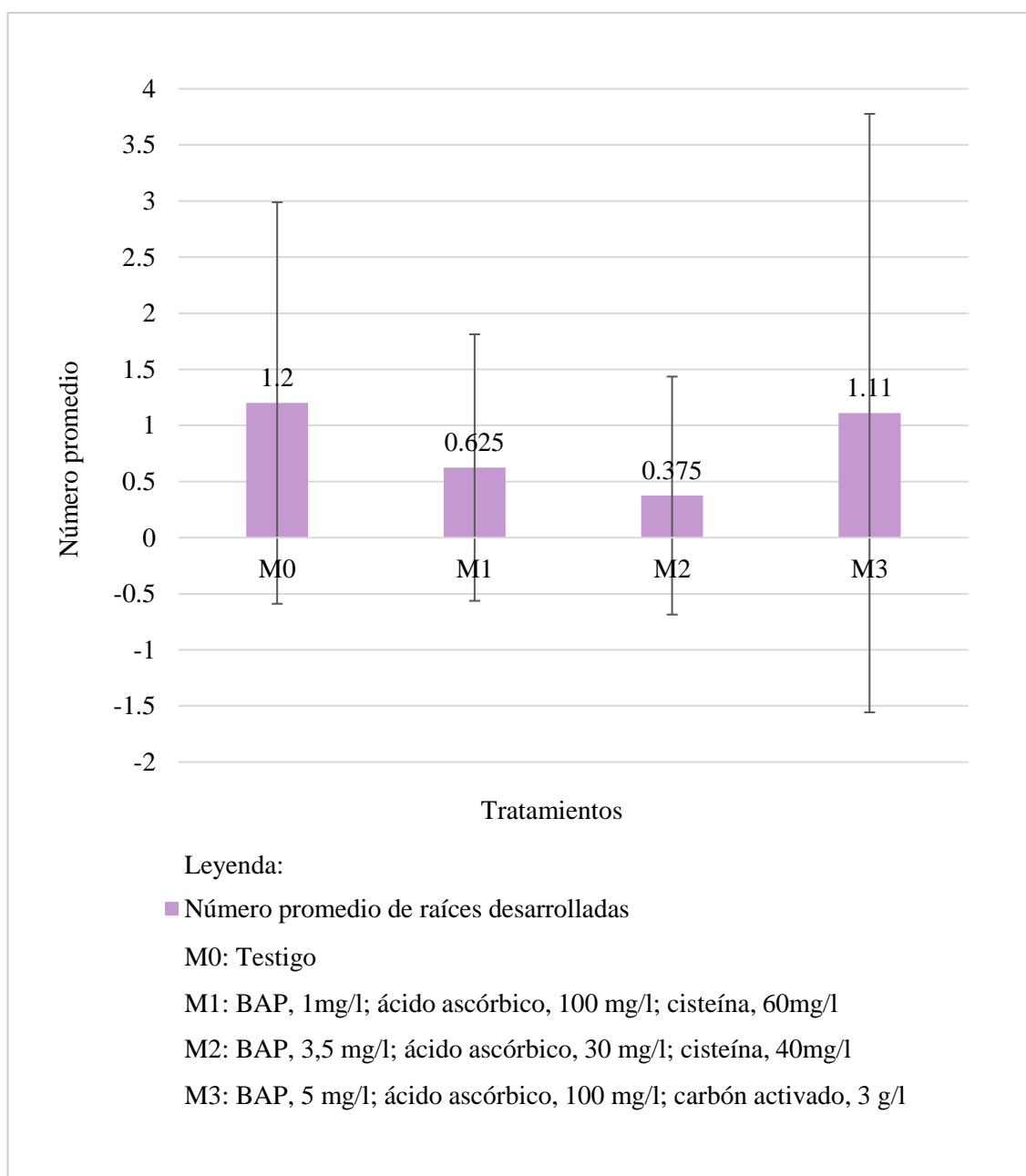


Figura 13. Promedio de raíces desarrolladas en los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams por tratamiento, a los 48 días de cultivo. Las barras indican la desviación estándar de los promedios.

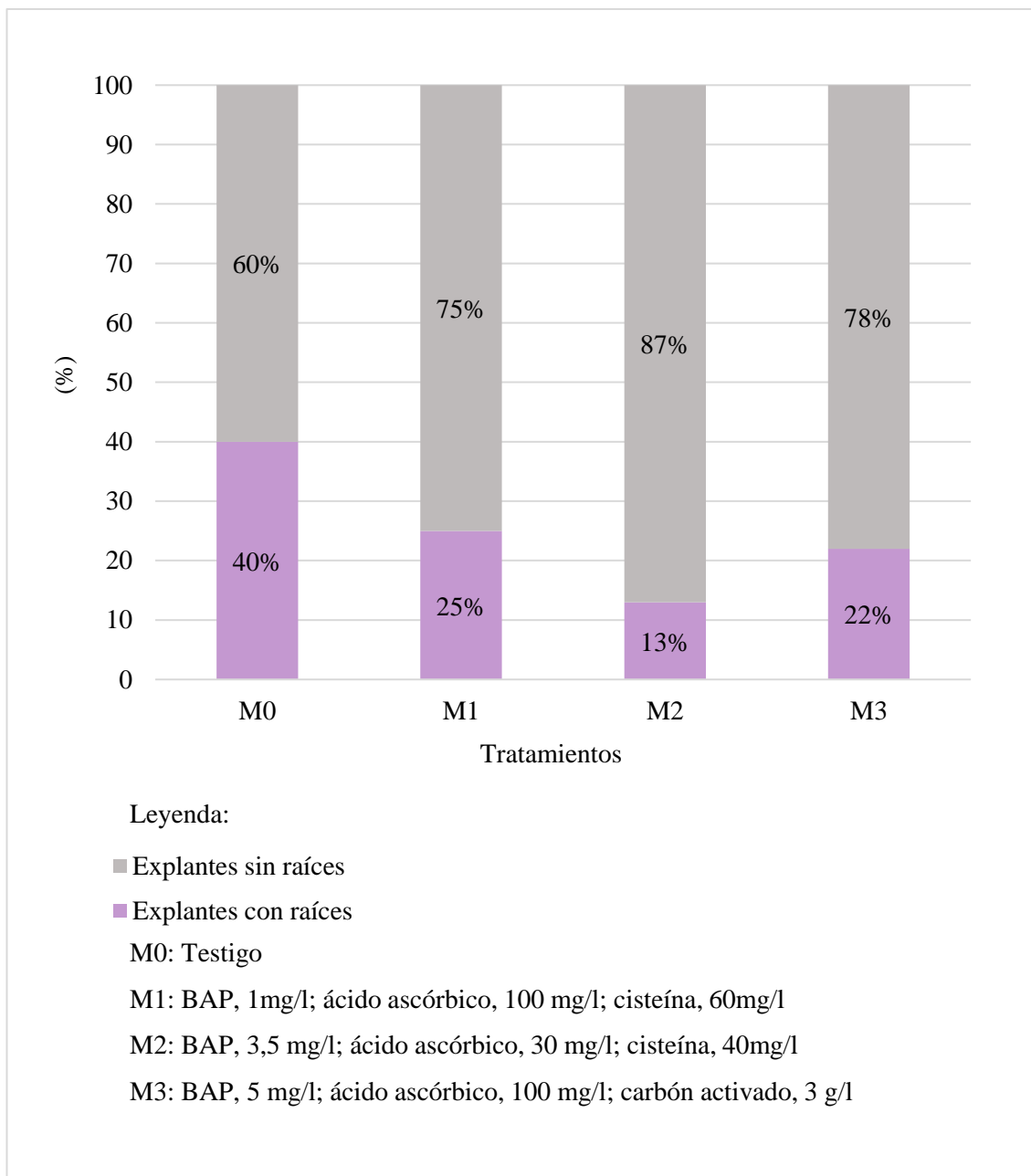


Figura 14. Porcentaje de explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams que desarrollaron raíces, a los 48 días de cultivo.

Tabla 4. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para la altura de explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Rango promedio	gl	C	H	P
Altura del explante	M0	5	1.14	0.65	0.90	10.30 ^a	3	0.99	2.14	0.541
	M1	8	1.52	0.77	1.20	16.25 ^a				
	M2	8	1.54	0.62	1.30	17.06 ^a				
	M3	9	1.67	1.05	1.10	16.33 ^a				

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

H0: No hay diferencias significativas entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

H1: Hay al menos una diferencia significativa entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

El p valor (0,541) es mayor que 0,05 por tanto se acepta la H0.

Tabla 5. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para la anchura de explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Rango promedio	gl	C	H	P
Anchura del explante	M0	5	0.96	0.15	0.90	7.40 ^a	3	0.96	7.54	0.049
	M1	8	1.11	0.21	1.10	13.50 ^{ab}				
	M2	8	1.48	0.45	1.40	20.38 ^b				
	M3	9	1.28	0.35	1.20	17.44 ^b				

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

H0: No hay diferencias significativas entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

H1: Hay al menos una diferencia significativa entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

El p valor (0,049) es menor que 0,05 por lo que se rechaza la H0 y se acepta la H1. La prueba de comparación por pares reveló que los tratamientos M2 y M3 presentaron diferencia estadísticamente significativa del M0, en la anchura de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

Tabla 6. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de brotes de *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Rango promedio	gl	C	H	P
N° de brotes	M0	5	0.00	0.00	0.00	13.50 ^a	3	0.59	5.15	0.033
	M1	10	1.20	1.99	0.00	20.70 ^a				
	M2	10	1.10	1.45	0.50	22.05 ^a				
	M3	10	0.00	0.00	0.00	13.50 ^a				

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

H0: No hay diferencias significativas entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

H1: Hay al menos una diferencia significativa entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

El p valor (0,033) es menor que 0,05 por lo que se rechaza la H0 y se acepta la H1, sin embargo, la prueba de comparación por pares no reveló diferencias significativas entre ningún tratamiento.

Tabla 7. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de hojas *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Rango promedio	gl	C	H	P
N° de hojas	M0	5	1.20	1.79	0.00	15.70 ^a	3	0.74	0.81	0.780
	M1	8	2.00	2.67	1.00	17.63 ^a				
	M2	8	0.75	1.39	0.00	13.75 ^a				
	M3	9	1.22	2.11	0.00	15.06 ^a				

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

H0: No hay diferencias significativas entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

H1: Hay al menos una diferencia significativa entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

El p valor (0,78) es mayor que 0,05 por lo que se acepta la H0.

Tabla 8. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en Infostat, para el número de raíces *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad William.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Rango promedio	gl	C	H	P
N° de raíces	M0	5	1.20	1.79	0.00	18.00 ^a	3	0.55	0.66	0.754
	M1	8	0.63	1.19	0.00	15.56 ^a				
	M2	8	0.38	1.06	0.00	13.94 ^a				
	M3	9	1.11	2.67	0.00	15.44 ^a				

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

H0: No hay diferencias significativas entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

H1: Hay al menos una diferencia significativa entre los rangos promedios de los cuatro tratamientos.

El p valor (0,754) es mayor que 0,05 por lo que se acepta la H0.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de determinar la concentración y el tiempo de inmersión óptimo para la desinfección de los explantes de *Musa sp. L.* “banano” variedad Williams, se evaluaron tres tratamientos de desinfección, donde el tratamiento T1, mostró el más alto porcentaje de explantes vivos y asépticos (92,86%), junto con el menor porcentaje de contaminación (7,14%) (Figura 1). La sobrevivencia se evidenció por la continuidad del crecimiento y la coloración verde en la base de las yemas (Anexo; Figura 18). Estos resultados se deben al periodo de inmersión de 15 minutos, que posibilitó una óptima penetración del hipoclorito de sodio en los tejidos, mientras que la concentración utilizada (3%) resultó idónea para eliminar los microorganismos contaminantes sin ocasionar daños a los tejidos circundantes. Se tiene reportes con estudios similares, donde emplearon alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 4% y 1,5%, con tiempos de inmersión entre 15 y 30 min, respectivamente, incubados en el medio MS líquido con estreptomicina y penicilina, obteniendo un 93,4% de explantes sanos y un 6,6% de contaminados (15). En otro experimento realizado con una doble desinfección con alcohol al 70%, seguido por hipoclorito de sodio al 2% durante 10 y 20 minutos, obtuvieron un 49% de explantes vivos sin oxidación y un 24% de contaminación en la variedad Pacovan (16). En contraste, en este estudio se obtuvo un alto porcentaje de sobrevivencia y baja contaminación mediante un proceso de desinfección simple y sin la necesidad de utilizar antibióticos, para evitar posibles efectos fitotóxicos en los explantes.

El tratamiento T2 presentó un 60% de explantes asépticos, pero con oxidación, debido al daño mecánico por cortes imprecisos y magulladuras de las pinzas (Anexo, Figura 18). El porcentaje de contaminación fue de 40% (Figura 1). Los explantes contaminados estaban en proceso de necrosis. El crecimiento de los microorganismos se reveló después de 14 días, tenía apariencia lechosa y de forma irregular, que podría tratarse de bacterias (Anexo; Figura 19), mientras que la muerte de los explantes podría atribuirse a la liberación de metabolitos tóxicos en los tejidos colonizados por estos microorganismos (30 - 32). Es probable que la contaminación haya provenido de la manipulación del personal de trabajo dentro de la cabina de flujo laminar (10).

Con respecto al tratamiento control T0, donde los explantes solamente se desinfectaron antes del ingreso a la cabina de flujo laminar, se observó el mayor porcentaje de contaminación (80%), lo que sugiere que la falta de desinfección con NaClO permitió la sobrevivencia de contaminantes y su posterior proliferación (33 - 35), por ello, su uso en la desinfección *in vitro* de tejidos vegetales es muy importante (36).

El uso excesivo de agentes desinfectantes acentúa la oxidación en los explantes debido su efecto abrasivo en los tejidos blandos vegetales, comprometiendo su sobrevivencia, por tal razón, en el estudio actual se optó por evitar el uso de alcohol e hipoclorito de sodio en la desinfección previa a la introducción en la cabina de flujo laminar del material vegetal (16, 31).

La presencia de sustancias fenólicas en el medio de cultivo, liberadas por el explante, tiene un efecto autocatalítico, por lo que la adición de antioxidantes se considera un método de control efectivo (37, 38); sin embargo, en el tratamiento testigo (M0), que no contenía antioxidantes ni reguladores de crecimiento, se obtuvo un 100% de explantes sin oxidación (grado de oxidación 0) (Figura 3), mientras que los tratamientos que contenían ácido ascórbico, cisteína y carbón activado (M1, M2 y M3) presentaron un 10% a 20% de explantes con grados de oxidación 2 y 3, respectivamente (Figura 4, Figura 5 y Figura 6) y entre 70% a 80% de explantes con grado de oxidación 0. Estos resultados podrían indicar que el problema de oxidación está relacionado con la presencia de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo y que los antioxidantes utilizados no evitaron completamente el oscurecimiento en los explantes, mostrando porcentajes muy similares en el grado de oxidación. En otro estudio en la variedad Williams, usando una combinación de 100 mg/l de ácido ascórbico y 60 mg/l de cisteína, sin la adición de BAP, se logró obtener 98% de explantes establecidos sin oxidación, un porcentaje mayor al nuestro (25).

Las respuestas morfoanatómicas de los explantes en el tratamiento M0 fueron bajas respecto a la altura y anchura, con 1,14 cm y 0,96 cm promedio, respectivamente (Figura 7 y Figura 8) y la brotación fue nula (Figura 9). En cuanto al número de raíces y porcentaje de explantes que las desarrollaron, fueron los más altos, con 1,2 raíces en promedio y 40% de explantes (Figura 13 y Figura 14), estos valores se repitieron en el número de hojas y porcentaje de explantes que las produjeron (Figura 11 y Figura 12), pero fueron los segundos más altos, después del M1. Es probable que estos resultados se deban a la falta de bencilaminopurina en el medio de cultivo, que no permitió la brotación, pero sí la mayor producción de raíces.

Los explantes sometidos a los tratamientos M1 y M2, presentaron alturas promedio similares, de 1,52 cm y 1,54 cm, respectivamente (Figura 7), pero difirieron en la anchura, donde el tratamiento M2 destacó sobre todos los demás con 1,48 cm (Figura 8). En M1, el número promedio de hojas y de explantes que las desarrollaron fue mayor (Figura 11 y Figura 12), a comparación de M2, que obtuvo los valores más bajos tanto en el número de hojas como en el número de raíces y porcentaje de explantes que las produjeron (Figura 13 y Figura 14). Con respecto a la brotación, se reportó una baja producción de 1,2 y 1,1 brotes en promedio, respectivamente (Figura 9) y solo la mitad de explantes lograron generarlos (Figura 10), estos resultados divergen de estudios hechos en otras variedades de banano, como en la variedad Giant Cavendish, donde la

concentración de BAP a 1 mg/l fue la más eficaz, porque presentó 4,67 brotes por explante (4) y en la variedad Curaré enano, donde se reportó una media de 2,57 brotes por explante con 4 mg/l de BAP (13). A pesar de usarse concentraciones de BAP semejantes, esta variación puede deberse a los niveles de auxinas y citoquininas endógenas que posee cada variedad, generando diferentes respuestas frente a los reguladores de crecimiento adicionados (39 - 42).

Los explantes del tratamiento M3, obtuvieron la mayor altura promedio con 1,67 cm y la segunda mayor anchura promedio con 1,28 cm (Figura 7 y Figura 8). El número de hojas y raíces fue de 1,22 y 1,11 en promedio, respectivamente, valores semejantes a los del tratamiento control (Figura 11 y Figura 13). Referente a la brotación, no se observó desarrollo (Figura 9). Los datos de este tratamiento discrepan de los presentados en la variedad Cavendish, registrándose brotación y un mayor número de hojas, con 1,63 en promedio, pero una baja altura, de 1 cm, empleando 5 mg/l de BAP, 1 mg/l de AIA y 0,1% de carbón activado (20). Estas diferencias podrían atribuirse a la alta concentración de carbón activado utilizado en este tratamiento (3 g/l) que pudo provocar la adsorción de la bencilaminopurina, aunque este efecto aún no se comprende completamente (43 - 45). Estudios en los cambios morfoanatómicos en vástagos de *Musa sp.* variedad Williams bajo 0 mg/l, 2,5 mg/l y 5 mg/l de BAP, registraron un aumento en la altura promedio, número de hojas y raíces a medida que decrecía la concentración de BAP utilizada, mientras que la brotación solo ocurrió en los tratamientos que la tenían presente, al igual que en nuestro estudio, con la diferencia que los valores de todas las variables fueron superiores a los nuestros (21).

Se realizó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis para evaluar las respuestas morfoanatómicas de los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams, entre los tratamientos formulados (M0, M1, M2 y M3). En la evaluación de la altura, número de hojas y número de raíces, la prueba de Kruskal Wallis indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 4, Tabla 7 y Tabla 8); sin embargo, en la anchura, los tratamientos M2 y M3 mostraron diferencia estadísticamente significativa del M0, cuyos promedios fueron más altos en comparación con el testigo (Tabla 5). En el caso del número de brotes, la prueba de Kruskal Wallis fue significativa, pero al realizar pruebas de comparación de pares, descrito por Conover (46), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ningún tratamiento (Tabla 6). Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis debido a que las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas no fueron favorables para un análisis paramétrico como el ANOVA.

V. CONCLUSIONES

1. El tratamiento T1 fue adecuado para la desinfección y obtención de explantes asépticos de la variedad Williams de *Musa sp.* L. durante la fase de establecimiento *in vitro*.
2. Los tratamientos con distintas concentraciones de bencilaminopurina en combinación con agentes antioxidantes no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en las respuestas morfoanatómicas; altura, número de brotes, hojas y raíces de *Musa sp.* L. variedad Williams, durante la etapa de establecimiento *in vitro*.
3. Los tratamientos M2 y M3 presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) del tratamiento M0 para la respuesta “anchura” de *Musa sp.* L. variedad Williams, durante la etapa de establecimiento *in vitro*.
4. El efecto de los agentes antioxidantes utilizados, como el carbón activado y las combinaciones de ácido ascórbico y cisteína, no atenuaron la oxidación en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams.

VI. RECOMENDACIONES

1. Utilizar el tratamiento T1, solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 15 minutos, para la desinfección eficaz de explantes de banano.
2. Investigar con más profundidad la interacción del carbón activado con la bencilaminopurina en la fase de establecimiento *in vitro*.
3. Realizar estudios en las siguientes fases de multiplicación, enraizamiento y aclimatación, para lograr un protocolo eficiente y completo de propagación *in vitro* de banano.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rival A. Breeding plantation tree crops: Tropical species [Internet]. New York (USA): Springer Science Business Media; 2009 [Citado 15 Mar 2023]; 104(6): 7-8. Disponible en: <https://europepmc.org/article/PMC/2766199>
2. Vézina A. Cavendish subgroup [Internet]. Promusa. 24 Oct 2017 [28 Jul 2020; Citado 15 Mar 2023]. Disponible en: <https://www.promusa.org/Cavendish+subgroup>
3. Brown A, Tumuhimbise R, Amah D, Uwimana B, Nyine M, Mduma H, *et al.* Bananas and Plantains (*Musa* spp.). Genetic Improvement of Tropical Crops [Internet]. 2017 [Citado 20 Feb 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320723932_Bananas_and_Plantains_Musa_spp
4. Mekonen G, Egigu MC, Muthsuwamy M. *In vitro* Propagation of Banana (*Musa paradisiaca* L.) Plant Using Shoot Tip Explant. Turkish JAF Sci.Tech. [Internet]. 2021 [Citado 20 Feb 2022]; 9(12): 2339-2346. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24925/turjaf.v9i12.2339-2346.2883>
5. Aguilar R, Arévalo CG, Morales A, Galecio M. Hongos asociados a la necrosis de haces vasculares en el cultivo de banano orgánico: síntomas, aislamiento e identificación, y alternativas de manejo integrado. Scientia Agropecuaria [Internet]. 2021 [Citado 15 Feb 2022]; 12(2): 249-256. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.028>
6. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). Exportaciones de banano orgánico superan los US\$ 117 millones hasta setiembre de este año [Internet]. Gob.pe. 2019 [Citado 10 Feb 2022]. Disponible en: Exportaciones de banano orgánico superan los US\$ 117 millones hasta setiembre de este año - Gobierno del Perú (www.gob.pe)
7. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). Reporte Estadístico de Banana [Internet]. 2021 [Citado 10 Feb 2022]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/sse/informes-publicaciones/1892278-reporte-estadistico-de-banana>

8. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Guía para la implementación de buenas prácticas agrícolas para el cultivo de plátano [Internet]. Perú. 2020 [Citado 12 Feb 2022]. Disponible en: GUÍA PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS (BPA) PARA EL CULTIVO DE PLATANO (senasa.gob.pe)

9. Díaz MI, Flor BA, Enciso CR, González LR. El carbón activado y las condiciones de oscuridad en la micropropagación de banana variedad Nanicão. Rev. colomb. biotecnol [Internet]. 2016 [Citado 09 Feb 2022]; 18(2): 140-146. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.55618>

10. Roca W & Mroginski L. Cultivo de tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones [Internet]. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Colombia; 1991 [Citado 15 Mar 2023]. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Cultivo_de_tejidos_en_la_agricultura.pdf

11. Mederos MS, Plasencia CI, Varela CC. Biotecnología vegetal: obtención de plantas *in vitro* [Internet]. Universidad de laguna. España; 2003 [Citado 15 Mar 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8295215>

12. Lincoln T & Zeiger E. Fisiología vegetal. Universitat Jaume I; 2007.

13. Rams AO. Efecto del ácido indolbutírico y 6 bencilaminopurina en el establecimiento *in vitro* de *Persea americana* Var. Zutano [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2017 [Citado 15 Mar 2023]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10822>

14. Sharry S, Adema M, Abedini W. Plantas probeta: Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro* [Internet]. Edit. Edulp. Universidad de la Plata; 2006 [Citado 15 Mar 2023]. Disponible en: https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/SEDICI_4a69704898202ebdb79b5f1ebc9c9463

15. Ortega DF, Tamayo AC, Calderón J, Galván R. Aseptic establishment in the *in vitro* micropropagation of banana Williams (AAA, subgroup cavendish). Tierra Tropical

- [Internet]. 2011 [Citado 20 Feb 2022]; 7(2): 205–20. Disponible en: <https://www.cabi.org/agbiotechnet/abstract/20143104830>
16. Soares MR, Guerra E, Almeida De Lima A, Lopes A, Guerra F. Métodos de assepsia na multiplicação *in vitro* da bananeira ‘Pacovan’ (*Musa spp.*). Res Soc Dev [Internet]. 2021 [Citado 20 Feb 2022]; 10(16): e291101623765. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23765>
 17. Murashige T & Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* [Internet]. 1962 [Citado 6 Abr 2022]; 15(3): 473–497. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
 18. Yerutí MF, Cataldi MC, Duarte ON, Díaz LM. Protocolo de desinfección para establecimiento *in vitro* de meristema apical de banano *Musa spp.* CEDAMAZ [Internet]. 2020 [Citado 21 Feb 2022]; 10(2): 47–50. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/352926818_Disinfection_protocol_for_in_vitro_establishment_of_banana_apical_meristema_Musa_spp
 19. Segura J. Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal. En: Azcón J, Bieto M, editores. Fundamentos de fisiología vegetal. Primera Edición. España: McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U. Edicions Universitat de Barcelona; 2000. p. 305-323.
 20. Sánchez GE. Comparativo de productos antifenolizantes en el cultivo de plántulas *in vitro* de Banano *Musa acuminata* var. Cavendish en Trujillo, La Libertad [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2019 [Citado 22 Feb 2022]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12337>
 21. Ramírez M, Lindorf H, García E. Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano Williams (AAA, *Musa sp.*) bajo distintas concentraciones de N6 - benciladenina. Agríc. Univ. P.R. [Internet]. 2008 [Citado 22 Dic 2022]; 92(1-2): 53-72 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/301648154_Cambios_morfoanatomicos_en_los_apices_del_vastago_y_de_la_raiz_del_banano_Williams_AAA_Musa_sp_bajo_distintas_concentraciones_de_N6-benciladenina_12

22. Khan A, Bashir A, Erum S, Khatak J, Muhammad A. Effects of 6-Benzylaminopurine and Indole-3-acetic Acid on Growth and Root Development of Banana Explants in Micropropagation Sarhad Journal of Agriculture [Internet]. 2021 [Citado 15 Mar 2023]; 37(1): 9-13. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/348376929_Effects_of_6-Benzylaminopurine_and_Indole-3-acetic_Acid_on_Growth_and_Root_Development_of_Banana_Explants_in_Micropropagation
23. Osorio SM. Establecimiento *in vitro* de plátano (*Musa × paradisiaca L.*) cv. “Curaré enano” [Tesis de pregrado]. Honduras: Universidad Zamorano; 2019 [Citado 22 Feb 2022]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6618/1/CPA-2019-T056.pdf>
24. Colmenares M & Giménez C. New strategies for shoot induction in *Musa*. Latin American meeting on plant Biotechnology REDBIO; 4 al 8 de junio de 2001; Goiania-Goiás, Brasil.
25. Ubilla EL. Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata*) -variedades Gros Michel y Williams- a partir de meristema [Tesis de pregrado]. Honduras: Universidad Zamorano; 2016 [Citado 21 Feb 2022]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1045715?show=full>
26. Al Ghasheem N, Sharada M, Sudarshana M, Hasan B, Azeb I, Alghasheem K. Effect of variety and sucrose concentration on banana (*Musa spp*) varieties on *in vitro* propagation. En: Latin American conference on natural and applied sciences; 2021 Nov 5-6; Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México. [Citado 15 Abr 2022]; p. 491- 497. Disponible en: (PDF) EFFECT OF VARIETY AND SUCROSE CONCENTRATION ON BANANA (MUSA SPP) VARIETIES ON *IN VITRO* PROPAGATION (researchgate.net)
27. Velasco A. Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de cultivares de plátano [Tesis de pregrado]. Universidad técnica estatal de Quevedo, Ecuador; 2019 [Citado 5 Abr 2023]. Disponible en: Repositorio Digital UTEQ: Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de cultivares de plátano.

28. Namrata K & Pragati M. Mass in-vitro micro propagation of banana (*Musa* sp.). IJPP [Internet]. 2016 [Citado 22 Jul 2022]. 9(1):204-210. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/304661208_Mass_in-vitro_micro_propagation_of_banana_Musa_sp
29. Khatri A, Khan IA, Siddiqui SH, Ahmad M, Siddiqui KA. *In vitro* culture of indigenous and exotic banana clones for maximising multiplication. Pakistan Journal of Botany [Internet]. 1997 [Citado 22 Jul 2022]. 29(1):143-150. Disponible en: <http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/29%281%29/PJB29%281%2912.pdf>
30. Leifert C, Morris CE, Waites WM. Ecology of Microbial Saprophytes and Pathogens in Tissue Culture and Field-Grown Plants: Reasons for Contamination Problems problems *in vitro*. Critical Reviews in Plant Sciences [Internet]. 1994 [Citado 9 Feb 2023]; 13(2): 139-183. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352689409701912>
31. Pequeño I, Martínez G, Aguirre V, Iracheta L, Mojica V, Rodríguez G, *et al.* Efecto del NaClO sobre la actividad de la polifenol oxidasa en explantes de hoja y peciolo de dos genotipos de *Jatropha curcas* L. Bioagro [Internet]. 2015 [Citado 10 Feb 2023]; 27(3): 167-172. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612015000300005&script=sci_arttext
32. Hernández Y & González M. Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento *in vitro* de frutales perennes. Cultrop [Internet]. 2010 [Citado 13 Feb 2023]; 31(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400015
33. Henaó S, Vásquez MC, Hoyos LF, Torres JD, Hoyos-Carvajal LM. Fungal endophytes in bananas cv Manzano affected by Fusarium. Afr. J. Agric. Res. [Internet]. 2019 [Citado 8 Feb 2023]; 14(7): 430-438. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2018.13736>
34. Pocasangre L, Sikora RA, Vilich V, Schuster RP. Survey of banana endophytic fungi from central America and screening for biological control of the burrowing nematode (*Radopholus similis*). InfoMusa [Internet]. 2000 [Citado 8 Feb 2023]; 9(1): 3-5. Disponible en: https://www.actahort.org/books/531/531_47.htm

35. Cuevas FF, López R, Berlanga AM, Ayala MA, Sánchez JC. Riqueza foliar de hongos endófitos cultivables aislados de plantas de banano (*Musa spp.*) con manejo orgánico. *Biología y sustentabilidad* [Internet]. 2022 [Citado 8 Feb 2023]; 7(1): 1-11. Disponible en: <https://revistas.uaz.edu.mx/index.php/biologiaysust/article/view/1394/1379>
36. Fukuzaki S. Mechanisms of Actions of Sodium Hypochlorite in Cleaning and Disinfection Processes. *Biocontrol Science* [Internet]. 2006 [Citado 30 May 2023]. 11(4):147-157. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bio1996/11/4/11_4_147/_pdf
37. Azofeifa A. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana* [Internet]. 2009 [Citado 18 Mar 2023]; 20(1): 153-175. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43711514016>
38. Vangapandu T, Viswanath M, Anindita R. Micro propagation in Banana: A review. *The Pharma Journal* [Internet]. 2021 [Citado 18 Mar 2023]; 10(8): 966-974. Disponible en: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2021/vol10issue8/PartN/10-6-224-631.pdf>
39. Arinaitwe G, Rubaiyago PR, Magambo MJS. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa spp.*) Cultivars. *Hort Sci* [Internet]. 2000 [Citado 18 Mar 2023]; 86: 13 – 21. Disponible en: (PDF) Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa spp.*) cultivars (researchgate.net)
40. Sipen P & Davey MR. Effects of N6-benzylaminopurine and indole acetic acid on *in vitro* shoot multiplication, nodule-like meristem proliferation and plant regeneration of Malaysian bananas (*Musa spp.*). *Tropical life sciences research* [Internet]. 2012 [Citado 19 Mar 2023]; 23(2): 67–80. Disponible en: Effects of N(6)-benzylaminopurine and Indole Acetic Acid on *In Vitro* Shoot Multiplication, Nodule-like Meristem Proliferation and Plant Regeneration of Malaysian Bananas (*Musa spp.*) - PubMed (nih.gov)
41. Rahman S, Biswas N, Hassan MM, Ahmed MG, Mamun ANK, Islam MR, *et al.* Micro propagation of banana (*Musa sp.*) cv. Agnishwar by *in vitro* shoot tip culture. *International Research Journal of Biotechnology* [Internet]. 2013 [Citado 19 Mar 2023]; 4: 83–88. Disponible en: Micro propagation of banana (*Musa sp.*) cv. Agnishwar by *In vitro* shoot tip culture | Request PDF (researchgate.net)

42. Iqbal MM, Muhammad A, Hussain I, Bilal H. Optimization of *in vitro* micro propagation protocol for banana (*Musa Sapientum* L.) under different hormonal concentrations and growth media. *Int. J. Agric. Res. Innov* [Internet]. 2013 [Citado 19 Mar 2023]; 2: 23–27. Disponible en: (PDF) Optimization of *In Vitro* Micropropagation Protocol for Banana (*Musa Sapientum* L.) Under Different Hormonal Concentrations and Growth Media (researchgate.net)
43. Dennis T. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances* [Internet]. 2008 [Citado 4 Mar 2023]; 26(6): 618-31. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975008000864?via%3Dihub>
44. Pan M & Staden J. The use of charcoal *in vitro* culture – A review. *Plant Growth Regulation* [Internet]. 1998 [Citado 4 Mar 2023]; 26: 155–163. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1006119015972#citeas>
45. Oliveira RP & Silva S. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [Internet]. 1997 [Citado 18 Mar 2023]; 32: 415-420. Disponible en: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47111/1/AVALIACAO-DA-MICROPROPAGACAO-COMERCIAL.pdf>
46. Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics* John Wiley & Sons, Inc., New York. 1999.
47. USDA, Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System. [Internet]. Germplasm Resources Information Network (GRIN Taxonomy). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. 2022 [Citado 24 Oct 2023]. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=483465>. Accessed 24 October 2023.
48. Khalid IA. longitudinal section of a corm of the "Misore" banana (semidiagrammatic) [Internet]. 2018 [Citado 24 Oct 2022]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/abukhalil/lec-ii-banana-and-plantain>

VIII. ANEXOS

Tabla 9. Clasificación taxonómica.

Taxonomía	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Zingiberales
Familia:	Musaceae
Género:	Musa
Especie:	Musa sp. L

*Fuente: United States Department of Agriculture, 2023 (47).

Tabla 10. Medición de los hijuelos de banano variedad Williams.

Hijuelo* (N°)	Altura [L] (cm)	Circunferencia del pseudotallo [a1] (cm)	Circunferencia del pseudotallo [a2] (cm)	Circunferencia del pseudotallo [a3] (cm)
1	43	19	31	50
2	41	14	28,9	45
3	39,5	17,1	30	43,5
4	30,5	17,3	27	42
5	38	17,8	30	47
Promedio	38,4	17,04	29,38	45,5

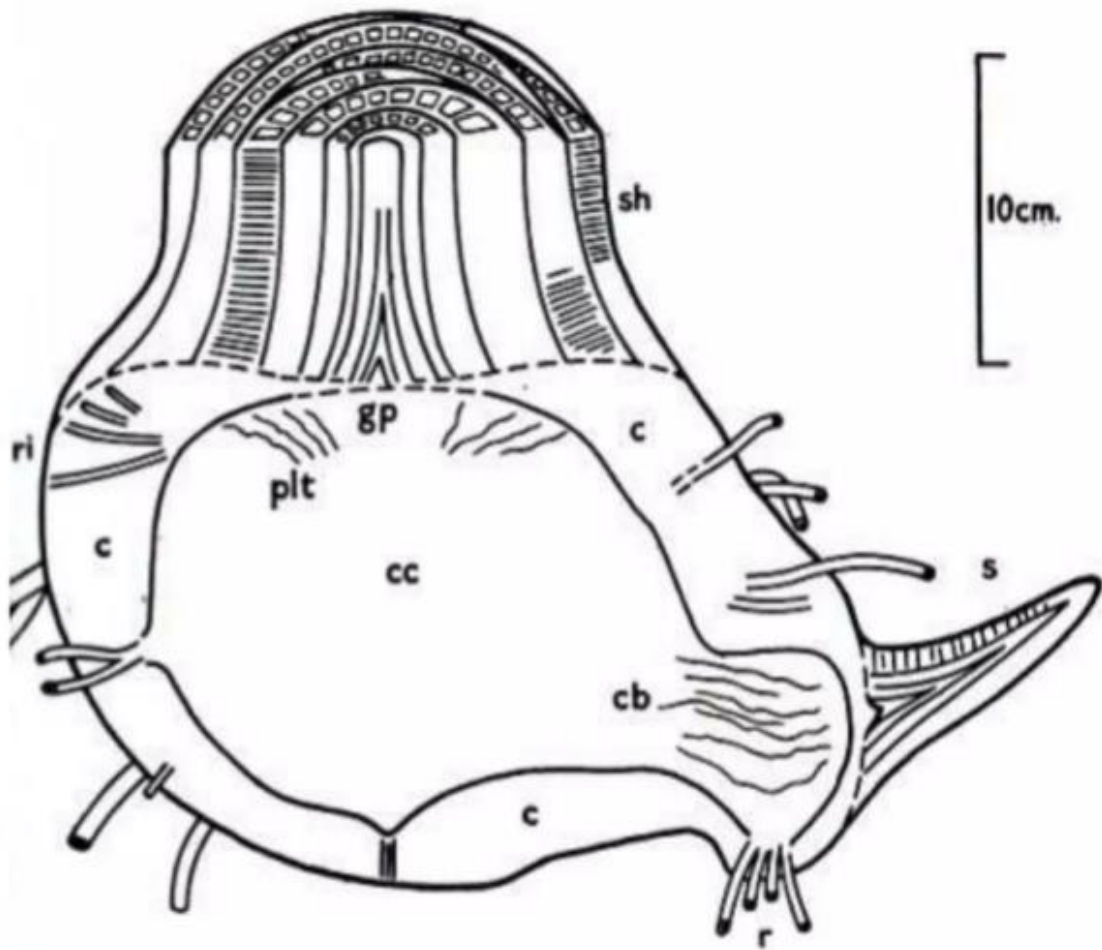


Figura 15. Sección longitudinal del rizoma de banano; sh: vainas foliares; s: hijuelo o retoño; gp: punto de crecimiento y cambium; c: corteza; cc: cilindro central; ri: grupo de cuatro raíces iniciales; r: grupo de cuatro raíces emergidas; plt: raquis principal de la hoja; cb: haces centrales. Adaptada de: Khalid, 2018 (48).

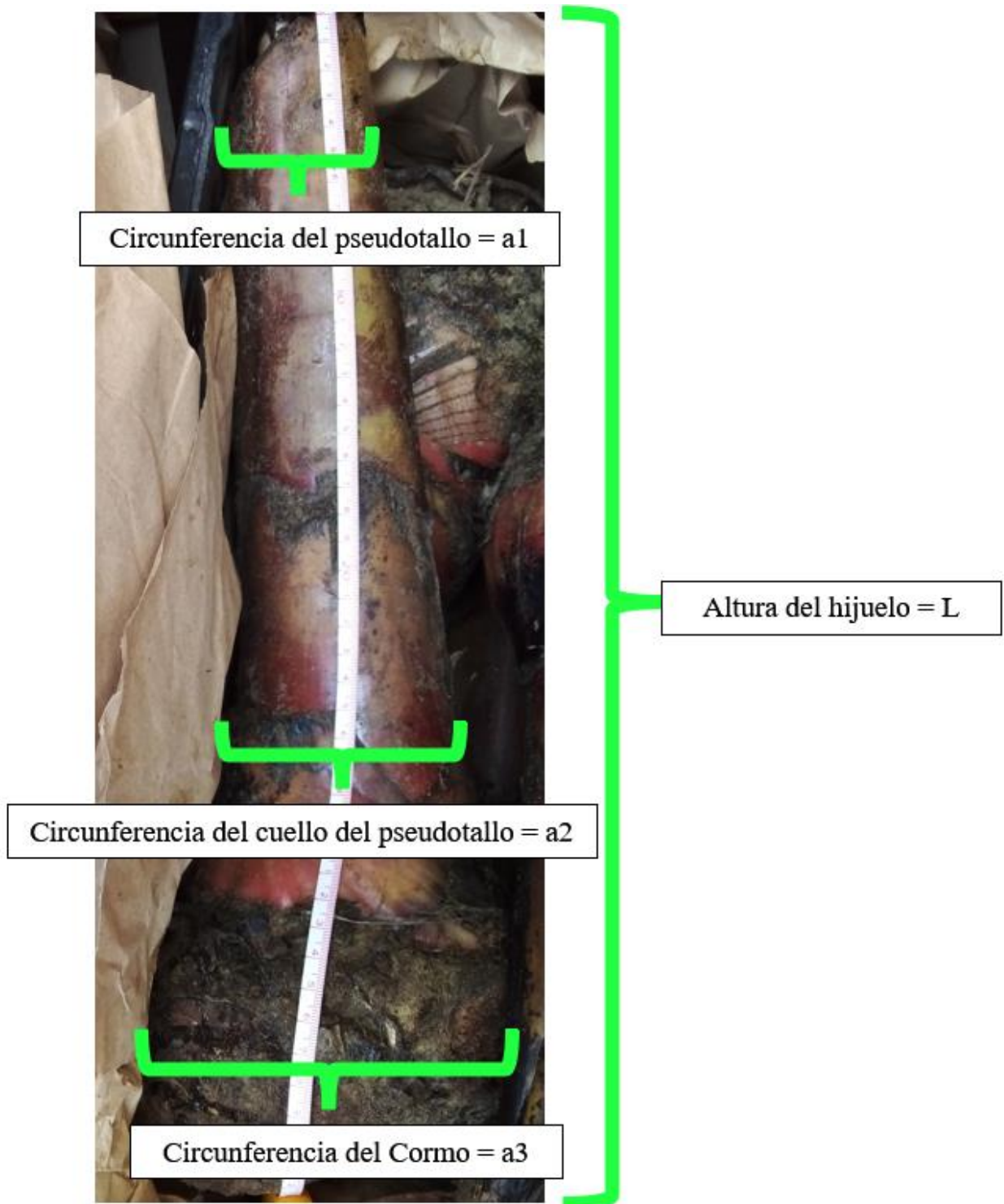


Figura 16. Partes medidas de un hijuelo de *Musa sp.* L. variedad Williams.

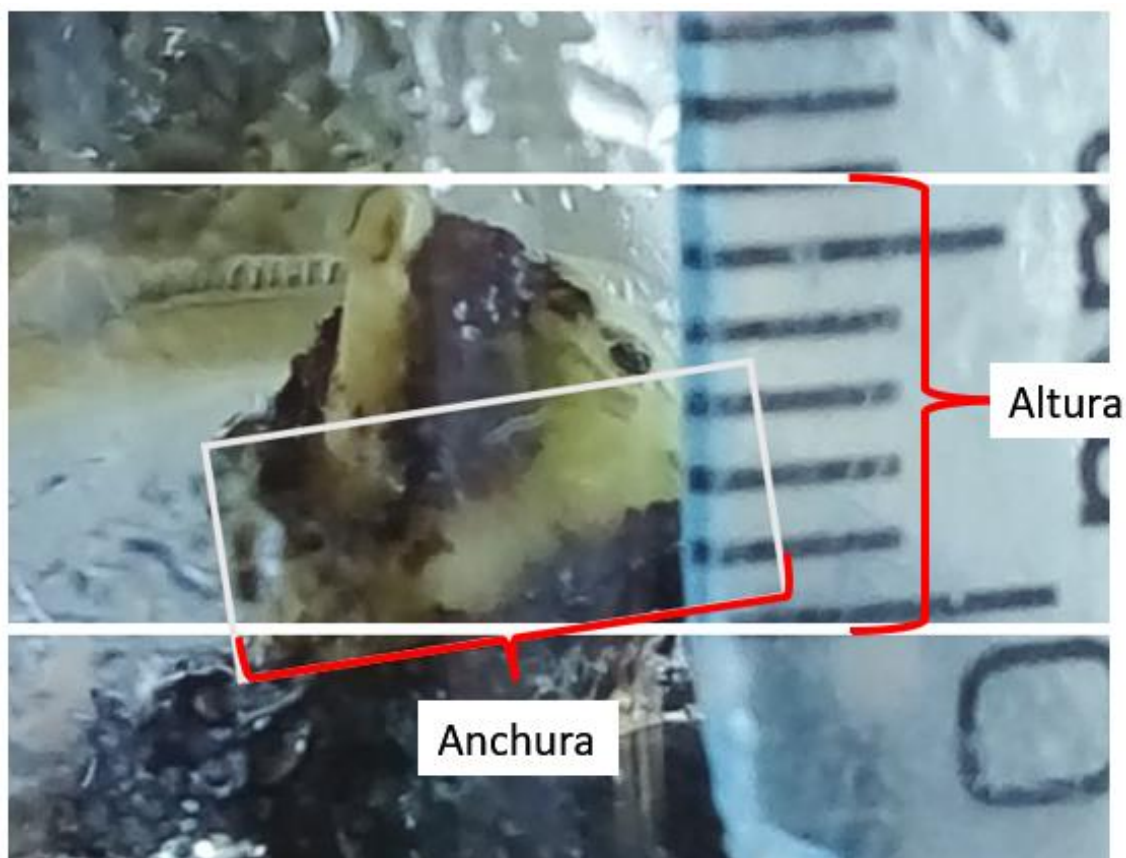


Figura 17. Medición de la altura y anchura de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams.

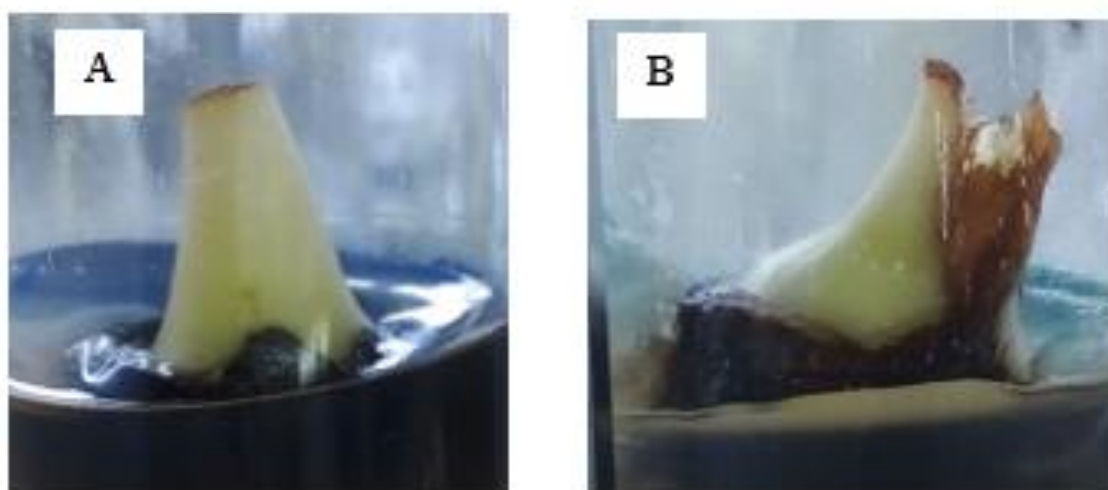


Figura 18. Explantes sobrevivientes: A) Tratamiento T1 y B) Tratamiento T2.



Figura 19. Explante necrosado de *Musa sp.* L. variedad Williams.



Figura 20. Corte de los hijuelos de *Musa sp.* L. variedad Williams fuera de la cabina de flujo laminar: A) Primer corte. B) Segundo corte. C) Tercer corte.

Tratamientos

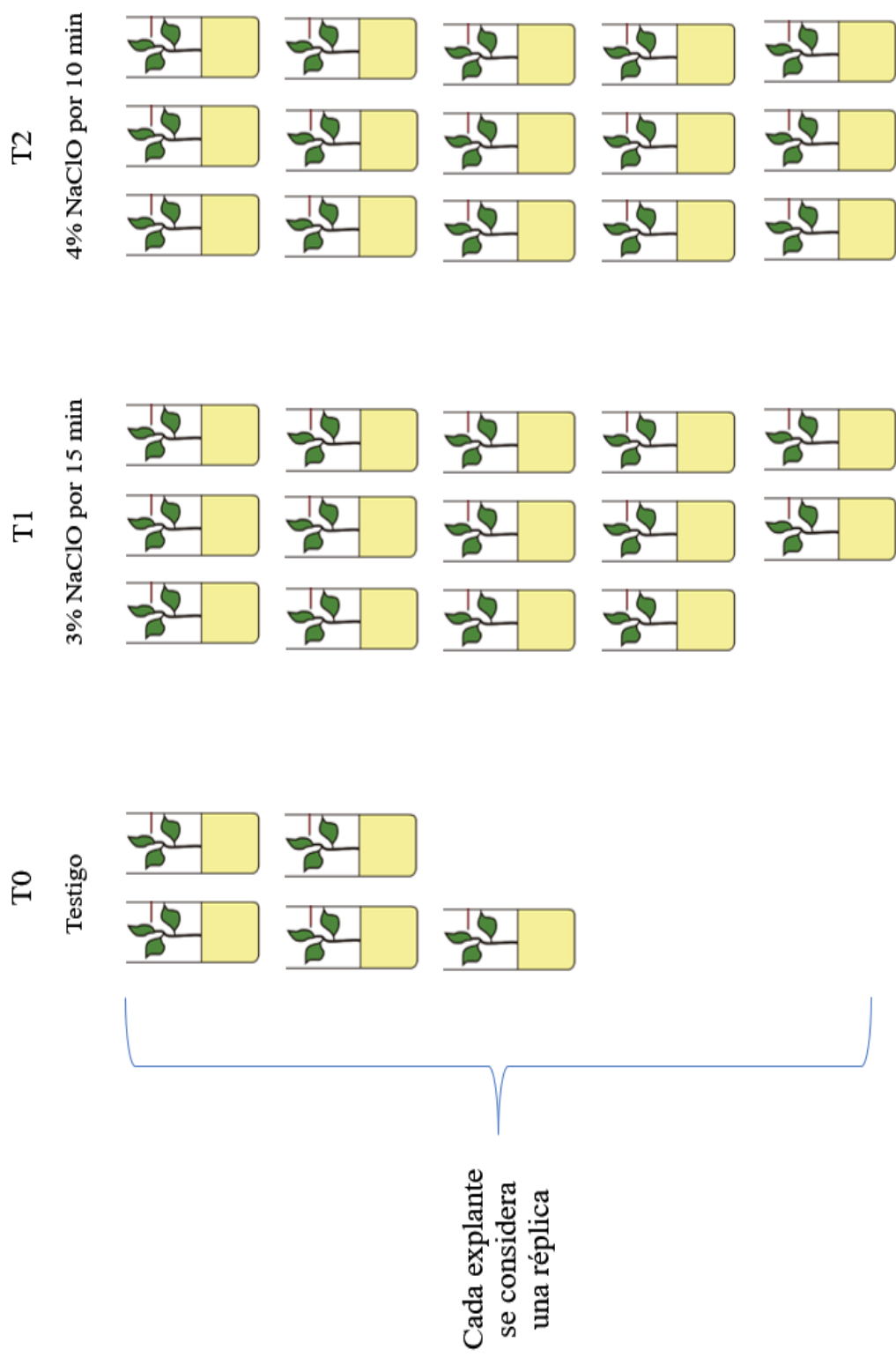


Figura 21. Diseño experimental para la evaluación de tratamientos de desinfección.

Tratamientos

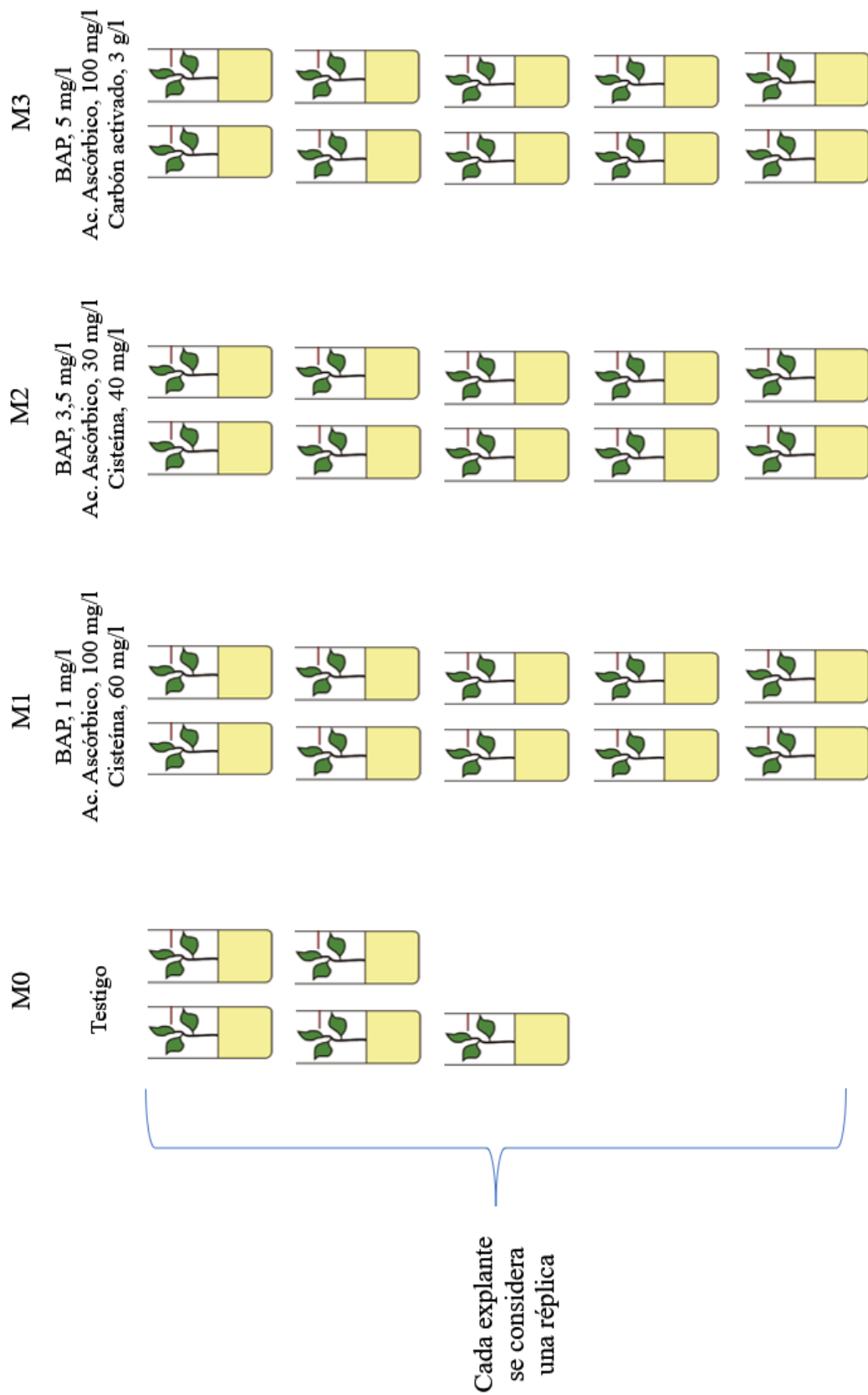


Figura 22. Diseño experimental para la evaluación de tratamientos de regulador de crecimiento y antioxidantes.

Tabla 11. Número y porcentaje de explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams sobrevivientes y contaminados sometidos a tratamientos de desinfección, a los 21 días de cultivo.

Tratamientos	Sobrevivencia		Contaminación	
	(N°)	(%)	(N°)	(%)
T0	1	20	4	80
T1	13	92,86	1	7,14
T2	9	60	6	40

Tabla 12. Número y porcentaje de los diferentes grados de oxidación presentes en los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams, sometidos a los tratamientos con bencilaminopurina y antioxidantes, en 48 días de cultivo.

Tratamientos	Grados de oxidación	Número de explantes	Porcentaje (%)
M0	0	5	100
	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
M1	0	7	70
	1	-	-
	2	1	10
	3	2	20
M2	0	8	80
	1	-	-
	2	-	-
	3	2	20
M3	0	8	80
	1	-	-
	2	1	10
	3	1	10

Tabla 13. Datos de las diferentes respuestas morfoanatómicas de los explantes *in vitro* de *Musa* sp. L. variedad Williams, a los tratamientos con bencilaminopurina y antioxidantes, en 48 días de cultivo.

Tratamientos	Altura (cm)	Anchura (cm)	Brotes (N°)	Hojas (N°)	Raíces (N°)
M0	1,3	0,9	0	2	0
	0,9	1	0	0	0
	0,6	0,9	0	0	2
	2,2	1,2	0	4	4
	0,7	0,8	0	0	0
Promedio M0	1,14	0,96	0	1,2	1,2
M1	1,1	1,2	0	0	0
	Necrosado	Necrosado	6	Necrosado	Necrosado
	1,3	1,5	0	0	2
	2,8	1	0	5	0
	1,7	1,2	0	2	0
	0,9	1	3	0	0
	1,1	1	0	2	0
	Necrosado	Necrosado	0	Necrosado	Necrosado
	0,7	0,8	1	0	0
	2,55	1,2	2	7	3
Promedio M1	1,52	1,11	1,2	2	0,625
M2	Necrosado	Necrosado	3	Necrosado	Necrosado
	Necrosado	Necrosado	0	Necrosado	Necrosado
	1	1,3	0	0	0
	1,1	2	1	0	0
	1,5	2,1	4	0	0
	1,1	1	2	0	0
	1	0,9	0	0	0
	1,7	1,8	0	0	0
	2,4	1,2	0	3	0
	2,5	1,5	1	3	3
	Promedio M2	1,54	1,48	1,1	0,75
M3	0,9	1	0	0	0
	1,05	1,2	0	0	0
	1,8	1,6	0	0	0
	1,1	1,5	0	0	0
	2,9	1	0	2	2
	Necrosado	Necrosado	0	Necrosado	Necrosado
	1	1	0	0	0
	0,7	1	0	0	0
	1,8	1,25	0	3	0
	3,8	2	0	6	8
	Promedio M3	1,67	1,28	0	1,22

Tabla 14. Medidas estadísticas resumen de la altura de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

Tratamientos	Número de observaciones	Media	Mediana	Varianza muestral	Desviación estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
M0	5	1,14	0,9	0,42	0,65	0,29	0,6	2,2
M1	8	1,52	1,2	0,6	0,77	0,27	0,7	2,8
M2	8	1,54	1,3	0,38	0,62	0,22	1	2,5
M3	9	1,67	1,1	1,1	1,05	0,35	0,7	3,8

Tabla 15. Medidas estadísticas resumen de la anchura de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

Tratamientos	Número de observaciones	Media	Mediana	Varianza muestral	Desviación estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
M0	5	0,96	0,9	0,02	0,15	0,07	0,8	1,2
M1	8	1,11	1,1	0,04	0,21	0,07	0,8	1,5
M2	8	1,48	1,4	0,21	0,45	0,16	0,9	2,1
M3	9	1,28	1,2	0,12	0,35	0,12	1	2

Tabla 16. Medidas estadísticas resumen del número de brotes de los explantes *in vitro* de *Musa sp. L.* variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

Tratamientos	Número de observaciones	Media	Mediana	Varianza muestral	Desviación estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
M0	5	0	0	0	0	0	0	0
M1	10	1,2	0	3,96	1,99	0,63	0	6
M2	10	1,1	0,5	2,1	1,45	0,46	0	4
M3	10	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 17. Medidas estadísticas resumen del número de hojas de los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

Tratamientos	Número de observaciones	Media	Mediana	Varianza muestral	Desviación estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
M0	5	1,2	0	3,2	1,79	0,8	0	4
M1	8	2	1	7,14	2,67	0,94	0	7
M2	8	0,75	0	1,93	1,39	0,49	0	3
M3	9	1,22	0	4,44	2,11	0,7	0	6

Tabla 18. Medidas estadísticas resumen del número de raíces de los explantes *in vitro* de *Musa sp.* L. variedad Williams, a los 48 días de cultivo.

Tratamientos	Número de observaciones	Media	Mediana	Varianza muestral	Desviación estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
M0	5	1,2	0	3,2	1,79	0,8	0	4
M1	8	0,63	0	1,41	1,19	0,42	0	3
M2	8	0,38	0	1,13	1,06	0,38	0	3
M3	9	1,11	0	7,11	2,67	0,89	0	8

Tabla 19. Composición del medio MS (17) modificado por el IBT.

Compuesto		Concentración (mg/l)
Micronutrientes		
Sulfato de manganeso tetrahidratado	MnSO ₄ .4H ₂ O	15.6
Sulfato de zinc heptahidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Ácido trioxobórico	H ₃ BO ₃	6.2
Yoduro de potasio	KI	0.83
Molibdato de sodio	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.25
Sulfato de cobre pentahidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
Cloruro de cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Sulfato ferroso heptahidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Etilendiaminotetraacetato disódico dihidrato	Na ₂ .EDTA.2H ₂ O	37.3
Macronutrientes		
Nitrato de amonio	NH ₄ NO ₃	1650
Nitrato de potasio	KNO ₃	1900
Cloruro de calcio dihidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
Sulfato de magnesio heptahidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Fosfato de potasio monobásico	KH ₂ PO ₄	170
Vitaminas		
Myo-inositol		100
Ac. Nicótico		0.5
Piridoxina		0.5
Glicina		2
Tiamina		1



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA MOLINA

Instituto de Biotecnología



CERTIFICADO

La Ph. D, María De Lourdes Tapia Y Figueroa responsable de Área de Cultivo de Tejidos del Instituto de Biotecnología de la Universidad Agraria de la Molina

CERTIFICA:

Por la presente, el Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, otorga el siguiente certificado:

Que, como parte de la investigación de tesis titulada "Factores que influyen en el establecimiento in vitro de Musa sp. (banano) variedad Williams," realizada en el Área de cultivo de tejidos vegetales del Instituto de Biotecnología (IBT), se han entregado un lote de hijuelos de banano de la variedad "Williams" provenientes del departamento de Piura, para el desarrollo de dicha investigación.

La autora de este estudio es la bachiller Luz Clarita Bello Noa, quien pertenece a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Esta colaboración refleja el compromiso del IBT en apoyar la investigación y promover el intercambio académico.

Este certificado se otorga a solicitud de la parte interesada para fines académicos y de documentación relacionados con la investigación mencionada.

La Molina, 24 de octubre del 2023

Atentamente,

Ph. D, María de Lourdes Tapia y Figueroa
Responsable del área de cultivo de tejidos
IBT- UNALM

Dra. Rosa Espejo Joya
Directora del Instituto de Biotecnología
UNALM