

PROPAGACIÓN *In Vitro* DEL PLÁTANO MACHO (*Musa* sp. AAB) CLÓN SOBRINO CON LOS BIOESTIMULANTES CUBANOS BB-6 Y BIOSTAN COMO SUSTITUTOS DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO

E. Héctor[✉], A. Torres, S. Algoe, M. Cabañas y A. López

ABSTRACT. The possibility of using Cuban bio-stimulants, as substitutes for conventional growth regulators in the full propagation of bananas and plantains, would open a new prospect for those biofactories at present devoted to *Musa* genus multiplication in Cuba, and would also increase the exportable potentials of Cuban biotechnological products. The effects of Cuban bio-stimulants, BB-6 and Biostan, as potential substitutes for growth regulators at the *in vitro* establishment, multiplication and rooting stages, and their long-term action on the acclimatization of *macho* plantain (*Musa* sp. AAB) clone *Sobrino* were studied. At the establishment stage, substituting indoleacetic acid for BB-6 or Biostan increased explant survival, leaf number and explant length, without affecting the number of days required to perform the first subculture. At the multiplication stage, substitution did not affect multiplication index, leaf number and explant length. The addition of only bio-stimulants to the culture medium led to lower values of the variables than the control in both phases. At the rooting phase, substituting AIA for Biostan or BB-6 increased root number, average length, leaf number and vitroplant length. The effect was kept for a long time in the acclimatization phase, in which plants obtained with Biostan or BB-6 showed higher values than those attained with AIA, in all variables measured.

Key words: *Musa*, plantain, micropropagation, plant growth substances

RESUMEN. La posibilidad de emplear bioestimulantes cubanos, como sustitutos de los reguladores del crecimiento convencionales, en la propagación masiva de los plátanos y bananos abriría una nueva perspectiva, para las biofábricas que actualmente se dedican a la multiplicación del género *Musa* en Cuba, e incrementaría las potencialidades exportables de los productos biotecnológicos cubanos. Se estudió el efecto de los bioestimulantes cubanos, BB-6 y Biostan, como sustitutos potenciales de los reguladores del crecimiento en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro*, y su acción a largo plazo sobre la aclimatización del plátano macho (*Musa* sp. AAB) clón *Sobrino*. En el establecimiento, la sustitución del ácido indolacético por BB-6 o Biostan incrementó la supervivencia de los explantes, la cantidad de hojas y longitud de los explantes, sin afectar la cantidad de días requeridos para realizar el primer subcultivo. En la multiplicación, la sustitución no afectó el índice de multiplicación, la cantidad de hojas y longitud de los explantes. La adición de los bioestimulantes por sí solos al medio de cultivo condujo a valores menores que el control en las variables en ambas fases. En la fase de enraizamiento, la sustitución del AIA por Biostan o BB-6 provocó incrementos en la cantidad de raíces y su longitud promedio, la cantidad de hojas y altura de las vitroplantas. El efecto se mantuvo a largo plazo en la fase de aclimatización, en la que las plantas obtenidas con Biostan o BB-6 mostraron valores superiores a las que se obtuvieron con AIA, en todas las variables medidas.

Palabras clave: *Musa*, plátano, micropropagación, sustancias de crecimiento vegetal

INTRODUCCIÓN

Una de las vías empleadas en los últimos años, para incrementar la productividad de los laboratorios que se dedican a la multiplicación masiva de plantas a través de la organogénesis, es la sustitución parcial o total de los

reguladores del crecimiento, que tradicionalmente se emplean en estas biotecnologías, por sustancias de origen biológico, mezclas de ellas o productos resultantes de la síntesis química a partir de derivados naturales, inocuos al medio ambiente. Esta sustitución, además de constituir una alternativa al empleo de los reguladores del crecimiento, contribuye a la disminución de los costos de producción (1).

En Cuba, desde hace algunos años, se emplean a escala experimental productos bioestimulantes de diversa naturaleza en la micropropagación de especies vegetales. Entre ellos se encuentran los brasinoesteroides y

Dr.C. E. Héctor y Dr.C. A. López, Profesores Auxiliares; Dr.C. A. Torres, Profesor Titular; S. Algoe, Reserva Científica y M. Cabañas, Profesor Instructor de la Facultad de Agronomía, Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Gaveta Postal 48-19, San José de las Lajas, La Habana, CP 32 700, Cuba

✉ efidel@isch.edu.cu

sus análogos (2). El Biobras-6 (BB-6), análogo de brasinoesteroides sintetizado en la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, ha sido utilizado con éxito en la propagación *in vitro* de bananos (3, 4). Otro bioestimulante cubano es el Biostan, sintetizado a partir de humus de lombriz (5) en la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de La Habana. Este producto contiene una fracción hormonal que incluye auxinas, citoquininas y giberelinas, y ha mostrado efectos promisorios en ensayos de propagación de plátano macho (1, 6) así como en la calogénesis de arroz (7).

La posibilidad de emplear bioestimulantes cubanos, como sustitutos de los reguladores del crecimiento tradicionales en la propagación masiva de los plátanos y bananos, producidos en el país a un menor costo y sin necesidad de recurrir a las importaciones, abriría una nueva perspectiva para las biofábricas que actualmente se dedican a la multiplicación del género *Musa* en Cuba, así como incrementaría las potencialidades exportables de los productos biotecnológicos cubanos. Este trabajo se propuso evaluar el efecto del Biostan y el BB-6 en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento de la micropropagación del plátano macho (*Musa* sp. AAB) clón Sobrino, como sustitutos de los reguladores del crecimiento y estudiar el efecto a largo plazo de estos bioestimulantes, en la fase de aclimatización de las vitroplantas resultantes del proceso de micropropagación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones generales. Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de La Habana. Como material vegetal se empleó el plátano macho (*Musa* sp. AAB) clón Sobrino. El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.8 antes de la esterilización, que se realizó en autoclave a 0.15 Mpa de presión y 121°C de temperatura durante 20 minutos. Los cultivos se incubaron en una cámara de crecimiento bajo luz natural a una temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ y un fotoperíodo de 12 ± 1 horas de luz. Para la aclimatización, las vitroplantas se plantaron en bandejas de poliuretano de 70 orificios, con un volumen promedio de 80 cm³ cada uno, en el área de adaptación de la biofábrica de La Habana, en condiciones de reducción de la iluminación con malla Zarán (50 %). Como sustrato se empleó una mezcla de suelo Ferralítico Rojo típico y cachaza 1:1 (v/v). El riego se llevó a cabo por nebulización, tres veces durante el día.

Establecimiento *in vitro*. Los explantes procedían de plantas aviveradas durante 45 días, y se procesaron según lo recomendado (8). Se empleó el medio basal líquido de Murashige y Skoog (9) modificado (1), suplementado con las combinaciones de reguladores del crecimiento y bioestimulantes que aparecen en la Tabla I, estableciendo un explante por cada tubo de cultivo. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de supervivencia, cantidad de hojas y longitud de los explantes, desde la base hasta el ápice a los 21 días. Se determinó también el momento en que los explantes se encontraban listos para pasar a la fase de multiplicación (días requeridos para el primer subcultivo). Se evaluaron 20 explantes por tratamiento.

Multiplicación *in vitro*. Se utilizaron explantes obtenidos en las condiciones del tratamiento 1 de la fase de establecimiento. El medio basal fue el de Murashige y Skoog semisólido (9), modificado (1), suplementado con reguladores del crecimiento y bioestimulantes como se indica en la Tabla I. Se realizaron ocho subcultivos cada 21 días. A partir del cuarto subcultivo, se evaluaron las siguientes variables: índice de multiplicación (cantidad de nuevos explantes obtenidos a partir de cada explante inicial), cantidad de hojas y raíces. La longitud de los explantes se evaluó a partir del sexto subcultivo. Se colocaron dos explantes por cada frasco de cultivo y se evaluaron 20 explantes por tratamiento.

Enraizamiento *in vitro*. Las vitroplantas se obtuvieron según los procedimientos recomendados (8); para el establecimiento y la multiplicación se empleó el medio de Murashige y Skoog semisólido (9), modificado (1), suplementado con AIA 3 mg.L⁻¹ + 6-BAP 4 mg.L⁻¹ (establecimiento) y con AIA 0.65 mg.L⁻¹ + 6-BAP 4 mg.L⁻¹ (multiplicación). Las combinaciones de reguladores de crecimiento y bioestimulantes ensayadas en esta fase se indican en la Tabla I. Después de 21 días, se evaluaron las siguientes variables: cantidad de hojas, longitud de las vitroplantas (cm), cantidad de raíces y su longitud (cm). Se colocaron dos explantes por cada frasco de cultivo y se evaluaron 20 plantas por tratamiento.

Aclimatización *ex vitro*. Las vitroplantas procedían de los cuatro tratamientos de la fase de enraizamiento y tenían como promedio una longitud de 5 cm, tres hojas y cinco raíces. Se aclimatizaron 70 vitroplantas por tratamiento. A los 45 días del trasplante, se evaluaron las siguientes variables: cantidad de hojas, longitud de las vitroplantas (cm), cantidad de raíces, longitud de las raíces (cm) y masa seca de las vitroplantas (g), para lo cual se desecaron en un horno a 105°C durante 72 horas.

Tabla I. Combinaciones de reguladores del crecimiento y bioestimulantes ensayadas en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento del plátano macho (*Musa* sp.) clón Sobrino

Establecimiento	Multiplicación	Enraizamiento
1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 3 mg.L ⁻¹ (control)	1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 0.65 mg.L ⁻¹ (control)	1) AIA 1.3 mg.L ⁻¹ (control)
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	2) Biostan 4 mg.L ⁻¹
3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	3) BB-6 0.01 mg.L ⁻¹
4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	4) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹
5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	

Análisis estadístico. Todos los experimentos se repitieron dos veces y se utilizó en cada caso como dato primario la media de ambas repeticiones para cada tratamiento experimental. Los porcentajes de supervivencia en la fase de establecimiento se estudiaron a través del análisis de las diferencias entre proporciones (10). En el resto de las variables se empleó el análisis de varianza con arreglo a un diseño completamente aleatorizado. En estos casos, las medias se compararon a través de la dócima de Tukey para $p < 0.05$.

RESULTADOS

Efecto del Biostan y el BB-6 sobre el establecimiento *in vitro*. El empleo de los biorreguladores Biostan y BB-6, como único suplemento en el medio de cultivo (Figura 1), provocó reducciones aunque no significativas en el porcentaje de supervivencia de los explantes, mucho más acentuado en el caso del Biostan que en el del BB-6. La sustitución del AIA por el Biostan ocasionó un efecto similar al control. En cambio, el empleo del BB-6 en sustitución de la auxina incrementó hasta el 100 % la supervivencia de los explantes, aunque no difirió significativamente del tratamiento control.

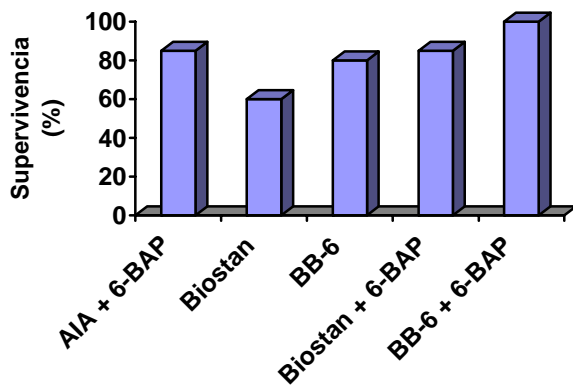


Figura 1. Efecto de las combinaciones de los reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre el porcentaje de supervivencia de los explantes

No hubo diferencias significativas con respecto al control, en los días requeridos para el primer subcultivo cuando se sustituyó el AIA por Biostan o BB-6, indistintamente (Figura 2). En cambio, el empleo único de ambos biorreguladores retardó significativamente la cantidad de días requeridos para el primer subcultivo.

Aunque el empleo de los biorreguladores por sí solos no causó diferencias significativas con respecto al control en los valores de las variables cantidad de hojas y longitud de los explantes (Tabla II), la sustitución de la auxina por Biostan o BB-6 condujo a incrementos significativos en los valores de ambas variables, siempre superiores al control y al uso de los biorreguladores por sí solos en el medio de cultivo.

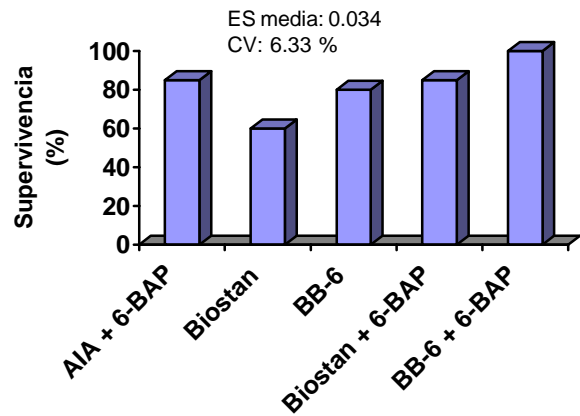


Figura 2. Efecto de las combinaciones de los reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre los días requeridos para el primer subcultivo

Tabla II. Efecto de las combinaciones de reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre la cantidad de hojas y la longitud de los explantes

Tratamientos	Cantidad de hojas	Longitud de los explantes
1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 3 mg.L ⁻¹ (control)	0.111 b	0.528 c
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	0.111 b	0.506 c
3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	0.167 b	0.494 c
4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	1.278 a	1.139 a
5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	1.389 a	0.889 b
ES media	0.068	0.042
CV (%)	4.517	5.603

Efecto del Biostan y el BB-6 sobre la multiplicación *in vitro*. La sustitución del AIA por cualquiera de los biorreguladores en estudio produjo sobre el índice de multiplicación efectos similares al control (Tabla III), a excepción de lo sucedido en el cuarto subcultivo, en el que el BB-6 0.05 mg.L⁻¹ como sustituto del AIA superó significativamente al control. El empleo de los biorreguladores por sí solos redujo significativamente el valor de esta variable. Efectos similares se manifestaron sobre la cantidad de hojas (Tabla IV) y a partir del sexto subcultivo sobre la longitud de los explantes (Tabla V). No hubo diferencias significativas entre las cantidades de raíces formadas en los cinco tratamientos (datos no mostrados).

Efecto del Biostan y el BB-6 sobre el enraizamiento *in vitro*. La utilización de los bioestimulantes en sustitución de AIA en el medio de cultivo provocó, en todos los casos, incrementos significativos con respecto al control en la cantidad de hojas y longitud de las vitroplantas (Tabla VI).

En cuanto a la cantidad de raíces y su longitud promedio, el empleo de Biostan 4 mg.L⁻¹ o BB-6 0.01 mg.L⁻¹ condujo a valores significativamente superiores al control con AIA 1.3 mg.L⁻¹, mientras que el BB-6 0.05 mg.L⁻¹ produjo resultados estadísticamente similares (Tabla VII).

Tabla III. Efecto de las combinaciones de los reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre el índice de multiplicación

Tratamientos	Índice de multiplicación en los subcultivos				
	4to	5to	6to	7mo	8vo
1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 0.65 mg.L ⁻¹ (control)	2.23 b	2.55 a	2.60 a	2.63 a	2.42 a
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	1.88 c	2.00 b	1.29 b	1.82 b	1.51 b
3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	1.88 c	2.00 b	1.25 b	1.85 b	1.62 b
4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	2.50 ab	2.50 a	2.63 a	2.85 a	2.60 a
5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	2.63 a	2.60 a	2.68 a	2.79 a	2.79 a
ES media	0.019	0.023	0.026	0.025	0.019
CV (%)	4.87	4.29	4.47	3.72	3.69

Tabla IV. Efecto de las combinaciones de los reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre la cantidad de hojas

Tratamientos	Cantidad de hojas en los subcultivos				
	4to	5to	6to	7mo	8vo
1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 0.65 mg.L ⁻¹ (control)	1.55 a	1.30 ab	1.65 a	1.65 a	2.10 b
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	0.40 b	0.30 c	1.10 b	1.70 a	2.10 b
3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	0.45 b	0.90 b	0.95 b	0.95 b	2.00 b
4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	1.55 a	0.85 b	1.65 a	1.65 a	2.20 a
5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	1.55 a	1.40 a	1.60 a	1.60 a	2.10 b
ES media	0.064	0.058	0.023	0.021	0.010
CV (%)	5.28	2.85	4.20	2.68	5.81

Tabla V. Efecto de las combinaciones de los reguladores del crecimiento y los bioestimulantes sobre la longitud de los explantes

Tratamientos	Longitud de los explantes en los subcultivos		
	6to	7mo	8vo
1) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +AIA 0.65 mg.L ⁻¹ (control)	2.62 a	2.62 a	3.06 a
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	1.51 b	1.71 b	2.30 b
3) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	1.50 b	1.46 c	2.29 b
4) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +Biostan 4 mg.L ⁻¹	2.65 a	2.67 a	3.07 a
5) 6-BAP 4 mg.L ⁻¹ +BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	2.64 a	2.64 a	3.08 a
ES media	0.050	0.048	0.032
CV (%)	4.72	4.33	6.27

Tabla VI. Efecto de los bioestimulantes sobre la cantidad de hojas y longitud de las vitroplantas en la fase de enraizamiento

Tratamientos	Cantidad de hojas	Longitud de las vitroplantas
1) AIA 1.3 mg.L ⁻¹ (control)	2.84 c	5.33 b
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	3.84 b	5.85 a
3) BB-6 0.01 mg.L ⁻¹	4.37 a	5.87 a
4) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	4.58 a	6.01 a
ES media	0.026	0.057
CV (%)	7.71	8.66

Tabla VII. Efecto de los bioestimulantes sobre la cantidad de raíces y la longitud promedio de las raíces en la fase de enraizamiento

Tratamientos	Cantidad de raíces	Longitud de las raíces
1) AIA 1.3 mg.L ⁻¹ (control)	4.58 c	5.03 c
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	5.63 a	5.91 b
3) BB-6 0.01 mg.L ⁻¹	5.42 ab	6.79 a
4) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	4.95 bc	5.19 c
ES media	0.022	0.097
CV (%)	5.91	4.77

Efecto del Biostan y el BB-6 sobre la aclimatización. El empleo de los bioestimulantes provocó incrementos con respecto al control en la cantidad de raíces, su longitud, la cantidad de hojas, longitud y masa seca de las plantas (Tabla VIII).

DISCUSIÓN

En el establecimiento y la multiplicación de explantes de plátanos y bananos se emplean medios de cultivo, que combinan la acción de auxinas y citoquininas (11). Un primer examen de los resultados de la aplicación de Biostan, en ambas fases, sugiere que las auxinas presentes en este bioestimulante en concentraciones de hasta 10 mg.g⁻¹ (12) podrían sustituir al ácido indolacético, cuando se combinan con una adecuada cantidad de citoquininas como la 6-bencilaminopurina (tratamiento 4). También se plantea que el Biostan contiene citoquininas (12) solo en una pequeña concentración (hasta 1 mg.g⁻¹), por lo que, continuando con este mismo enfoque, no sería capaz de reemplazar a todos los reguladores del crecimiento del medio de cultivo y conduciría a resultados inferiores, como ha sucedido en este caso (tratamiento 2).

Parece poco probable que la concentración final de auxinas aportada por el Biostan al medio (0.04 mg.L⁻¹), 15 veces inferior a la del tratamiento control (0.65 mg.L⁻¹ de AIA), pueda ejercer efectos similares a este. Al estudiar un proceso que requiere un aporte sustancial de auxinas (7), como la callogénesis en arroz, se observó que el Biostan (4-5 mg.L⁻¹) no pudo sustituir al 2,4-D (2 mg.L⁻¹) y, en cambio, complementó su efecto, obteniéndose resultados superiores, cuando se combinó con este regulador del crecimiento. Considerando las escasas experiencias sobre la utilización de este bioestimulante cubano en condicio-

Tabla VIII. Efecto de los bioestimulantes sobre las variables evaluadas en la fase de aclimatización

Tratamientos	Cantidad de raíces	Longitud de las raíces (cm)	Cantidad de hojas	Longitud de las plantas (cm)	Masa seca (g)
1) AIA 1.3 mg.L ⁻¹ (control)	6.21 c	9.77 c	7.53 c	8.33 c	7.97 d
2) Biostan 4 mg.L ⁻¹	8.32 b	11.21 b	8.89 a	10.54 b	8.30 b
3) BB-6 0.01 mg.L ⁻¹	8.16 b	11.23 b	8.63 a	10.67 b	8.13 c
4) BB-6 0.05 mg.L ⁻¹	8.79 a	12.20 a	8.21 b	11.73 a	9.12 a
ES media	0.023	1.371	0.015	0.146	0.056
CV (%)	5.31	5.85	3.29	1.35	5.97

nes *in vitro*, es recomendable la realización de estudios posteriores a nivel celular y molecular, que puedan confirmar esta suposición para el caso del Biostan.

Anteriormente, se ha informado que en general el BB-6 ha mostrado un efecto de tipo citoquinínico. Combinado con AIA 0.65 mg.L⁻¹ fue capaz de sustituir parcialmente a la 6-BAP en la micropropagación *in vitro* de banano cv. Gran Enano, provocando incrementos en el crecimiento radical, las masas fresca y seca de las plántulas (3, 4). En ajo, incrementó el porcentaje de establecimiento, redujo el tiempo necesario para ello e incrementó el número de brotes, combinado con ácido naftalenacético y sustituyendo a las citoquininas del medio (13). En este caso, el BB-6 en combinación con 6-BAP ha manifestado una acción similar a la auxina AIA, siendo capaz de sustituirla con resultados superiores. Se conoce, sin embargo, que los brasinoesteroides muestran respuestas variables en dependencia del tipo de tejido, las condiciones de cultivo y fitohormonas con las que se combinen en el medio; realizan efectos sinérgicos con las auxinas (14) y son capaces de exhibir una fuerte acción promotora del crecimiento vegetal, en concentraciones hasta mil veces inferiores a aquellas en que se emplean los reguladores del crecimiento tradicionales (15). En *Arabidopsis*, se ha demostrado recientemente, que los efectos positivos o negativos de la aplicación de los brasinoesteroides sobre la formación de raíces, están en dependencia de la concentración exógena y del balance con las auxinas endógenas de la planta (16), a semejanza de lo que ocurre con los reguladores convencionales del crecimiento más conocidos en las plantas. Más aún, en la misma especie se ha encontrado un efecto modulador de los brasinoesteroides sobre los genes que regulan la expresión de los efectos de las auxinas (17, 18). En consecuencia, pueden esperarse efectos aún más sorprendentes en la medida en que se avance en el conocimiento de sus propiedades con técnicas más precisas.

La presencia en el Biostan de auxinas en concentraciones de hasta 10 mg.g⁻¹ (12) es una posible causa del estímulo a la formación de raíces en las vitroplantas, ocurrida en la fase de enraizamiento. Se ha observado (7) que la adición de Biostan (4-5 mg.L⁻¹) potenciaba el efecto del 2,4-D en la regeneración de raíces, a partir de callos en tres variedades de arroz. En nuestras condiciones, el Biostan (4 mg.L⁻¹) fue capaz de sustituir ventajosamente al AIA, en la formación de raíces en las vitroplantas de plátano macho (AAB) clón Sobrino.

El empleo de BB-6 (0.01 mg.L⁻¹) condujo a resultados significativamente superiores al control con AIA y similares a los obtenidos con Biostan (4 mg.L⁻¹). El tratamiento con BB-6 (0.05 mg.L⁻¹) provocó resultados estadísticamente similares al BB-6 (0.01 mg.L⁻¹), pero inferiores a los obtenidos con Biostan. El comportamiento de los tejidos, órganos y plantas cultivados *in vitro* es en definitiva el resultado del balance hormonal entre los reguladores endógenos del crecimiento y los que se añaden al medio de cultivo (11). Ello explicaría la respuesta observada con la adición de BB-6 (0.01 mg.L⁻¹), así como los mayores valores en la longitud de las hojas y plantas inducidos por los bioestimulantes. Se ha empleado el BB-6 para la multiplicación y el enraizamiento de bananos (4).

Los brasinoesteroides y sus análogos se han aplicado con éxito en la aclimatización de posturas y vitroplantas. En todos los estudios realizados, la aplicación de estos bioestimulantes se ha realizado durante el propio período de aclimatización. Algunos (19) alcanzaron porcentajes de supervivencia entre 90 y 95 % empleando BB-6 y BB-16 a concentraciones de 0.05 mg.L⁻¹ y 0.1 mg.L⁻¹ en la aclimatización de plántulas de banano clón Gran Enano. El BB-6, aplicado por inmersión previa al trasplante y en aspersión foliar, provocó incrementos en el porcentaje de supervivencia, número de hojas, diámetro del pseudotallo y la altura de plantas de banano clón FHIA-18 (19). Aplicado al follaje de vitroplantas de patata trasplantadas a casa de cultivo, el BB-6 incrementó la longitud del tallo, masa fresca de las plántulas y cantidad de minitubérculos por planta (20). Nuestros resultados constituyen el primer informe sobre el efecto a largo plazo del empleo *in vitro* de bioestimulantes sobre la aclimatización de vitroplantas de plátano macho.

Algunos afirman que el efecto de los brasinoesteroides y sus análogos sobre el crecimiento vegetal (2) es particularmente fuerte en condiciones de crecimiento adversas, por lo que pueden ser llamados "hormonas del estrés". La transferencia de las condiciones *in vitro* al ambiente natural provoca un estrés, el cual es responsable de las dificultades que suelen presentar las vitroplantas en su adaptación a las condiciones naturales, como consecuencia de afectaciones fisiológicas (tallos más delgados, menor cantidad de ceras cuticulares, menos tejidos mecánicos de soporte, menor capacidad fotosintética, estomas con baja funcionalidad). Los biorreguladores pueden contribuir a la desaparición de estas deficiencias, lo que podría ser la causa de los

efectos positivos observados como resultado a largo plazo del empleo de Biostan 4 mg.L⁻¹, BB-6 0.01 mg.L⁻¹ y BB-6 0.05 mg.L⁻¹ en el enraizamiento de las vitroplantas.

Biostan, aplicado en concentración de 5 mg.L⁻¹ a semillas de tres variedades de arroz, provocó incrementos en la longitud de las plantas, longitud de la panícula y el rendimiento (t.ha⁻¹) (21). Ello demuestra la efectividad a largo plazo del empleo de los biorreguladores y contribuye a la explicación de nuestros resultados.

Los efectos positivos causados por el empleo del BB-6 y el Biostan en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento, y a largo plazo sobre la aclimatización de vitroplantas de plátano macho (*Musa sp.*, AAB) clón Sobrino, sugieren la realización de estudios a mayor escala, que permitan evaluar la posibilidad de la introducción masiva de estos bioestimulantes en las biofábricas, con la consiguiente reducción de los costos de producción.

REFERENCIAS

- Díaz, B.; Héctor, E.; Torres, A.; Cabañas, M.; Garcés, N.; Izquierdo, H.; Núñez, M. e Iglesias, R. Empleo de productos bioactivos cubanos como sustitutos de los reguladores del crecimiento en la propagación del plátano macho (AAB). Fase de establecimiento *in vitro*. *Alimentaria*, 2004, vol. 51, no. 359, p. 103-107.
- Núñez, M. Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. *Cultivos Tropicales*, 1999, vol. 20, no. 3, p. 63-72.
- Rodríguez, T.; Nuñez, M. y Vento, H. Influencia de un análogo de brasinoesteroides en la fase de multiplicación *in vitro* del banano (*Musa sp.*) variedad Gran Enano. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 2, p. 19-22.
- Rodríguez, T. Influencia de biorreguladores cubanos sobre algunos indicadores morfológicos durante las fases de multiplicación y enraizamiento *in vitro* del plátano (*Musa sp.*). [Tesis de Maestría]; Universidad de La Habana, 1999, 53 p.
- Garcés, N.; Huelva, R. y Echenagusía, A. Biostan: nuevo producto bioestimulante de las plantas. En: XII Fórum de Ciencia y Técnica, UNAH, 1997, p. 26-30.
- Héctor, E.; Díaz, B.; Torres, A.; Garcés, N.; Huelva, R.; Roque, A.; Godoy, L.; Isidró, M.; Tirado, A.; Cabañas, M.; Cremé, Y.; Díaz, A. y Proenza, R. Efecto del Liplant y el Biostan en la propagación *in vitro* del plátano macho (*Musa sp.* AAB). En: Memorias AGROTROP/2002, UNAH, 2002.
- Godoy, L. Evaluación biotecnológica de nuevos productos estimuladores del crecimiento vegetal, Biostan y Liplant, en arroz (*Oryza sativa* L.). [Tesis de Maestría]; Universidad de La Habana, 2005, 56 p.
- Héctor, E.; Díaz, B.; Torres, A. y Hernández, B. Aparición de variaciones in vitroplantas de plátano macho procedentes de diferentes subcultivos. *Scientia et Technica*, 2000, vol. 6, no. 13, p. 3-9.
- Murashige, T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, p. 473-497.
- Hernández, R. Metodología de la Investigación. La Habana : Ed. Félix Varela, 2004. 475 p.
- Zaffari, G. R.; Kerbavy, G. B.; Kraus, J. E. y Romano, E. C. Hormonal and histological studies related to *in vitro* banana bud formation. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*, 2000, vol. 63, p. 187-192.
- Garcés, N.; Marbot, R.; Ramos, R.; García, L.; Díaz, M. M. y Sánchez Andreu, J. Sustancias con actividad biológica sobre los vegetales en el producto Biostan. En: Taller de Productos Bioactivos, Congreso Científico del INCA. Memorias (CD-ROM), Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN 959-7023-22-9 (2:13:2002:La Habana), 2002.
- Izquierdo, H.; Quiñones, Y.; Disotuar, R.; Pedroso, D.; Núñez, M. y Rodríguez, E. Efecto del Biobras-6 sobre algunos indicadores del crecimiento *in vitro* en el ajo (*Allium sativum* L.). En: Taller de Productos Bioactivos, Congreso Científico del INCA. Memorias (CD-ROM), Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN 959-7023-22-9. (2:13:2002:La Habana), 2002.
- Núñez, M. y Robaina, C. Brasinoesteroides. Nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la Agricultura: Campinas:Instituto Agronómico (IAC). 2000. 28 p.
- Núñez, M.; Torres, W. y Coll, F. Effectiveness of a synthetic brassinosteroid on potato and tomato yield. *Cultivos Tropicales*, 1995, vol. 16, no. 1, p. 26-27.
- Mussig, C.; Shin, G. H. y Altmann, T. Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2003, vol. 133, p. 1261-1271.
- Goda, H.; Shimada, Y.; Asami, T.; Fujioka, S. y Yoshida, S. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2002, vol. 130, p. 1319-1334.
- Mussig, C.; Fischer, S. y Altmann, T. Brassinosteroid-regulated gene expression. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 129, p. 1241-1251.
- Izquierdo, H.; González, M. C.; Núñez, M.; Iglesias, R.; Díaz, B.; Velásquez, M.; Proenza, R.; Torres, A.; Héctor, E.; Sardiñas, L.; Pinzón, E. e Indrani, Y. Influencia de un oligogalacturónido de origen péctico y dos análogos espiroestánicos de brasinoesteroides en la aclimatización de vitroplantas de banano. En: Taller de Productos Bioactivos, Congreso Científico del INCA. Memorias (CD-ROM), Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN: 959-7023-27-X. (3:14:2004:La Habana).
- Jiménez, F. A.; Kowalski, B.; Agramante, D.; Barbón, R.; Collado, R.; Pérez, M.; Gutiérrez, O. y Ramírez, D. Empleo de brasinoesteroides para la producción de minitubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en casa de cultivo. En: Taller de Productos Bioactivos, Congreso Científico del INCA. Memorias (CD-ROM), Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN: 959-7023-27-X. (3:14:2004:La Habana).
- Izquierdo, R.; Marrero, E. L.; Díaz, M. M.; Garcés, N.; García, V.; Hernández, I. y Urra, I. Nueva alternativa en la producción de arroz (*Oryza sativa* L.) popular en condiciones del municipio de Güines. En: Taller de Productos Bioactivos, Congreso Científico del INCA. Memorias (CD-ROM), Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN: 959-7023-27-X. (3:14:2004:La Habana).

Recibido: 1 de septiembre de 2005

Aceptado: 6 de marzo de 2007