

DETECCIÓN DE VARIACIÓN SOMACLONAL EN PLANTAS DE PLÁTANO HARTÓN (MUSA AAB) MEDIANTE TÉCNICAS ESTADÍSTICAS.

II. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES Y DE CONGLOMERADOS JERÁRQUICOS

DETECTION OF SOMACLONAL VARIATION IN HARTON BANANA (MUSA AAB) PLANTS BY MEANS OF TECHNICAL ESTADISTICAS.

II. ANALYSIS OF MAIN COMPONENTS AND HIERARCHICAL CLUSTERING

²Luis José Cova Ordaz, ¹Jairo José Márquez Peña

¹Departamento de Economía, Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, Universidad de Los Andes, estado Trujillo, Venezuela. e-mail: jajomape@yahoo.es ²Departamento de Biología y Química, Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, Universidad de Los Andes, estado Trujillo, Venezuela. e-mail: covaordaz@yahoo.es

Resumen

Con el objetivo de detectar variaciones somaclonales en plantas de plátano (AAB) sembradas en un campo con condiciones inhóspitas para ese cultivo, se analizó el efecto de la concentración hidrogeniónica (pH: 5,6 a 9,4), conductividad eléctrica (Ce: 0,03 a 0,15 dS m⁻¹), contenido edáfico de sodio (Na: 0,19 a 1,99 cmol kg⁻¹) y potasio (K: 3 a 61 cmol kg⁻¹) en el comportamiento del plátano Hartón (AAB) producidos por cultivo “*in Vitro*”. El ensayo se llevó a cabo en una plantación ya existente en secano, sin fertilización, en el estado Trujillo, Venezuela. Se evaluó, desde los 265 días de la siembra, aproximadamente cada 15 días: la altura de la planta (alt), la circunferencia del seudotallo (c), el número de hojas (hoj) e hijos (hij). Dada su enorme variabilidad se interrumpió la evaluación a los 390 días de la siembra, independientemente de la floración y cosecha. Según los análisis estadísticos realizados, cinco (5) componentes de las cuarenta (40) variables analizadas son suficientes para explicar del 83% al 87% de la variabilidad total. Mediante un análisis de componentes principales y de conglomerados jerárquicos (*cluster*), se logró detectar variantes somaclonales de plantas de plátanos propagados por cultivo “*in Vitro*” capaces de adaptarse a un campo inhóspito para ese cultivo.

Palabras clave: somaclonal, plátano hartón, salinidad, “*In Vitro*”.

Abstract

With the aim of detecting variation somaclonal in banana (AAB) plants sowed in a field with inhospitable conditions for this crop, the effect of the concentration hydrogenionica (pH: 5.6 to 9.4), electrical conductivity (Ce: 0.03 to 0.15 dS m⁻¹), soil content of sodium (Na: 0.19 to 1.99 cmol k⁻¹ and potassium K: 3 to 61 cmol k⁻¹.) was analyzed on the behavior of the banana Harton (AAB) produced by “*in Vitro*” culture. The trial was conducted in an already existing plantation dry-farmed without fertilization, in the Trujillo state, Venezuela. It was evaluated, from the 265 days from sowing, approximately every 15 days: the height of the plant (alt), the pseudo stem circumference (c), the number of sheets (hoj) and children (hij). Given its huge variability evaluation was interrupted at 390 days of planting, regardless of the flowering and harvest. According to the statistical analyses, five (5) components of the forty (40) analyzed variables are sufficient to account for 83% to 87% of total variability. Through an ACP and hierarchical clusters, was detecting somaclonal variant of plants of banana propagated by «*in Vitro*» culture can adapt to a bleak field for that crop.

Key words: banana, Hartón, somaclonal, « *In Vitro* »,

Recibido: 29-04-2014 / **Aprobado:** 25-09-2015

Introducción

El mejoramiento de plátanos y bananos comerciales por cruzamiento es difícil, debido a que son triploides, estériles y partenocárpicos, por lo tanto la utilización de técnicas biotecnológicas podrían incidir en la solución de este problema. Con la aplicación del cultivo “*in Vitro*” es posible obtener variaciones complejas denominadas “variación somaclonal” (Larkin y Scowcroft, 1981), las cuales involucran cambios en las plantas regeneradas que son transmitidos a la progenie.

La variación somaclonal puede observarse en la morfología de las plantas, en su producción, vigor, calidad, color, resistencia a enfermedades y condiciones edafoclimáticas adversas o por medio de marcadores bioquímicos y moleculares al comparar las diferencias entre el fenotipo parental y el fenotipo donde ha ocurrido el cambio (Sánchez y Jiménez, 2006). Los mecanismos por los cuales ocurre la variación somaclonal no han sido completamente dilucidados, pero entre sus causas se mencionan alteraciones en el cariotipo, mutaciones puntuales, recombinación somática e intercambio de cromátidas hermanas, arreglos génicos somáticos, elementos genéticos transponibles (Nichterlein, 2000) amplificación y/o metilación del ADN y cambios en el ADN de las organelas (Noroy col., 2007); esta variación depende del genotipo, de la fuente del explante, del tiempo en que el material ha estado sometido al cultivo “*in Vitro*”, de las condiciones y composición del medio de cultivo y de la vía de regeneración, donde la embriogénesis somática generaría menores alteraciones que la organogénesis (Sahijram y col., 2003). Generalmente se observan caracteres no deseados o indiferentes a la producción, sin embargo cuando se detectan caracteres que tienen ventajas agronómicas, se pueden utilizar en programas de mejoramiento genético para proporcionar caracteres deseables en cultivos de importancia económica, entre los

que se incluyen resistencia a enfermedades, tolerancia a suelos ácidos, alcalinos o salinos o contenidos elevados de sodio en el suelo.

Cova y col. (1990) realizaron investigaciones biotecnológicas en PROBIOTEC (Productos Biotecnológicos), empresa mixta PALMAVEN (filial de Petróleos de Venezuela) con FUSAGRI (Fundación Servicio al Agricultor) en Cagua, estado Aragua, Venezuela. Sembraron meristemos “*in Vitro*” de cambur Cavendish AAA Gran Enano de la zona de Santa Cruz del estado Aragua, igualmente plátano Hartón AAB y cambur manzano AAB de Araguaita estado Miranda, según la metodología de Sandoval (1986); la tasa de multiplicación consolidada a los 5 meses fue de 35, 15 y 15 yemas/explante respectivamente. Investigaciones más eficientes en la producción de vitropiantas las realizaron Colmenares y Giménez, (2007), utilizando medio sólido tradicional y medio líquido en recipientes de inmersión temporal automatizado (RITA), observaron que al quinto ciclo de cultivo obtuvieron $166,5 \pm 13,5$ yemas/explante, mientras que el método tradicional en medio sólido alcanzó $36 \pm 5,7$ yemas/explante; demostrándose como el avance tecnológico en las técnicas del cultivo “*In Vitro*” mejora la producción.

La búsqueda de plantas de plátano resistentes, mediante las técnicas de cultivo “*In Vitro*” a condiciones adversas de siembra en campo, implica la experimentación previa de ese material en suelos inhóspitos, sobre todo en aquellos de salinidad extrema, los cuales reducen el crecimiento y la productividad de los cultivos debido a la disminución de la presión osmótica de la solución del suelo y al aumento de la concentración de iones específicos a niveles tóxicos para las plantas (Vijayaraghavan y col., 2006). Esos factores interfieren en procesos fisiológicos como la transpiración, la fotosíntesis, la translocación y la respiración, además de causar desequilibrio hídrico y/o iónico en la planta (Richards, 1992). Sin embargo, el proceso de absorción iónica, en toda la vida de la planta, está

controlada genéticamente. Existen diferentes capacidades de velocidad de absorción entre especies y aún entre variedades. La selección de genotipos de cambures y plátanos en suelos naturalmente salinos se dificulta por la gran variación temporal y espacial en la concentración iónica de la solución del suelo. Para evitar esa variabilidad natural, una primera etapa de selección se puede hacer en solución salina nutritiva (Ferreira y col., 2002), donde es posible mantener el control del nivel de la concentración iónica.

El objetivo de esta investigación es estudiar en condiciones de campo el efecto de rangos de concentraciones de hidrogeniones (pH), conductividad eléctrica (Ce) y contenido edáfico de sodio (Na) y potasio (K) en el comportamiento de clones de plátano Hartón (AAB) producidos por cultivo “*in Vitro*”, en término del desempeño morfoestructural; así como detectar mediante un análisis de la estructura de datos y de conglomerados jerárquicos (*cluster*) variaciones somaclonales resistentes a suelos con características adversas por su composición fisicoquímica, pero conservando su productividad relativa.

Materiales y Métodos

Para el ensayo se utilizaron plantas de plátano Hartón (AAB) producidas por cultivo “*In vitro*” de meristemos en PROBIOTEC (Productos biotecnológicos), empresa mixta PALMAVEN (Filial de Petróleos de Venezuela) y FUSAGRI (Fundación Servicio al Agricultor) ubicada en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Las plántulas fueron sembradas en bolsas de polietileno de 3 kg con una mezcla de tierra-arena 1:1 (v/v) y posteriormente trasladadas desde el estado Aragua hasta la Estación Experimental y de Producción Agrícola “Rafael Rangel”, perteneciente a la Universidad de los Andes en el estado Trujillo (09° 35' 00" y 09° 37' 19" LN; 70° 27' 00" y 70° 31' 39" LO) donde se mantuvo por 30 días en umbráculo y luego fueron trasladadas en el mes de septiembre de 2001 al campo, con una altura de planta aproximada de 0,30m. La zona de trasplante

presenta un relieve llano, microrelieve liso con una pendiente oeste-este aproximadamente de 1%; con una altitud de 220 msnm. El suelo tiene una profundidad efectiva de 0,50m y un drenaje restringido con permeabilidad moderada a lenta (Matheus, 2007). La precipitación está comprendida entre 800 y 1200 mm año⁻¹. El promedio de precipitación no es menor de 58,6mm, en el mes más seco (Julio) y no mayor de 185,5mm, en el más húmedo (Noviembre). Según Maldonado (1998), el valor medio de temperatura mínima anual es de 22°C, con un máximo de 33,3°C y una media de 27,7°C (régimen de temperatura iso-hipertérmico).

El suelo fue preparado con varios pases de rastra y se le abrieron hoyos de 0,30m de profundidad para la siembra a 2m entre plantas y 3m entre surcos, para un tamaño de población de N=2326 plantas, con una densidad de plantación de 1666 plantas ha⁻¹.

La población de clones de plantas de plátano fue distribuida en un arreglo rectangular de 43 filas y 58 columnas con 2m entre plantas y 3m entre surcos, lo que las hizo homogéneas en cuanto a la distribución espacial y tipo de planta, esto permitió escoger el diseño de muestreo apropiado para obtener una muestra representativa. De acuerdo a estas características anteriores indica que el diseño muestral apropiado es el sistemático replicado, permitiendo distribuir la muestra en toda la parcela sin que quede alguna zona sin ser muestreada, evitando el error sistemático.

Debido a que no se disponía de ninguna información al respecto, se procedió a tomar una muestra piloto del 10% de la población (233 plantas) midiendo solamente la altura de la planta la cual es considerada como una de las variables más importantes en su desarrollo, con estos datos, usando un muestreo aleatorio simple con un error máximo permitido del 10% se calculó un tamaño de muestra de n=86 plantas; para seleccionar al azar las 86 plantas de la muestra se realizó el muestreo sistemático replicado que consiste

en dividir $k=N/n=27$, luego se seleccionaron 10 muestras sistemáticas repetidas de tamaño 8, a la última se le agregó 6 plantas más para obtener el tamaño de muestra previamente calculado. Primero, multiplicamos $10 \times k=270$, a continuación seleccionamos 10 plantas al azar entre la planta 1 y la 270; finalmente la constante 270 se adiciona a cada uno de los puntos de inicio seleccionados aleatoriamente para obtener 10 plantas entre 270 y 540 y así sucesivamente hasta llegar a 86 plantas.

Dada la pérdida de plantas por causas naturales las observaciones faltantes fueron sustituidas por el método de imputación múltiple, Roderick y col (2002). Después de definidas las 86 plantas de la muestra seleccionadas al azar se procedió a realizar las mediciones morfo-estructurales y edáficas tomando cuatro muestras de suelo (0-0,20m) por planta. La extracción se realizó con barreno manual a una distancia radial del seudotallo de 0,30m, haciendo cuatro perforaciones acorde a los puntos cardinales. Las variables edáficas analizadas fueron: el pH se determinó en agua (relación 1:2) mediante un potenciómetro, la concentración de Na por el método de extracción a la pasta, el K por el método del fotocolorímetro de Bray y la Ce con el uso de un conductímetro. Las otras variables magnesio (Mg 2,43 cmol kg^{-1} , valor medio), nitrógeno (N 0,16%, valor bajo), fósforo (P 20 mg kg^{-1} , valor bajo), la capacidad de intercambio catiónico (CIC 10,12 Me $100g^{-1}$, valor bajo), materia orgánica (MO 1,6%, valor bajo), y carbono orgánico (CO 1,17, valor bajo) no fueron consideradas para el estudio por su poca presencia en el suelo, como lo señala Palomino (2009), en su clasificación cualitativa.

La alt de la planta se midió con cinta metálica flexible de 5m de longitud, desde el nivel del suelo hasta la bifurcación de las hojas, la circunferencia del seudotallo c a un metro desde el suelo con una cinta plástica flexible de 1m de longitud. El número de hoj y de hij se contabilizaron de forma visual.

Cada una de las variables morfo-estructurales se midieron en nueve momentos diferentes en el tiempo, considerando a cada medida como una variable con el propósito de hacer un análisis más detallado, que permita determinar dentro de cada variable cuales son los momentos dentro de las 9 mediciones que más contribuyeron relativamente a la formación de cada componente, por lo que se tiene en total $9 \times 4 = 36$ variables morfo-estructurales, contando los días transcurridos desde los 270 días después de sembrados hasta el final de las mediciones, 390 días después de la siembra.

En total son 40 variables, 36 morfo-estructurales y 4 edáficas, todas ellas cuantitativas, observadas en una muestra de 86 plantas de plátanos, Márquez y Cova, (2014) (ver Tabla 1) en donde se tabulan las variables y los tiempos de recolección de datos. Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS® Statistics 17.0, 2012.

Tabla 1

Identificación de las Variables

Nombre de la variable	Nomenclatura	Días transcurridos, desde la siembra hasta el día de la lectura
pH	pH	270
Conductividad Eléctrica	Ce	270
Sodio	Na	270
Potasio	K	270
Número de hojas (1)	hoj1	265
Número de hojas (2)	hoj2	280
Número de hojas (3)	hoj3	294
Número de hojas (4)	hoj4	309
Número de hojas (5)	hoj5	323
Número de hojas (6)	hoj6	337
Número de hojas (7)	hoj7	351
Número de hojas (8)	hoj8	378
Número de hojas (9)	hoj9	390
Número de hijos (1)	hij1	265
Número de hijos (2)	hij2	280
Número de hijos (3)	hij3	294
Número de hijos (4)	hij4	309
Número de hijos (5)	hij5	323
Número de hijos (6)	hij6	337
Número de hijos (7)	hij7	351
Número de hijos (8)	hij8	378
Número de hijos (9)	hij9	390
Circunferencia del tallo (1)	cir1	265
Circunferencia del tallo (2)	cir2	280
Circunferencia del tallo (3)	cir3	294
Circunferencia del tallo (4)	cir4	309
Circunferencia del tallo (5)	cir5	323
Circunferencia del tallo (6)	cir6	337
Circunferencia del tallo (7)	cir7	351
Circunferencia del tallo (8)	cir8	378
Circunferencia del tallo (9)	cir9	390
Altura del seudotallo (1)	alt1	265
Altura del seudotallo (2)	alt2	280
Altura del seudotallo (3)	alt3	294
Altura del seudotallo (4)	alt4	309
Altura del seudotallo (5)	alt5	323

Altura del seudotallo (6)	alt6	337
Altura del seudotallo (7)	alt7	351
Altura del seudotallo (8)	alt8	378
Altura del seudotallo (9)	alt9	390

Es oportuno señalar que al campo sembrado no se le aplicó ninguna práctica agronómica; ya que el objetivo era el de descubrir el comportamiento de las plantas en circunstancias inhóspitas, sin alterar las condiciones del suelo y mantenerlas durante todo el período de observación, es decir la resistencia de la planta a condiciones adversas. A partir de este comportamiento, en este artículo, se intentará detectar las plantas con variaciones somoclonales.

Por otro lado, para el análisis estadístico de los datos se utilizaron los métodos de reducción de datos y detección de la estructura de datos del Análisis de Componentes Principales (ACP), el primero utilizado por Márquez y Cova, (2015) para sistematizar la variabilidad en el comportamiento de plantas de plátano Hartón (AAB) producidas por cultivo “*in Vitro*” y sembradas en un campo inhóspito, detectando las variables que mejor explican la variabilidad total de los datos originales, lo que permite reducir la dimensión de los datos y el segundo método, aplicado en este artículo, el de la estructura de datos que determina aquellas variables que tienen la más alta correlación con los respectivos ejes factoriales, necesarios para el análisis de conglomerados jerárquico (*cluster*) (Lebart y col. 1985), técnica esta que permitió revelar las agrupaciones naturales (o grupos) dentro de un conjunto de datos que de lo contrario no sería evidente. Este procedimiento intenta identificar grupos relativamente homogéneos de casos o variables, basado en las características seleccionadas, utilizando un algoritmo que comienza con cada caso (o variable) en un grupo separado y combina los conglomerados hasta que sólo quede uno.

El análisis de conglomerados detectará las plantas con variaciones somoclonales,

siendo aquellas que mejor se comportan, desde el punto de vista morfoestructural; a pesar, de desarrollarse en un medio inhóspito.

Resultados y discusión

Con la construcción de los factores de ponderación que son las correlaciones de las variables originales con los componentes principales, se determina la estructura de los datos. Comenzando con dos pruebas, la primera de Kaiser-Meyer-Olkin (K-M-O) que indican si los datos son adecuados para detectar la estructura que subyace en los mismos. El estadístico Kaiser-Meyer-Olkin (K-M-O) con un valor de 0.939, cercano a uno, (ver Tabla 2), señala que es un análisis factorial adecuado. La segunda prueba de Bartlett, llamada prueba de esfericidad plantea las siguientes hipótesis:

$$H_0 : R = I$$

$$H_1 : R \neq I$$

La hipótesis nula (H_0) expresa que la matriz de correlación (R) es una matriz identidad I ; en caso de que se rechace H_0 a favor de H_1 , indica que las variables están correlacionadas con los componentes y por lo tanto es apropiada para la detección de la estructura. En este caso, se rechaza H_0 para cualquier nivel de significación (ver Tabla 2).

Tabla 2

Pruebas de KMO y Bartlett

	Kaiser-Meyer-Olkin Medida de Suficiencia de Muestreo	0,940
Prueba de Bartlett de Esfericidad	Aproximación a la Chi-Cuadrado	7342,714
	df (grados de libertad)	820
	Significación	0,000

Al igual que el método de reducción de datos, utilizado por Márquez y Cova (2015), donde de los cuarenta (40) factores sólo cinco (5) tienen valores propios más grandes que uno (1) y estos acumulan un 86,972% (ver Tabla 3) de la variabilidad inicial en las variables originales; mientras que en los factores extraídos por el método de detección de la estructura de datos la variabilidad acumulada es del 84,008% con una diferencia del 3% de la solución inicial; así que el 3% de la variabilidad explicada por la solución inicial se pierde debido a factores latentes de las variables originales. El modelo de factores rotados, incluido también en el modelo de Análisis de componentes (ACP) hace algunos ajustes para los factores 1, 2 y 3; mientras que los factores 4 y 5 quedan prácticamente iguales; la Tabla 3 también nos indica la varianza explicada por los factores extraídos después de la rotación, confirmándose cómo se mejora la interpretación de los tres primeros factores.

Examinando los valores de la Tabla 4 se constata que la estructura de los datos está conformada por cuatro grupos principales de variables, definidas por las variables que están más altamente correlacionadas con los 4 factores. El primer factor está altamente correlacionado con el grupo de variables de las circunferencias (c) y las alturas de los pseudotallos (alt) de las plantas, para las nueve mediciones en el tiempo. El segundo factor está correlacionado con el grupo de variables del número de hojas (hoj) para las nueve mediciones. El tercer factor agrupa a las variables número de hijos (hij) con las más altas correlaciones, para las nueve observaciones. El cuarto factor está solamente correlacionado con la variable edáfica, sodio (Na). El quinto factor no se considera importante, puesto que no está correlacionada con ninguna de las variables originales. La correlación moderadamente alta del sodio con el eje factorial 1 ($r = -0,343$) y sentido contrario y también altamente correlacionada

Tabla 3

Total Varianza Explicada

Factor	Valores propios iniciales			Extracciónsumas de cuadrados			Rotación Sumas de Cuadrados		
	Total	% de Varianza	Varianza acumulada %	Total	% de Varianza	Varianza acumulada %	Total	% de Varianza	Varianza acumulada%
1	27,489	68,723	68,723	27,390	68,475	68,475	1,5204	38,011	38,011
2	2,611	6,527	75,250	2,498	6,246	74,721	9,283	23,208	61,219
3	2,248	5,619	80,870	2,090	5,224	79,945	7,178	17,945	79,164
4	1,336	3,339	84,209	,884	2,210	82,155	1,023	2,558	81,722
5	1,105	2,763	86,972	,741	1,853	84,008	,914	2,286	84,008

Método de Extracción: Ejes Principales Factores.

Tabla 4
Matriz de factores rotados

	Factor				
	1	2	3	4	5
Ph	,031	-,245	-,238	,357	-,036
Cond	-,070	-,058	-,176	,069	,038
Na	-,354	-,269	-,175	,777	,135
K	,048	,034	,084	,386	-,031
hoj1	,527	,629	,229	-,105	,045
hoj2	,510	,697	,258	-,104	,043
hoj3	,434	,760	,311	-,066	,034
hoj4	,453	,790	,244	-,050	,083
hoj5	,416	,829	,285	-,015	-,028
hoj6	,404	,808	,303	-,088	,089
hoj7	,343	,853	,280	-,110	,028
hoj8	,311	,854	,302	-,118	-,061
hoj9	,327	,861	,325	-,080	-,019
hij1	,505	,272	,697	-,050	,309
hij2	,550	,132	,637	,031	,283
hij3	,508	,273	,680	-,059	,275
hij4	,472	,276	,710	-,028	,227
hij5	,477	,344	,676	-,086	,188
hij6	,283	,236	,792	,016	,008
hij7	,348	,366	,762	,106	-,168
hij8	,317	,427	,722	-,007	-,198
hij9	,265	,419	,762	,005	-,201
cir1	,777	,273	,281	,004	,071
cir2	,810	,301	,290	-,055	-,102
cir3	,808	,365	,285	-,032	-,193
cir4	,835	,358	,274	-,065	-,160
cir5	,823	,407	,263	,056	-,126
cir6	,809	,345	,248	,008	-,093
cir7	,825	,441	,245	-,023	-,117
cir8	,786	,479	,234	-,049	-,198
cir9	,761	,510	,238	-,049	-,205
alt1	,842	,153	,369	-,037	,229
alt2	,862	,222	,344	-,075	,198
alt3	,849	,254	,352	-,068	,207
alt4	,848	,297	,346	-,052	,191
alt5	,835	,364	,332	-,043	,155
alt6	,823	,401	,332	-,044	,128
alt7	,803	,444	,345	-,031	,078
alt8	,760	,494	,341	-,057	-,028
alt9	,732	,510	,358	-,061	-,067

Método de extracción: Eje principal de Factor. Método de rotación: Varimax con Kaiser. Normalización. Rotación convergente en 8 repeticiones.

con el eje factorial 4 ($r = 0,777$) sugiere un vínculo del sodio con la altura y circunferencia de la planta y con sentido contrario; es decir, a mayores niveles de sodio menor altura y circunferencia del seudotallo, y a menores niveles de sodio mayores son las alturas y circunferencias del seudotallo (ver Tabla 5).

De acuerdo a los resultados de ambos métodos, reducción de datos, aplicado por Márquez y Cova (2015) y la estructura de datos; la variabilidad total acumulada es igual, explicando aproximadamente entre el 84% y el 87% de la variabilidad de los datos originales con los primeros cinco ejes; la diferencia entre ambos métodos está en el cuarto eje o componente, donde destaca como variables explicativas en la construcción de este eje las variables edáficas potasio y sodio, y en el quinto eje se destaca la variable conductividad eléctrica, como la variable de mayor poder explicativo en la construcción de este eje o componente; mientras que el segundo método solamente destaca la variable sodio, con la más alta correlación con el cuarto eje y en el quinto eje no se destaca ninguna de las 40 variables con una alta correlación.

El resultado de estos análisis conlleva a considerar al sodio como la única variable edáfica, así como las variables morfo-estructurales, altura, circunferencia del seudotallo y el número de hojas como las de mayor relación con los individuos; por su parte el sodio estableció una relación inversa con las alturas y circunferencia del seudotallo, igualmente ocurrió con el número de hojas que distribuyó a los individuos con el mayor número de hojas, contraponiéndolos con los individuos con menor número de hojas (ver Tabla 5). Con la información extraída de la estructura de datos se procedió a realizar el cluster, teniendo el sodio como la única variable edáfica de interés.

Tabla 5
Clasificación de los individuos
 por rangos de circunferencia, altura, número de hojas y sodio

Circunferencia		Altura					Hojas				
Promedio 0,3145 metros		Promedio 1,6275 metros					Promedio 9,8215 hojas				
Nacmol/ kg. (Niveles)	0,0995 a 0,251	0,3145 a 0,369	0,369 a 0,4685	0,2495 a 1,1787	1,1787 a 1,6275	1,6275 a 2,0763	2,0763 a 2,6985	0,995 a 6,94	6,94 a 9,8215	9,8215 a 11,734	11,734 a 17,035
(I) 0,185 a 0,465	33-41- 65-73- 77	38-40- 44-49- 59	37-42- 43-51- 54-67- 78-79	26-46	33-65- 73-74- 77	41-44-51	37-38-40- 42-43-49- 54-59-67- 78-79	26-37- 77	38-46-74	33-40- 41-59- 65-67- 73	42-43-44- 49-51-54- 78-79
(II) 0,465 a 0,608	7-13- 32-48- 57-61- 63-66- 68-80- 82	15-28- 45-55- 75	30-34- 36-50- 60-64- 76	5-25- 80	7-13- 32-48- 63-66- 68-82	15-28-55- 57-60-61- 75-76	30-34-36- 45-50-64	5-80	7-13-25- 66-68- 75-76-82	15-30- 32-48- 57-61- 63	28-34-36- 45-50-55- 60-64
(III) 0,608 a 0,810	11-17- 18-22- 70	14-24- 27-56- 69-72	35-47- 58-62- 71	11-21- 85-86	17-22- 27-69- 70	14-18-58- 62-72	24-35-47- 56-71	14-69- 86	11-17- 18-21- 22-70-85	24-71- 72	27-35-47- 56-58-62
(IV) 0,810 a 2,015	1-2-3-4- 8-9-10- 16-19- 81-83- 84	6-12- 20-29- 53	23-31- 39-52	1-2-3- 4-8-9- 10-16- 19-81- 83-84	6-12- 20-23- 53	29-31-39- 52		2-3-4- 6-8-9- 16-19- 20-29- 81-83- 84	1-10-39	12-23- 31-52- 53	

En función del dendrograma (Fig.1) se realizó el análisis de conglomerados jerárquico (*cluster*) para las 86 plantas observadas en las diferentes concentraciones de sodio, destacándose la formación de tres grandes conglomerados y dentro de ellos la existencia de subgrupos. En el primer conglomerado se consideraron plantas cuyo desarrollo morfo-estructural es deficiente; el segundo conglomerado se clasificó como un desarrollo morfo-estructural moderado o regular y el tercer conglomerado está conformado por las plantas de mejor comportamiento morfo-estructural, dentro de las condiciones edáficas del suelo experimental. El conglomerado I se caracteriza por haberse desarrollado en altas concentraciones de sodio y está constituido por las plantas identificadas con los números: 81, 26, 9, 19, 83, 1, 10, 46, 85, 86, 25, 8, 16 y la 3 (en el mismo orden del *cluster*), estas tienen la particularidad de presentar una baja altura, circunferencia y número de hojas. Dentro de este conglomerado existen dos subgrupos I- 1 (plantas: 46, 85, 86) y en el conglomerado I- 2 (plantas: 3, 16, 8, 25) que presentan pequeñas diferencias en la circunferencia, altura delseudotallo y el número de hojas; pero ambos subgrupos están dentro de las plantas con desarrollo deficiente. El conglomerado II se encuentra entre los valores medios de sodio según los rangos estudiados y está conformado por las plantas número: 77, 6, 20, 80, 23, 33, 57, 65, 12, 32, 39, 18, 70, 7, 82, 69, 48, 53, 73, 63, 22, 66, 13 y 17 (en el mismo orden del *cluster*); estas tienen variables morfo-estructurales con valores mayores en comparación con el conglomerado I, también se observa la formación de 5 subgrupos que se separan por pequeñas diferencias entre las variables biométricas. El conglomerado III se encuentra entre los valores más bajos de sodio y está conformado por las plantas número: 71, 67, 38, 59, 75, 76, 14, 37, 43, 50, 36, 47, 35, 54, 64, 79, 78, 51, 58, 62, 41, 61, 15, 52, 55, 28, 72, 44, 45, 56, 60, 31, 40, 42, 49, y 27 (en el mismo orden del *cluster*), estas plantas que constituyen este conglomerado se caracterizan por poseer el

mejor comportamiento morfo-estructural bajo las condiciones experimentales realizadas. Igualmente como en los conglomerados anteriores se formaron subgrupos que se diferencian por pequeños valores en las variables morfo-estructurales, igualmente con pequeñas diferencias en las concentraciones bajas de sodio.

Por otro lado, existen plantas que están fuera de los conglomerados mencionados anteriormente y presentan un comportamiento muy particular, unas colocándose en el extremo superior del dendrograma con características no deseables en su comportamiento biométrico (plantas número 2, 84 y 4), y otras ubicándose en zonas intermedias entre dos conglomerados (planta número 5 y 21), que por sus características se asemejan más al conglomerado I y la planta número 29 al conglomerado II. Por otro lado, las plantas 11, 68 y 74, se parecen más al conglomerado II, y la 24, 30 y 34 se inclinan más hacia el conglomerado III. Estas plantas que están en las zonas intermedias, se consideran en las bandas de inflexión de la dinámica del desarrollo de las plantas de plátano en un suelo con altas concentraciones de sodio, que bajo pequeñas variaciones del contenido salino pueden pasar a uno u otro conglomerado. Se considera en esta investigación que las plantas de plátanos variantes somaclonales, son aquellas numeradas 31 y 52 con buenas características morfo-estructurales, que muestran resistencia a las altas concentraciones de sodio; además aquellas numeradas 26 y 46 que a pesar de estar en bajas concentración de sodio tienen características morfo-estructurales indeseables comparadas con su grupo. Otras plantas de gran interés son aquellas que están fuera de los grupos *clusters*, en bandas de inflexión entre los grandes grupos jerárquicos.

En consecuencia dado lo inédito de esta investigación se puede especular, la posibilidad de que el origen de estos efectos hereditarios, sea causado por el diferencial de velocidad de multiplicación de las células del vegetal en el laboratorio, en comparación con la velocidad de multiplicación de las células de las plantas a nivel de campo, desincronizando de esta manera el tiempo normal del desarrollo de la especie en particular, dando origen a variantes con características particulares.

Supongamos que una planta de plátano propagada por cormos produce 8 hijos en un año y que continuarán en el campo para el siguiente ciclo; supongamos 8000 plantas producidas desde la misma planta por cultivo “*in Vitro*” en un año y que también se siembran en el mismo campo, en las mismas condiciones que las anteriores, entonces estaríamos sembrando plantas de “*in Vitro*” relativas a 1000 años de avance en el tiempo biológico, con posibles variaciones somaclonales; algunas de estas plantas variantes somaclonales revierten en las próximas generaciones, otras se mantienen como nuevas variedades estables. ¡Quizás un tema interesante a profundizar sobre la variabilidad biológica de *Musa* (AAB)!.

Conclusión

La aplicación de las técnicas del análisis de componentes principales, usando el método de la estructura de datos, y el cluster jerárquico fueron técnicas efectivas en detectar posibles plantas somoclonales, éstas son las identificadas con los número 31 y 52, dado su buen comportamiento; a pesar de crecer en condiciones inhóspitas. Dados los resultados obtenidos en función del objetivo planteado, sería apropiado considerar la posibilidad de propagar nuevamente “*In Vitro*” las plantas 31 y 52 resistentes a la salinidad para observar si mantienen sus características en campo o si revierten al comportamiento general de la población, igualmente el mismo tratamiento con las plantas que se encuentran en las zonas de inflexión de la dinámica de la resistencia a la salinidad, con la finalidad de afinar

las técnicas de mejoramiento del plátano hartón (*Musa* AAB) a condiciones extremas mediante la propagación “*In Vitro*”.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CDCHTA de la ULA por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto (NURR-C-337-03-01-C), a los obreros y empleados de la finca el Reto del NURR-ULA por su valiosa colaboración en este proyecto y al profesor Enrique Ávila por traducciones al idioma inglés.

Referencias bibliográficas:

- Colmenares M, Giménez C. Inducción de yemas múltiples en *Musa* (AAB) plátano “Hartón Gigante” con inmersión temporal. *Ciencia*. 2007; 15(3): 331-340.
- Cova L, Tovar R, Pulgar J. Propagación masiva de cambures y plátanos. III Simposio de Biotecnología. Maracaibo, Venezuela. 1990: 68-70.
- Ferreira E, Willadino L, Martins L, Camara R, Oliveira S. Genotipos de bananos (*Musa* spp.) bajo estrés salino: tolerancia y sensibilidad INFOMUSA. 2002; 11 (2): 12-18.
- Larkin PJ., Scowcroft WR. Eye – spot disease of sugarcane. *PlantPhysiol*. 1981; 67 (1): 408-414.
- Lebart L, Morineau A, Fénelon J. Tratamiento estadístico de datos. 1ra Ed. Barcelona, España: Marcombo Boixareu. 1985. p. 385-402.
- Márquez J, Cova L. Detección de variantes somaclonales en plantas de plátano Hartón (AAB) mediante técnicas estadísticas. I Aplicación del análisis de componentes principales (ACP). *Academia* 2014; 13(31): 19-35.
- Nichterlein K. Workshop on Mutation and “*in Vitro*” culture Techniques for the improvement of vegetative propagated tropical food crops. Curso FAO/IAEA/UCR. Centro de Investigaciones Agronómicas.

- Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 2000: 56-62.
- Noro Y, Takano-Shimizu T, Syono S, Kishima Y, Sano Y. Genetic variations in rice “*in Vitro*” cultures at the *EPSPs-ORPS20* region. Theoretical and Applied Genetics. 2007; 114 (1): 705-711.
- Richards R. Increasing salinity tolerance of grain crops: is it worthwhile? Plant and Soil. 1992; 146 (1): 89-98.
- Sahijram L, Soneyi J, Bollamma K. Analyzing somaclonal variation in micropropagated bananas (*Musa* spp.). “*in Vitro*” Cellular and Developmental Biology - Plant. 2003; 39 (1): 551–556.
- Sánchez-Chiang N, Jiménez V. Técnicas moleculares para la detección de variantes somaclonales. Agronomía mesoamericana. 2009; 20 (1): 135-151.
- Sandoval F. Micropropagación de musáceas. Asbana. 1986; 9 (24): 21-23. <http://www.downspeedtest.com> IBM SPSS® Statistics 17.0, 2012.
- Vijayaraghavan H, Easwaren S, Karamathullah J. Padronização de técnicas para produção “*in Vitro*” e indução de tolerância a sal em bananeiras (*Musa* sp.) var. neypoovan (AB) Reuniao ACORBAT. Río de Janeiro, Brasil. 2006. p. 492- 493.