

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA



**“BIORREGULADORES PARA LA PROPAGACIÓN
INTENSIVA DEL BANANO WILLIAMS (*Musa* AAA
Simmonds) EN CÁMARA TÉRMICA”**

Presentado por:

GALO ALEXANDER CEDEÑO GARCÍA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN
PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

Lima – Perú

2015

F02
C4
T
a1

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general.....	2
1.2. Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Situación actual de las Musáceas en el Mundo, América y Ecuador.....	4
2.2. Características del clon de banano Williams (Musa AAA).....	6
2.3. Métodos de propagación de Musáceas.....	7
2.4. Regeneración natural (Métodos tradicional).....	8
2.5. Macro-propagación.....	8
2.5.1. Macro-propagación in situ.....	9
2.5.1.1. Inducción de cebollines en campo (cormitos o hijuelos pequeños).....	9
2.5.1.2. Método de Hamilton o falsa decapitación.....	10
2.5.1.3. Multiplicación rápida in situ con el uso de biorreguladores.....	10
2.5.2. Macro-propagación ex situ.....	11
2.5.2.1. División de cormos y técnica PIF.....	11
2.5.2.2. Técnica de reproducción acelerada de semilla (TRAS).....	12
2.5.2.3. Método masivo en cámara térmica, cámaras o propagadores de crecimiento	12
2.6. Micro-propagación.....	13
2.7. Uso de bencilaminopurina (BAP) en la propagación de Musáceas.....	15
2.8. Uso de bioestimulantes en la propagación de Musáceas.....	16
2.9. Aspectos morfo-fisiológicos en la propagación vegetativa.....	17
2.9.1. Morfogénesis.....	18
2.9.2. Organogénesis.....	19
2.9.3. Embriogénesis somática.....	20
2.9.4. Callogénesis.....	20
2.9.5. Rizogénesis.....	21
2.10. Calidad de plántula.....	23
2.10.1. Tipos de calidad de plántula.....	23
2.10.2. Indicadores, criterios o parámetros de calidad de plántulas.....	23

43874

2.10.3. Índices de calidad más utilizados.....	24
2.10.3.1. Índice de vigor o esbeltez.....	24
2.10.3.2. Índice de calidad de Dickson.....	25
2.10.3.3. Relación biomasa aérea/radical.....	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Localización del experimento.....	26
3.2. ENSAYO 1: “Efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y Basfoliar sobre la tasa de multiplicación del banano cv. Williams en cámara térmica”.	26
3.2.1. Material vegetal.....	26
3.2.2. Cámara térmica.....	27
3.2.3. Factores y niveles estudiados.....	28
3.2.4. Aplicación de los tratamientos.....	30
3.2.5. Variables registradas.....	31
3.2.6. Diseño experimental y análisis de datos.....	32
3.3. ENSAYO 2: “Potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos y dos tipos de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica”.	34
3.3.1. Material vegetal.....	34
3.3.2. Estados fenológicos.....	34
3.3.3. Ambiente de enraizamiento.....	35
3.3.4. Variables registradas.....	36
3.3.5. Evaluación de atributos morfo-métricos y calidad a los 60 días de aclimatación	36
3.3.6. Diseño experimental y análisis de datos.....	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. ENSAYO 1: “Efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y Basfoliar sobre la tasa de multiplicación del banano cv. Williams en cámara térmica”.	39
4.2. ENSAYO 2: “Potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos y dos tipos de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica”.	54
V. CONCLUSIONES.....	72
VI. RECOMENDACIONES.....	73
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Resumen de tratamientos evaluados en el ensayo 1.....	29
Cuadro 2. Composición química del bioestimulante Basfoliar.....	29
Cuadro 3. Significancia estadística de la fuente de variación (FV) y coeficiente de variación (CV) de las variables evaluadas, bajo el efecto de cuatro niveles de belcilaminopurina y el bioestimulante Basfoliar.....	39
Cuadro 4. Comparación de medias para los variables días a brotación, número de brotes R1 y número de brotes R1 encallados, bajo el efecto de cuatro dosis de bencilaminopurina (BAP).....	43
Cuadro 5. Comparación de medias para las variables número de plantas de callo, número de plantas adventicias y tasa de multiplicación, bajo el efecto de cuatro dosis de bencilaminopurina (BAP).....	45
Cuadro 6. Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de la variable porcentaje de enraizamiento a los 5, 10 y 15 días de enraizado en agua.....	54
Cuadro 7. Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de las variables morfo-métricas altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíces y número de raíces.....	61
Cuadro 8. Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de las variables integrales de calidad área foliar, índice de vigor, relación biomasa aérea/radical, peso seco total y índice de calidad de Dickson.....	67
Cuadro 9. Comparación de medias del peso seco e índice de calidad de Dickson en plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hijuero de 1 m de altura seleccionado y limpio listo para la siembra.....	26
Figura 2. Extracción del meristemo apical y disección del corno en forma de asterisco.....	27
Figura 3. Cámara térmica y cormos tratados e inducidos.....	28
Figura 4. Aplicación de bencilaminopurina (BAP) para la inducción de callos y brotes adventicios.....	30
Figura 5. Plantas cosechadas provenientes de callos y adventicias.....	31
Figura 6. Croquis del ensayo experimental con sus respectivos tratamientos y repeticiones.....	33
Figura 7. Estados fenológicos evaluados en ambos tipo de planta.....	34
Figura 8. Plántulas colocadas en agua para su enraizamiento.....	35
Figura 9. Plántulas enraizadas en agua.....	35
Figura 10. Plántulas en diferentes estados de desarrollo luego del enraizado.....	35
Figura 11. Plantas formadas a partir de tejido calloso.....	40
Figura 12. Plantas adventicias formadas directamente del brote R1.....	40
Figura 13. Temperatura promedio alcanzada en el interior de la cámara térmica en diferentes horarios del día. Los promedios obtenidos son el resultado de cuatro muestreos consecutivos.....	41
Figura 14 Diferencia porcentual del número de plantas adicionales obtenidas con las diferentes dosis de BAP en comparación al testigo sin BAP, en el cultivar de banano Williams.....	47
Figura 15. Plántulas de banano con hojas y tallos deformes (izquierda), y masa de callo con brotes de crecimiento irregular y arrositado (derecha).....	49
Figura 16. Plántulas de banano con presencia de decoloración y rayado del tejido foliar.....	50
Figura 17. Callos y plántulas de banano con características fenotípicas normales...	51
Figura 18. Potencial de enraizamiento en agua de plántulas de banano cv. "Williams" provenientes de brotes adventicios y callos obtenidos en cámara térmica.....	55

Figura 19. Plántulas formadas a partir de masa callosa (A) y directamente del brote R1 (B), la flecha indica la mayor área de conexión entre la planta adventicia y el brote R1, lo cual resulta en mayor daño al momento de la extracción.....	56
Figura 20. Plántula originada de tejido calloso (A) nótese que su cormo se encuentra integro después de la extracción. Plántula adventicia (B) nótese la herida provocada por el cuchillo al momento de la extracción.....	56
Figura 21. Plántula adventicia con oxidación del cormo (A) y planta procedente de callo sin oxidación del cormo (B), luego del enraizamiento en agua...	57
Figura 22. Potencial de enraizamiento en agua de tres estados fenológicos (EF) de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica.....	58
Figura 23. Comportamiento de las variables morfo-métricas de acuerdo al tipo de plántula.....	62
Figura 24. Relación entre la variable número de raíces con la altura de planta y el diámetro del tallo.....	63
Figura 25. Comportamiento de variables morfo-métricas de acuerdo al estado fenológico de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica.....	65
Figura 26. Área foliar de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica, de acuerdo al estado fenológico.....	68
Figura 27. Número de hojas y dimensiones de la lámina foliar de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica de acuerdo al estado fenológico.....	68
Figura 28. Índice de vigor o esbeltez de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica.....	69
Figura 29. Relación biomasa aérea/radical de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica.....	70

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza de la variable días a la brotación.....	98
Anexo 2. Análisis de varianza de la variable número de brotes R1.....	98
Anexo 3. Análisis de varianza de la variable número de brotes R1 encallados.....	98
Anexo 4. Análisis de varianza de la variable número de plantas de callo.....	99
Anexo 5. Análisis de varianza de la variable número de plantas adventicias.....	99
Anexo 6. Análisis de varianza de la variable tasa de multiplicación.....	99
Anexo 7. Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 5 días en agua.....	100
Anexo 8. Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 10 días en agua.....	100
Anexo 9. Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 15 días en agua.....	100
Anexo 10. Análisis de varianza de la variable Altura de planta.....	101
Anexo 11. Análisis de varianza de la variable Diámetro de tallo.....	101
Anexo 12. Análisis de varianza de la variable Longitud de raíces.....	101
Anexo 13. Análisis de varianza de la variable Número de raíces.....	102
Anexo 14. Análisis de varianza de la variable Área foliar.....	102
Anexo 15. Análisis de varianza de la variable Índice de vigor o esbeltez.....	102
Anexo 16. Análisis de varianza de la variable Relación biomasa aérea/radical.....	103
Anexo 17. Análisis de varianza de la variable Peso seco total.....	103
Anexo 18. Análisis de varianza de la variable Índice de calidad de Dickson.....	103

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la granja experimental “La Teodomira” de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador, desde Noviembre del 2013 hasta Abril del 2014. Tuvo como objetivo principal desarrollar un sistema de propagación intensiva de plantas de banano en condiciones de cámara térmica, basado en el uso de sustancias biorreguladoras. Para el efecto, se realizaron dos experimentos. En el primero, se evaluó el efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y el bioestimulante Basfoliar sobre la tasa de multiplicación del banano cv. “Williams” bajo condiciones de cámara térmica. Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar en arreglo factorial A x B, donde al factor A se le asignó los niveles de bencilaminopurina (0, 20, 40 y 60 mg L⁻¹) y al factor B los niveles del bioestimulante Basfoliar (0, 20, 40 y 80 ml/cormo); se utilizaron 4 réplicas dando un total de 64 unidades experimentales. Diferencias altamente significativas fueron detectadas en el análisis de varianza solo para el factor bencilaminopurina, donde la mayor tasa de multiplicación fue alcanzada con el nivel de 40 mg L⁻¹ de BAP con 47.27 plántulas/cormo, siendo según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) estadísticamente igual al nivel de 80 mg L⁻¹ de BAP con 45.32 plántulas/cormo, pero estadísticamente diferentes a los niveles de 0 y 20 mg L⁻¹ de BAP, que solo alcanzaron una tasa de multiplicación de 25.96 y 35.20 plántulas/cormo, respectivamente. El análisis de varianza no reportó diferencias significativas para el bioestimulante Basfoliar, ni para la interacción BAP x Basfoliar. Se evidenció la formación de tejido calloso a partir de los brotes de primera generación (R1), en donde se produjo la mayor cantidad de plántulas. También se obtuvo plantas adventicias en menor cantidad. Con la concentración de 80 mg L⁻¹ de BAP, se evidenció la presencia de callos y plántulas anormales. Los síntomas observados en estas plántulas fueron crecimiento arrosado, tallos débiles y acuosos, con hojas deformadas y necróticas, muy parecidos a la hiperhidricidad que se produce en plántulas *in vitro*. Además en algunas plantas se observó síntomas de rayado. En el segundo experimento, se determinó el potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos de plántulas de banano cv. “Williams” provenientes de tejido calloso y de brotes adventicios. Para la prueba de enraizamiento, los estados fenológicos seleccionados fueron plántulas con hoja bandera rudimentaria (EF1), plántulas con hoja bandera y una hoja normal formada (EF2) y plántulas con hoja bandera y más de una hoja normal formada (EF3). Se utilizó el Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial A x B con 6 repeticiones, donde al factor A se le asignó el tipo de plántula (callo y

adventicia) y al factor B se le asignó los tres estados fenológicos (EF1, EF2, EF3). El enraizamiento se realizó en agua y se evaluó el porcentaje de enraizado a los 5, 10 y 15 días. El análisis de varianza reportó diferencias altamente significativas tanto para el factor tipo de planta (callo y adventicia) como para los estados fenológicos (EF1, EF2 y EF3). A los 15 días de enraizamiento en agua, las plántulas procedentes de tejido calloso alcanzaron 86.4% de enraizamiento, en comparación a las adventicias con 79.5% de enraizado. Así mismo, a los 15 días de enraizado, el estado fenológico que alcanzó mayor enraizamiento fue el EF3 con 94.7%, en contraste a los estados fenológicos EF2 y EF1 con 83.3 y 70.8%, respectivamente. Finalmente, después del enraizamiento se evaluó la calidad de las plántulas producidas en cámara térmica, para lo cual se utilizó el Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial A x B, donde al factor A se le asignó el tipo de plántula (callo y adventicia) y al factor B se le asignó los estados fenológicos (EF1, EF2 y EF3). Las principales variables evaluadas fueron el índice de calidad de Dickson y el peso seco de las plántulas a los 60 días después del trasplante a bolsas. El análisis de varianza reportó diferencias significativas para los factores tipo de planta y estados fenológicos, así como también para la respectiva interacción tipo de planta x estado fenológico. El mayor peso seco e índice de calidad de Dickson, se presentó en las plántulas procedentes de tejido calloso en el estado fenológico EF3, alcanzando un peso seco de 45.10 g y un índice de calidad de Dickson de 9.68, siendo por lo tanto las plántulas de mejor calidad y vigor, en comparación a las plántulas adventicias que alcanzaron un menor valor.

SUMMARY

This research was carried out at the experimental farm "La Teodomira" that belongs to the Technical University of Manabí, Ecuador, from November 2013 to April 2014. Its main objective was to develop an intensive propagation system of banana plants under thermal chamber conditions, based on the use of plant bioregulators. For this purpose, two experiments were carried out. In the first, the effect of four levels of benzylaminopurine (BAP) (0, 20, 40 and 60 mg L⁻¹) and four levels of the plant growth stimulant Basfoliar (0, 20, 40 and 80 ml/corm) on the rate of multiplication of banana cv. "Williams" under conditions of thermal chamber, were evaluated. A Randomized Complete Block Design with treatments arranged in a 4 x 4 factorial experiment with three replications was used. Highly significant differences were detected in the analysis of variance only for the benzylaminopurine factor. The highest multiplication rates were achieved with the levels of 40 mg L⁻¹ BAP and 80 mg L⁻¹ BAP (47.27, and 45.32 plantlets/corm, respectively) which were statistically different to the levels of 0 and 20 mg L⁻¹ BAP (25.96, and 35.20 plantlets/corm, respectively) according to the Tukey test ($p \leq 0.05$). No significant differences were found neither for the biostimulant Basfoliar, nor for the interaction BAP x Basfoliar. Callus formation was evident from first generation sprouts (R1), which produced the greater number of plantlets. Adventitious plantlets was also obtained but in smaller amounts. With the concentration of 80 mg L⁻¹ of BAP, the presence of callus and abnormal plantlets was observed. Symptoms observed in these plantlets were rosette growth, weak and watery stems and deformed and necrotic leaves, which are similar to the symptoms of hyperhydricity shown by *in vitro* produced plantlets. Furthermore in some plantlets streak symptoms was also observed. In the second experiment, the potential for rooting and quality of three phenological stages and two provenances of banana plantlets cv. "Williams" obtained from callus and adventitious buds was evaluated. Phenological stages were: plantlets with rudimentary leaf flag (EF1), plantlets with flag leaf and a normal leaf (EF2) and plantlets with flag leaf and more than a normal leaf (EF3). Provenance were: callus and adventitious buds. A Completely Randomized Design with treatments arranged in a 2 x 3 factorial experiment with six replications was used. Rooting was performed in water and rooting percentage was evaluated at 5, 10 and 15 days. Highly significant differences were found for both provenance (callus and adventitious buds) and phenological stages (EF1, EF2 and EF3) factors. After 15 days of rooting in water, plantlets from callus reached 86.4%

rooting, compared to 79.5% for those from adventitious buds. Also, after 15 days of rooting, the highest percentage of rooting (94.7%) was obtained with EF3 as compared to EF1 and EF2 plantlets (83.3% and 70.8%, respectively). Finally, quality of rooted plantlets produced in thermal chamber was assessed, using a Completely Randomized Design with treatments arranged in a 2 x 3 factorial experiment. Treatments included plantlet provenances (callus and adventitious buds) and phenological stages (EF1, EF2 and EF3). Variables evaluated were Dickson's quality index and plantlets dry weight at 60 days after transplanting to bags. Significant differences were found for plantlet provenances, phenological stage and its interaction. The greatest plantlet dry weight and Dickson's quality index, was found in plantlets from callus tissue at EF3 phenological stage (45.10g and 9.68, respectively), which were considered as the best plantlets in terms of quality and vigor.

I. INTRODUCCIÓN

El banano y el plátano (*Musa spp.*), ocupan el cuarto lugar en importancia alimentaria a nivel mundial luego del trigo, arroz y maíz. En conjunto, estas musáceas son consideradas como productos básicos en la alimentación, y son generadores de divisas y fuentes de empleo. A nivel comercial, el banano y plátano constituyen las frutas de mayor exportación en términos de volumen y la segunda, luego de los cítricos, en términos de valor comercial (Singh *et al.*, 2011). Como alimento básico, los bananos, incluidos los plátanos y otros tipos de bananos de cocción, contribuyen a la seguridad alimentaria de millones de personas en gran parte de los países en vía de desarrollo y proporcionan ingreso y empleo a las poblaciones rurales (Ruíz y Ureña, 2009; Álvarez *et al.*, 2013).

En Ecuador, durante los últimos años se ha venido estableciendo y renovando nuevas y viejas plantaciones de banano y plátano. Sin embargo, una limitante que actualmente enfrentan los pequeños productores al momento de renovar o establecer nuevas áreas de cultivo, es la escasez de semilla de buena calidad, disponible para la nueva plantación. Tradicionalmente, el tipo de semilla más utilizada por pequeños, ha sido los cormos o hijuelos de espada que se obtienen directamente de las plantaciones en producción, los cuales son extraídos sin ningún criterio de selección.

Este hecho ha conducido a que nuevas plantaciones tengan graves problemas fitosanitarios tales como el virus del estriado del banano (BSV), nematodos, picudo negro y cochinillas, principalmente, debido a que la mayor parte de estos se transmiten por esta vía de multiplicación a través del material de siembra, reduciendo significativamente los niveles de productividad (Sandoval, 2001; Armijos, 2008). Por otra parte, con el uso de este tipo de semilla se aprovecha un bajo número de hijuelos/unidad biológica, lo cual eleva los costos de producción, y adicionalmente la extracción excesiva de estos causa el debilitamiento de las unidades productivas (Coto, 2009).

Por otra parte, con el método tradicional utilizado por pequeños productores, se obtienen bajas tasas de multiplicación, lo cual se debe a la naturaleza de la misma planta (Soto, 2008), pues solo es posible aprovechar el 25% del total de yemas (Coto, 2009). El método de propagación más utilizado en la actualidad es la técnica de micropropagación, principalmente empleada por grandes productores, con la cual se obtienen grandes cantidades de plantas con poco material vegetativo, alta homogeneidad y calidad sanitaria, mayor vigor y precocidad, y finalmente mayor rendimiento por hectárea, en comparación con las plantas obtenidas mediante el método tradicional (Ortiz *et al*, 2007). Sin embargo, a pesar de que en la actualidad es posible obtener semillas de alta calidad fisiológica y sanitaria mediante la micropropagación, esta técnica está muy lejos de ser utilizada masivamente por los pequeños productores debido a su alto costo (Njukwe *et al*, 2010; Ngo-Samnack, 2011).

La carencia de material de siembra de calidad, es uno de los factores que limitan el buen desarrollo de las plantaciones de banano de pequeños bananeros, que en promedio tienen propiedades que oscilan entre 0.5 a 30 hectáreas (PRO ECUADOR, 2013). En este sentido, la técnica de la macro-propagación en cámara térmica, se convierte en una opción accesible, barata y de fácil uso para pequeños productores de banano y plátano, dado que la cámara térmica ofrece la ventaja de la termoterapia que permite limpiar el material de siembra de plagas y enfermedades, así como también activar yemas latentes y potencializar la tasa de multiplicación (Rodríguez *et al*, 2013; Álvarez *et al*, 2013).

En Ecuador existe escasa información relacionada a la macro-propagación en cámara térmica, razón por la cual en la presente investigación se plantearon los objetivos siguientes:

1.1. Objetivo general

- Desarrollar un sistema de propagación intensiva de plantas de banano en condiciones de cámara térmica, basado en el uso de sustancias biorreguladoras.

1.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y el bioestimulante Basfoliar Algae sobre la tasa de multiplicación del banano cv. Williams bajo condiciones de cámara térmica.

- Determinar el potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos y dos tipos de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Situación actual de las Musáceas en el Mundo, América y Ecuador

A nivel mundial, el banano y el plátano representan importantes rubros en términos económicos para la mayoría de países productores, puesto que generan ingresos de divisas y constituyen fuentes permanentes y transitorias de trabajo para una parte de la población. Además, contribuyen con la seguridad y soberanía alimentaria de países en vía de desarrollo, ya que son alimentos básicos en la dieta diaria de millones de personas, tanto como alimento fresco, de cocción y procesado, ya que junto a las raíces y tubérculos aportan alrededor del 40% de la oferta de alimentos ricos en energía (Arias *et al*, 2004; Ruíz y Ureña, 2009; Loeillet, 2012).

Actualmente se estima que alrededor de 1000 millones de personas sufren de hambre, es decir el 16% de la población de los países en vía de desarrollo, no tienen acceso a la seguridad alimentaria de manera permanente (FAO, 2010). Por lo tanto, el incremento de la producción agrícola mundial, y en especial el de los rendimientos actuales de banano y plátano mediante el uso de nuevas tecnologías, así como la conservación de germoplasma es imprescindible para hacer frente a los retos de la seguridad alimentaria actual y futura (Naciones Unidas, 2008; Panis, 2009; IICA, 2012).

Hasta el año 2004 se estimaba que a nivel mundial existían 9 millones de hectáreas, con una producción promedio de 99 millones de toneladas entre banano y plátano, de las cuales 78 millones corresponden solo a banano, y de estas cifras alrededor de 16,2 millones de toneladas se exportan, quedando el resto para el autoconsumo. Estas cifras indican la importancia a nivel mundial del cultivo de banano sobre la seguridad alimentaria del mundo, donde según cifras oficiales existe un consumo per cápita de 9,51 kg/persona/año, siendo los mayores consumidores los africanos y asiáticos (Arias *et al*, 2004; INEC, 2010).

El mercado mundial de banano se distribuye en algunas zonas de importancia comercial, siendo la UE con 5.2 millones de toneladas por año la primera zona consumidora, seguida

por EEUU y Canadá con 4.1 millones, Rusia y Europa del Este con 1.5 millones, Asia y Japón con 2.1 millones, y pequeños mercados como el Mediterráneo, Oriente Medio y América Latina con 0.7, 0.3 y 0.8 millones de toneladas, respectivamente (Loeillet, 2012). En cuanto a la producción y consumo mundial de plátano, en el año 2007 Uganda se posesionó en el primer lugar con 9.2 millones de toneladas que equivalen al 27.2% de la producción total, seguido de Nigeria, Ghana y Colombia con 8.8, 8.6 y 8.2%, respectivamente. Los países Africanos lideran la producción y consumo total del plátano con 24.7 millones de toneladas que equivalen al 72%, Sudamérica y el Caribe con 25% y Asia con 3%. Dentro de la región Sudamericana el 18% de la oferta mundial del plátano equivalente a 6.11 millones de toneladas se produce principalmente en Colombia y Perú con 2.8 y 1.8 millones de toneladas, respectivamente (Ruíz y Ureña, 2009).

En América Latina y el Caribe, según cifras oficiales, existen un total de 1'224.707 y 937.203 hectáreas de banano y plátano, respectivamente, con una producción de 27'859.203 toneladas para banano y 8'531.308 toneladas para plátano (FAOSTAT, 2013). Por su parte, Ecuador cuenta actualmente con 210.110 ha de banano, las cuales representan el 10% de superficie agrícola nacional, con un volumen de producción de 7'427.776 toneladas, siendo junto con Brasil los mayores productores de banano en el continente Americano (MAGAP, 2013; FAOSTAT, 2013). Por otra parte, Ecuador hasta el año 2012 exportó un total de 2'078.239.38 millones de dólares por concepto de divisas y 5'196.065.09 millones de toneladas ubicando al banano como el primer producto de exportación del sector privado del país y uno de los principales contribuyentes al fisco (PRO ECUADOR, 2013).

Además, el banano representa también el 2% del PIB general, 26% del PIB agrícola, 8% de las exportaciones generales, 27% de las exportaciones agropecuarias y 20% de las exportaciones no petroleras (PRO ECUADOR, 2013). Con estas cifras, el Ecuador se convierte el primer exportador de banano en el mundo, liderando el 29% de las exportaciones mundiales, seguido por sus principales competidores Costa Rica, Filipinas y Colombia con un 12, 12 y 10%, respectivamente. Finalmente, el cultivo de banano en Ecuador genera trabajo para 2,5 millones de personas, con lo cual se convierte en una importante fuente de empleo para el país (AEBE, 2011). En cuanto a la estructura productiva del banano en Ecuador, el cultivo se encuentra distribuido entre pequeños, medianos y grandes productores, donde el 79% de los mismos son pequeños, cuyas fincas van desde 0.5 a 30 ha y conforman el 25% de la superficie nacional. Los medianos productores por su parte

representan el 16%, cuya superficie va desde las 30 a 100 ha, lo cual representa el 36% de la tenencia del cultivo. Finalmente, los grandes productores solo representan el 5% del total, sin embargo, poseen superficies mayores a 100 ha, lo cual significa el 38% de la superficie total bananera del país (MAGAP, 2013; PRO ECUADOR, 2013).

Perú por su parte, cuenta en la actualidad con 300.000 hectáreas establecidas con cultivos frutícolas, de las cuales el 50% corresponde a los cultivos de banano y plátano que en conjunto ocupan unas 150.000 hectáreas (Aguilar y Daga, 2011). Además, es el principal productor y exportador de banano orgánico en el mundo, pues en el año 2008 con 45.5 millones de dólares superó por primera vez a República Dominicana que solo logró exportar 42.5 millones. Esta es una cifra histórica y de mucha importancia para Perú (INIA, 2011). La producción de banano orgánico del Perú se concentra mayormente en las zonas de Tumbes, Piura y Lambayeque, donde se reportan 3414 ha certificadas, de las cuales el 80% se concentran en Piura y principalmente en el Valle del Chira (Fairlie, 2008).

La exportación de banano orgánico representa el 10% de la producción del Perú, quedando el restante 90% para el autoconsumo, siendo desde este punto de vista tanto el banano como el plátano cultivos de gran importancia en su seguridad alimentaria. Por último, se estima que 147987 familias peruanas se benefician directa o indirectamente de la actividad bananera, de ahí que es fácil deducir la importancia socio-económica de estas musáceas en el país incaico (Herrera y Colonia, 2011).

2.2. Características del clon de banano Williams (Musa AAA)

El cultivar Williams es un banano triploide que pertenece al subgrupo Cavendish, y que en los últimos años ha venido ocupando el segundo puesto en importancia exportable después del clon Gran Enano, e incluso lo está sustituyendo (Robinson y Galán, 2011). Las primeras plantaciones experimentales de Williams fueron establecidas en África en el año 1974 y fue liberada a nivel comercial poco tiempo después. Desde entonces, ha crecido el interés por incrementar el área productiva con este clon, debido a sus excelentes atributos agronómicos y a su alta capacidad de adaptación en la mayoría de zonas bananeras del mundo (Robinson, 1993; Robinson y Galán, 2011).

Las plantas del clon Williams se caracterizan por presentar una altura media, de pseudotallo vigoroso y amplio sistema radical, que le da mayor capacidad de anclaje y resistencia al volcamiento por efecto de los vientos (Ortiz *et al*, 2007). Sin embargo, al parecer la mayor razón por la cual la mayoría de productores la prefieren, es por su mayor adaptabilidad a condiciones adversas del ambiente (estrés térmico, hídrico y edáfico), aunque presenta la desventaja de ser muy susceptible a Sigatoka negra y a nemátodos (Sierra, 1993). Además, el porcentaje de fruta de calidad es superior al clon Gran Enano, lo cual se debe a que el índice de curvatura de los dedos y la distancia entre manos es superior al mencionado clon, razón por la cual existe un mejor aprovechamiento de la fruta para exportación, debido a que estos índices influyen en la calidad del fruto y mejor empaque en cajas (Boche, 1996; Robinson y Galán, 2011).

2.3. Métodos de propagación de Musáceas

Uno de los principales factores para lograr el éxito de una explotación comercial de banan, es la selección y obtención de semillas o material de siembra en cantidad suficiente, con calidad fisiológica adecuada (vigor), y libre de plagas y enfermedades, sin que esto implique una elevación exagerada en los costos iniciales del cultivo (Martínez *et al.*, 2004).

El establecimiento de un plantío en óptimas condiciones (aparición deseable, vigor y excelente aspecto fitosanitario) que facilite la instalación y manejo de un lote comercial, con plantas uniformes en su tasa de desarrollo fisiológico, y obtener fructificación y cosechas uniformes, solo ha sido posible con la utilización de vitroplantas (Martínez *et al*, 2004). Sin embargo, a través de una selección rigurosa de plantas en etapa de vivero, sometidas a un estricto control, también ha sido posible lograr este objetivo con plantas provenientes de otros métodos de propagación; lo cual implica la aplicación de medidas fitosanitarias dirigidas a las semillas previo al establecimiento del vivero tales como: remoción del tejido necrótico de la superficie del cormo, desinfección (tratamientos químicos y físicos), selección de semilla por tamaño y propagación por métodos inductivos (Aguilar *et al*, 2004). La obtención de plántulas de banano es posible mediante varios métodos de multiplicación, siendo la regeneración natural, la micropropagación y la macropropagación los más utilizados (Souza *et al*, 2006; Singh *et al*, 2011). Bajo este contexto, el potencial de prolífico del cormo de las musáceas ha impulsado a los investigadores a idear nuevas prácticas y metodologías

de propagación con la finalidad de obtener mayores tasas de multiplicación en el menor tiempo posible (Aguas y Martínez, 2003).

2.4. Regeneración natural (Método tradicional)

La regeneración natural es el método de propagación más utilizado por pequeños productores, y consiste en utilizar hijos de espada, hijos de agua y retoños (Soto, 2008; Robinson y Galán, 2011). Además, los agricultores seleccionan el material de siembra de acuerdo a características agronómicas tales como edad y tamaño del rizoma (Staver *et al*, 2010), características que según Belalcazar (1991) tienen un efecto significativo sobre parámetros fenológicos y de rendimiento. La principal desventaja del método tradicional es la facilidad con la que plagas y enfermedades se diseminan a través del material de siembra (Cordeiro y Mesquita, 2000; Sheela y Ramachandran, 2001). La tasa de multiplicación del banano está en función al número de hojas, puesto que una planta puede producir el mismo número de hijuelos que el número de hojas emitidas hasta la emergencia del racimo (Costa *et al*, 2008).

Sin embargo, dependiendo del cultivar, el tamaño y edad de la planta es posible aprovechar el 25% del potencial de yemas encontradas en el cormo (Borges *et al*, 2004; Coto, 2009), lo cual puede deberse a la baja actividad hormonal y lento crecimiento de yemas laterales, provocado por la dominancia apical de la planta madre (Singh *et al*, 2011). Debido a lo anterior, dependiendo del cultivar, el tamaño y edad fisiológica de la semilla, una planta puede producir vía regeneración natural entre 5 – 20 hijuelos durante su ciclo vital (Coto, 2009; Singh *et al*, 2011). Además, debido a su escasa disponibilidad y al gran tamaño del cormo utilizado, este método es muy costoso principalmente cuando la superficie a establecer es muy extensa y está muy distante de los lotes proveedores de semillas (Molina y Martínez, 2004; Palencia *et al*, 2006).

2.5. Macro-propagación

La macro-propagación es una técnica eficaz y barata en la producción de plántulas de banano con buena calidad fisiológica y sanitaria, donde pueden emplearse cormos enteros o fragmentados que contengan yemas laterales con meristemas en diferentes etapas de desarrollo (Faturoti *et al*, 2002; Tenkouano *et al*, 2006). La macro-propagación se basa en

la decapitación e inhibición de la dominancia apical para estimular el desarrollo de yemas laterales y aumentar la tasa de multiplicación. La tecnología puede ser implementada directamente en campo (*in situ*) o en propagadores (*ex situ*) donde la implementación de cámaras de crecimiento con alta temperatura (termoterapia) y humedad garantiza una rápida brotación y limpieza del material de siembra (Singh *et al*, 2011; Álvarez *et al*, 2013). Además, el uso de sustratos adecuados y biorreguladores ayudan a dar mejores condiciones de crecimiento y sanidad a los rizomas tratados, así como también potencializar la tasa de multiplicación (Manzur, 2001; Njukwe *et al*, 2007).

2.5.1. Macro-propagación *in situ*

La técnica consiste básicamente en la decapitación e inhibición de la dominancia apical en condiciones de campo, donde se puede hacer uso o no de sustancias biorreguladoras. A continuación se mencionan algunas técnicas de macro-propagación *in situ*.

2.5.1.1. Inducción de cebollines en campo (cormitos o hijuelos pequeños)

Con esta técnica se aprovechan cormos de 200 a 400 g de peso con potencial para producir una planta y un racimo de calidad. Para obtener cebollines, se seleccionan plantas madres que presenten buenas características de sanidad y calidad de racimo, se procede a decapitar e eliminar la dominancia apical en caso de plantas donde aún no ha ocurrido la diferenciación floral (Coto, 2009). En caso de plantas en las que se ha cosechado el racimo, se debe cortar en forma de bisel toda la unidad biológica a cinco centímetros por encima del suelo, para después proceder a cubrir los rizomas con tierra y materia orgánica y posteriormente aplicar urea para estimular la rápida brotación de yemas (Palencia *et al*, 2006).

Pasados los treinta días de la inducción, se procede a cosechar los “cebollines” que se encuentren en un rango de peso entre 200 a 400 g, se les elimina las raíces y la corteza externa para evitar la diseminación de plagas y enfermedades, seguidamente se trasladan a bolsas de polietileno para ser manejados en vivero (Lescot y Staver, 2013). Con esta técnica se pueden obtener alrededor de 10 cebollines por cormo en un tiempo de 30 días, los cuales estarán listos para ser llevados al campo definitivo a los 60 días después de la extracción y siembra en bolsas. Los sitios de inducción de brotes, continuarán produciendo semillas mientras se les dé un manejo adecuado (Palencia *et al*, 2006; Lescot y Staver, 2013). En este

sentido, Tone *et al* (2011) mencionan haber obtenido 11, 13 y 17 plantines por cada planta madre a los 6, 7 y 8 meses después de haber inducido la producción de cebollines.

2.5.1.2. Método de Hamilton o falsa decapitación

La metodología de Hamilton o falsa decapitación se usa en plantas en pleno estado de desarrollo vegetativo, es decir antes que ocurra la diferenciación floral en el interior del cormo, o cuando la planta haya emitido el 50% de su sistema foliar (Bonte *et al*, 1999). La técnica consiste en introducir un tubo de metal o algún trozo de madera al interior del pseudotallo a una altura de 20 cm del nivel del suelo, con la finalidad de eliminar el punto de crecimiento e interrumpir la dominancia apical y activar la brotación de yemas laterales, también se puede utilizar un sacabocado para obtener el mismo efecto (Faturoti *et al*, 2002; Njukwe *et al*, 2007). Con este método, se ha logrado producir hasta 20 hijuelos/cormo en un periodo de 9 meses, de los cuales 15 hijuelos son de tamaño ideal para ser trasplantados al campo y 5 son cebollines los mismos que deber ser sembrados preferiblemente en bolsas plásticas y dejarlos crecer en condiciones de vivero hasta que alcancen el tamaño óptimo para ser llevadas al campo (Rojas *et al*, 2010; INIA, 2011).

2.5.1.3. Multiplicación rápida in situ con el uso de biorreguladores

Esta técnica fue implementada directamente en campo por Manzur (2001), donde plantas del plátano FHIA-20 de 10 meses de edad fueron decapitadas y despojadas del meristemo apical con la respectiva aplicación de benzilaminopurina. Posteriormente, emergen hijuelos entre 15 a 20 cm de altura, a los cuales se los decapita y se les retira el meristemo apical al igual que la planta madre con la finalidad de aplicarles benzilaminopurina e inducir la formación de brotes múltiples. Con esta metodología, Manzur (2001) reportó haber obtenido 156 plántulas/planta hasta la tercera generación de brotes. En este mismo sentido, Singh *et al* (2011) mencionan que es posible obtener entre 45 – 50 plántulas/planta a través de este método con la respectiva aplicación de benzilaminopurina luego de la decapitación y retiro del meristemo apical.

2.5.2. Macro-propagación *ex situ*

Esta tecnología también está basada en decapitación e inhibición de la dominancia apical, donde se utilizan cormos enteros o fragmentos del mismo. A diferencia de la propagación *in situ*, todo este procedimiento se realiza en condiciones de propagadores y casas de cultivo cubiertos de tela plástica con la finalidad de generar temperaturas y humedades relativas elevadas. Además, el uso de sustratos y biorreguladores es una práctica muy frecuente en estos métodos de propagación. A continuación, se detallan algunas técnicas de macro-propagación *ex situ*.

2.5.2.1. División de cormos y técnica PIF

La división de cormos (Split corm) es una técnica que se aplica a cormos provenientes de plantas a punto de florecer, así como también plantas ya cosechadas, las cuales deben provenir de plantas sanas y vigorosas (Osei, 2006; Njukwe *et al*, 2007). Los cormos seleccionados se dividen de acuerdo al número de yemas visualizadas, por lo tanto cada sección debe tener al menos una yema para que el método sea eficiente (Cordeiro y Dos Santos, 1991). Una vez realizados los cortes, las secciones de cormo deben ser sembradas preferiblemente en fundas plásticas procurando que la yema quede totalmente cubierta con el sustrato, con la finalidad de estimular la brotación (Crops Research Institute, 1995). Resultados obtenidos con esta técnica indican que es posible obtener de 7 a 10 plantas/cormo, las mismas que pueden ser trasplantadas al campo definitivo en un periodo de nueve meses (Bonte *et al.*, 1995; Haddad *et al*, 1994).

La división de brotes es considerada una variante del método anterior, con la diferencia de que una vez emergidos los brotes primarios, estos se vuelven a dividir con la finalidad de generar brotes secundarios, y así mismo deben ser sembrados en bolsas o canteros, cubriéndolos totalmente con el sustrato (Njukwe *et al*, 2007). Esta técnica, tiene la ventaja de que la mayor parte de los brotes subdivididos producen meristemas múltiples por lo que se pueden separar en bolsas individualmente y así obtener un mayor número de plantas. Adelaja (1995), menciona que con esta metodología es posible obtener alrededor de 800 plantas de un solo cormo en un periodo de 8 meses.

La técnica PIF (plantes issues de fragments de tiges) o plantas provenientes de fragmentos de rizoma por sus siglas en francés, se aplica a hijuelos espada en pleno estado de desarrollo vegetativo (Njukwe *et al*, 2007; Serna y Zamorano, 2008; Kwa, 2003). Al igual que en la técnica de división de cormos, estos son limpiados y esterilizados para después ser divididos entre 2 a 4 fragmentos que deberán presentar al menos una yema latente o en proceso de desarrollo, a la cual se le practica cortes en cruz o asterisco del meristemo apical con la finalidad de inhibir la dominancia apical, luego de esto deben ser establecidos en cámaras de crecimiento (Njukwe *et al*, 2007). Con esta técnica, Kwa (2003) menciona haber obtenido 25 plantas por fragmento de rizoma en el plátano cv. “Batard” y entre 28 a 36 plantas por fragmento en el plátano cv. “French Clair”.

2.5.2.2. Técnica de reproducción acelerada de semilla (TRAS)

Al igual que los demás métodos, esta técnica se inicia con la selección de la planta madre que deber ser de alta calidad fisiológica, sanitaria y productiva. Los cormos deben ser limpiados y desinfectados para evitar la diseminación de plagas y enfermedades. Una vez realizada esta labor se procede a separar el punto de crecimiento con la finalidad de interrumpir la dominancia apical e inducir la brotación de las yemas axilares (Reyes *et al*, 2009). Luego se procede a sembrar los cormos en canteros previamente acondicionados en donde se someterán a riego y fertilización, respectivamente. Finalmente, la primera cosecha se realiza 45 días después de la siembra, y así sucesivamente hasta completar tres cosechas en total. En experimentos realizados con este método se ha logrado producir hasta 24 brotes de excelente calidad en un periodo de cuatro meses (Aguilar *et al*, 2004).

2.5.2.3. Método masivo en cámara térmica, cámaras o propagadores de crecimiento

La macro-propagación dentro de cámaras térmicas, se usa actualmente con dos fines básicos. El primero y el más importante es la limpieza del material de siembra a través de la termoterapia por efecto de las elevadas temperaturas que se generan por efecto del plástico, donde es posible alcanzar entre los 50 a 70°C (Rodríguez *et al*, 2013; Álvarez *et al*, 2013). La termoterapia es una técnica que se utiliza actualmente en como método de saneamiento y regeneración de plantas libres de virus en varios cultivos, incluyendo al banano y plátano (Wirakarnain *et al*, 2008; Kabir *et al*, 2008). El segundo aspecto importante de esta tecnología, es la mayor temperatu y humedad alcanzada dentro de la cámara, dado que estos

dos parámetros influyen significativamente en la activación de yemas latentes y por ende mayor tasa de multiplicación (Kwa, 2003; Njukwe *et al*, 2007; Álvarez *et al*, 2013).

En este sistema de propagación se pueden utilizar todos los métodos de macro-propagación *ex situ*, donde se realizan las mismas labores ya descritas, tales como limpieza, decapitación, decorticación, desinfección y remoción del meristemo apical (Njukwe *et al*, 2007; Singh *et al*, 2011; Álvarez *et al*, 2013). Una vez establecidos los explantes dentro de las cámaras térmicas, será posible apreciar una rápida emergencia y crecimiento de los brotes que se da básicamente por efecto de la temperatura, que según varios autores tiene un papel significativo en la mayor actividad, proliferación y desarrollo de las yemas (Kwa, 1993; Baiyeri y Aba, 2005; Mwangi *et al*, 2007).

Una vez que las plántulas hayan alcanzado un tamaño adecuado, estas pueden ser directamente removidas del cormo madre, desinfectadas y establecidas en bolsas plásticas donde se dejen en aclimatación hasta que puedan ser llevados al campo definitivo (Álvarez *et al*, 2013). Otra opción, es volver a remover el meristemo apical de los brotes primarios con la finalidad de inducir la proliferación de brotes secundarios potencializando así una mayor tasa de multiplicación (Faturoti *et al*, 2002; Osei, 2006; Njukwe *et al*, 2007; Singh *et al*, 2011; Dayarani *et al*, 2013).

2.6. Micro-propagación

El cultivo *in vitro* es actualmente una de las técnicas biotecnológicas más utilizadas en la propagación y el mejoramiento genético de plantas (Peres *et al*, 2008a; Costa *et al*, 2008). Esta técnica tiene la ventaja que cualquier parte de la planta sirve como explante inicial cuyo crecimiento y diferenciación se puede direccionar hacia la formación de callos, brotes adventicios, raíces y embriones (Arias, 1993; García *et al*, 2002; Colmenares *et al* 2007; Chang y Shu, 2013). Por otra parte, tiene la ventaja particular que la cantidad de plantas a propagar puede ser abundante a partir de poco material vegetativo; se puede realizar en muy corto tiempo y en un reducido espacio en comparación a las demás técnicas convencionales de propagación (Karím *et al*, 2009); permitiendo además mayor control sanitario de las plantas propagadas provenientes de zonas con presencia de patógenos cuarentenarios y la conservación de germoplasma en peligro de desaparecer (Villalobos y Thorpe, 1991).

La micro-propagación en musáceas puede llevarse a cabo por varias técnicas, siendo la más común la de cultivo de ápices meristemáticos, los cuales se inducen a crecer y a producir brotes múltiples en medios de cultivo semisólidos específicos (Torres, 2009). Cuando se ha inducido gran cantidad de brotes, estos se enraízan, obteniéndose así el producto final que son las plantas enraizadas. A partir de un solo ápice sometido a proliferación intensiva *in vitro*, es posible obtener en apenas un año centenares de plantas de excelente calidad fisiológica y sanitaria, y con la misma identidad genética de la planta madre seleccionada (Sandoval *et al*, 1991). En un estudio reciente, se llegó a determinar que mediante la multiplicación *in vitro* vía organogénesis directa en musáceas, es factible regenerar gran cantidad de plantas a partir de explantes de 1 cm, en el cual se incluye el cormo y pseudotallo (López, 2010).

Otra forma de multiplicación *in vitro* en musáceas, es la conocida como embriogénesis somática, que es el proceso mediante el cual se generan embriones a partir de células somáticas en medio de cultivo (Albarrán *et al*, 2009). Los embriones somáticos siguen las mismas etapas que los embriones cigóticos, con la diferencia de que no son el resultado de la fusión de dos gametos sexuales (Kamle *et al*, 2011). Debido a la totipotencia de las células vegetales, la embriogénesis somática puede inducirse en tejidos diferenciados tales como el mesófilo, raíces, flores, polen, tallos y protoplastos (Albarrán *et al*, 2009; Radice, 2010; Mahdavi *et al*, 2010).

Debido a que los métodos tradicionales de propagación *in vitro* se obtienen bajas tasas de multiplicación, el alto costo de mano de obra y la escasa posibilidad de automatizar el proceso, se han desarrollado nuevas alternativas para automatizar y acelerar los procesos de multiplicación masiva (Pinto *et al*, 2001; Colmenares *et al*, 2007; Basail *et al*, 2012). Por otra parte, la capacidad morfogénica y los coeficientes de proliferación de los explantes cultivados bajo las condiciones *in vitro* tradicionales, son desuniformes y dependen de factores endógenos tales como el tamaño y el estado fisiológico del explante utilizado, así como de factores externos como la consistencia de los medios utilizados y el número de subcultivos a los que se someten los explantes originales (Utino *et al*, 2001; Martín *et al*, 2007).

Por lo anteriormente expuesto, una de las metodologías *in vitro* que está siendo ampliamente utilizada en los últimos años, es la propagación en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT), que consiste en cultivar explantes en medios líquidos suspendidos dentro de

recipientes automatizados, metodología conocida como RITA (*réci­pient á immersion temporaire automatisé*) y que fue desarrollada por Teisson *et al.* (1996).

Con los sistemas de inmersión temporal, se han solucionado las dificultades encontradas al propagar plantas en medios líquidos y semisólidos estáticos, además se ha logrado aumentar significativamente la eficiencia biológica y prolificidad del material multiplicado (Alvard *et al.*, 1993). Finalmente, la metodología de los Biorreactores de Inmersión Temporal se convierte en una alternativa novedosa en la propagación de musáceas, dado que se obtienen mayores tasas de multiplicación, las plantas obtenidas son de mejor calidad fisiológica, y el porcentaje de supervivencia durante la aclimatación es superior en contraste a las demás técnicas de propagación (Castro *et al.*, 2002; Pérez *et al.*, 2006).

2.7. Uso de bencilaminopurina (BAP) en la propagación de Musáceas

La bencilaminopurina (BAP) es un análogo sintético de las hormonas conocidas como citocininas, siendo una aminopurina derivada de la adenina, por lo cual es el principal reactivo utilizado en la propagación *in vitro* e *in vivo* de musáceas. La estimulación y activación de yemas de banano para la proliferación intensiva y abundante de plantas ha sido lograda con el uso principalmente de citocininas sintéticas tales como la bencilaminopurina, siendo su principal función la de romper la dominancia apical, para estimular la división celular y la consecuente formación de multibrotos y callos a partir de yemas axilares (Orellana, 1994; Madhulatha *et al.*, 2004; Dharaneeswara-Reddy *et al.*, 2014).

Se han realizado diversidad de investigaciones con el fin de evaluar la respuesta organogénica del cultivo de banano y plátano a la aplicación de BAP, tanto *in vitro* como *in vivo*. En ensayos conducidos en condiciones *in vitro*, se ha estimado que dosis de 5 mg/L de BAP producen un mayor incremento en el número de brotes y plantas obtenidas por explantes, tanto en banano como en plátano (Sunshine y Mogollón, 2008; Florio y Mogollón, 2011). Por su parte, Zaffari y Kerbauy (2006), obtuvieron mejor respuesta organogénica con dosis de 7,5 mg/L de BAP para banano Gran Enano, coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Pérez *et al.*, (2006), quienes reportaron mejor respuesta con 8 mg/L de BAP para el cultivo de plátano macho. Para plátano maqueño se ha establecido que la dosis de 5 mg/L de BAP también produce los mejores resultados en cuanto a tasas de multiplicación en condiciones *in vitro* (Canchignia *et al.*, 2008a).

Para la propagación *in vivo* e *in situ* también se han estimado dosis de BAP, en banano y plátano. En este contexto, Canchignia *et al.*, (2008b) determinaron que dosis de 30 mg/L produjeron los mejores niveles de proliferación *in vivo* a partir de cormos de banano y plátano. Por otra parte, Manzur (2001) determinó que con dosis de 40 mg/L de BAP en condiciones *in situ* logró proliferar hasta 156 plantas/cormo con el clon de plátano FHIA-20. Así mismo, Pereira *et al* (2001), Osei (2006), Dayarani *et al* (2013), Kindimba y Msogoya (2014), lograron mayores tasas de multiplicación *in vivo* en banano y plátano con el uso de benzilaminopurina (BAP) tanto en condiciones de campo (*in situ*) como en condiciones de cámaras de crecimiento (*ex situ*).

2.8. Uso de bioestimulantes en la propagación de Musáceas

En la actualidad existe la tendencia de ir sustituyendo los reguladores de crecimiento sintéticos utilizados en la propagación de plantas, por productos bioactivos de origen biológico, tales como los bioestimulantes, con la finalidad de reducir los costos de producción. Algunos bioestimulantes han demostrado ser efectivos en esta sustitución de hormonas sintéticas, ya que contienen análogos de brasinoesteroides y fracciones de hormonas vegetales naturales con los que se han obtenido resultados promisorios muy halagadores en cultivos como musáceas, papa, arroz y tomate (Díaz *et al.*, 2004).

Entre los bioestimulantes comerciales que se han utilizado con este fin se menciona al Biobras que es un análogo de brasinoesteroides, el bioestan y Liplant que se derivan del humus de lombriz y el vermicompost, el Fitomas-E que se deriva de la caña de azúcar y el Rizobac que es un biopreparado de origen rizobacteriano (Héctor *et al.*, 2002; Rodríguez, 1999; Díaz, 2002; Pérez, 2007; Izquierdo *et al.*, 2012).

En este sentido, experimentos realizados en el cultivo de plátano se encontró que con el uso del Biobras y Bioestan como sustitutos de BAP y AIA, se produjeron resultados similares e incluso superiores a los obtenidos con benzilaminopurina (BAP) y ácido indolacético (AIA), es decir se encontraron iguales o mayores índices de multiplicación, porcentajes de sobrevivencia, brotación y enraizamiento (Héctor *et al.*, 2007). Resultados similares fueron encontrados por Pérez (2007) al utilizar el bioestimulante Fitomas-E en fase de multiplicación y aclimatación, respectivamente en el clon FHIA-18. Por su parte, Russo *et*

al. (1995), encontraron una respuesta muy favorable en la aclimatación de plantas de banano Gran Enano, al tratarlas con un bioestimulante húmico derivado del raquis del banano.

2.9. Aspectos morfo-fisiológicos en la propagación vegetativa

En la propagación vegetativa de plantas ya sea esta *in vivo* o *in vitro*, ocurren un sinnúmero de cambios y procesos morfo-anatómicos y fisiológicos que dan lugar a la formación de órganos y el cuerpo entero de una planta. Sin embargo, cabe mencionar que una planta originada mediante el cultivo de tejido *in vitro*, difiere en muchos aspectos de las que se forman *in vivo* (Pierik, 1990; Tisserat *et al.*, 1979). Esto puede deberse a que el crecimiento *in vitro* es heterótrofo, y por lo tanto está influenciado por el ambiente físico, químico y gaseoso de los envases utilizados durante los procesos de regeneración. Por su parte el crecimiento *in vivo* es autótrofo y depende de las condiciones endógenas de los explantes utilizados (Pierik, 1990).

Las plantas que crecen bajo condiciones *in vitro* tienden a manifestar alteraciones en su comportamiento anatómico, morfológico y fisiológico, esto como consecuencia de haberse desarrollado en un ambiente heterótrofo muy dependiente de las concentraciones nutricionales, el substrato energético, concentraciones de CO₂ y de las condiciones físicas tales como temperatura, luz y humedad relativa de los envases utilizados en este proceso (Hazarica, 2006). Por lo tanto, las condiciones propias de las diferentes fases de la micropropagación crean situaciones de estrés que debilitan las plantas, llegando de esta manera a presentar un fenotipo incapaz de adaptarse al trasplante directo en invernadero o campo (Cañal *et al.*, 2001).

Durante la biología reproductiva de plantas, se distinguen dos ciclos: 1) el sexual y 2) el asexual. El ciclo asexual se inicia mediante una parte vegetativa o explante, el cual puede ser una yema, estaca, bulbo, rizoma, tubérculos, meristemos unipolares y bipolares como los embriones somáticos, y fusión de protoplastos; de este modo el ciclo asexual es posible gracias a la mitosis celular, ya que los cromosomas y genes son replicados en las células hijas que son parte idénticas de la célula madre (Azcón y Talón, 2008; Taíz y Zeiger, 2010). Por lo tanto la mitosis celular es una actividad básica en la propagación asexual de plantas, haciendo posible el empleo de muchas técnicas de propagación (Hartmann y Kester, 1998). Los principales procesos morfogénicos que se dan en la multiplicación asexual de plantas

son la organogénesis y la embriogénesis somática, ambos procesos ocurren tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*, aunque esta última sucede de manera espontánea (Tisserat *et al.*, 1979; Radice, 2010). El inicio de una planta de banano, se aprecia en el meristemo apical de un brote unipolar formado directamente desde el explante madre, o a partir de callos previamente formados. Se ha observado en investigaciones morfo-anatómicas, que en banano Williams el ápice del vástago (meristemo apical) presenta una forma de domo con la estructura organizada túnica-corpúsculo con una sola capa de túnica uniseriada (Ramírez *et al.*, 2008).

La conformación de la túnica en Williams difiere de otros bananos, tales como el Dwarf Cavendish y el Red banana, donde la túnica está conformada de dos y tres capas celulares, respectivamente (Fahn *et al.*, 1963; Biju *et al.*, 1997). En este mismo contexto se ha determinado que las dimensiones del ápice del vástago en banano Williams varían tanto en diámetro como en longitud, de acuerdo a las concentraciones de biorreguladores como la Benciladenina (Ramírez *et al.*, 2011), coincidiendo estos resultados con los obtenidos por López (2010).

Por otra parte, en los clones Gran Enano y FHIA-23 se ha determinado que los brotes adventicios se originan en la base del cormo, es decir por debajo de la inserción de las primeras hojas, mientras que yemas axilares se originaron de puntos meristemáticos pre-existentes ubicados arriba de la zona del cormo en la inserción de las hojas, es decir, que las yemas axilares se originaron en las axilas de las hojas y los brotes adventicios en la base del explante o cormo, a partir del procambium (López, 2010). Finalmente cabe indicar que las características morfo-anatómicas y la capacidad morfogénica regenerativa (organogénica y embriogénica) depende del genotipo y el tipo de tejido utilizado en la propagación (Urdaneta *et al.*, 2006; Albarrán *et al.*, 2009; López, 2010).

2.9.1. Morfogénesis

La morfogénesis o desarrollo vegetativo *in vivo* o *in vitro* se define como un proceso morfo-fisiológico en el cual ocurre la génesis o formación de órganos y comprende las fases del crecimiento (cambios cuantitativos) y la diferenciación celular (cambios cualitativos), lo cual hace posible la transformación de un cigoto o explante vegetativo a una planta completa (Segura, 2008). El crecimiento es un proceso irreversible y se produce esencialmente por la

división de células y la expansión celular (aumento en tamaño), en cambio la diferenciación celular conduce a la especialización de las células, ya que por sí mismo el crecimiento no da origen a un cuerpo organizado, por lo tanto para que el cuerpo de una planta se desarrolle, es de vital importancia que las células se especialicen y así lleguen a ser estructural y funcionalmente diferentes (Azcón y Talón, 2008; Taíz y Zeiger, 2010). Finalmente la organogénesis y la embriogénesis somática son las dos principales vías morfogénicas por la que se produce la regeneración de plantas superiores (Litz, 1993).

2.9.2. Organogénesis

La organogénesis es uno de los eventos morfogénicos mediante el cual se producen órganos tales como raíces y tallos, en momentos separados (crecimiento unipolar), donde se producen y desarrollan meristemos apicales que darán origen a una planta (Radice, 2010). El potencial organogénico de los vegetales, está dado por la totipotencialidad de las células, que no es otra cosa que la capacidad morfogénica de estas para regenerar un cuerpo completo (Rodríguez *et al*, 1996).

La organogénesis puede ocurrir por dos vías principales, conocidas como directa e indirecta; la primera se refiere a la obtención de brotes y raíces directamente del explante original, lo cual no involucra la formación de callo o dediferenciación celular, por lo tanto esta ruta organogénica ofrece la seguridad de que las plantas obtenidas sean clones idénticos a las plantas madre. La segunda ruta organogénica se la denomina indirecta debido a que se induce la formación de tejido calloso alrededor del explante inicial, a partir de los cuales se forman brotes y raíces (Woodward, 1997; Zhang y Lemaux, 2004). La propagación comercial de plantas clonales no es aconsejable mediante la organogénesis indirecta, debido a que existen grandes posibilidades de que se produzca variación genética o también denominada variación somaclonal (Rodríguez *et al*, 1996).

Durante el proceso organogénico, se distinguen tres fases bien diferenciadas, en la primera las células adquieren competencia, es decir que estas adquieren la capacidad de receptor y responder a una señal específica del desarrollo (Ezhova, 2003). La segunda fase se denomina determinación la cual involucra cambios fenotípicos estables que persisten en la ausencia del estímulo que lo indujo, en otras palabras es la formación específica de órganos influenciada por hormonas vegetales (Ezhova, 2003). Finalmente, en la tercera fase el

desarrollo o morfogénesis prosigue independientemente del suministro de fitohormonas (Sugiyama, 2000).

2.9.3. Embriogénesis somática

La embriogénesis somática es un proceso morfogenético por el cual se generan embriones a partir de células somáticas haploides o diploides con capacidad de regenerar el cuerpo completo de una planta. Los embriones somáticos se caracterizan por tener crecimiento bipolar, con un eje radical-apical que carecen de conexión vascular con el explante madre, siguen las mismas etapas de desarrollo que los embriones cigóticos pero no son el resultado de la fecundación de gametos (Litz, 1993; Gómez, 1998).

La embriogénesis somática se induce mayoritariamente en condiciones *in vitro*, aunque ocurre de manera natural *in vivo* en muchas especies vegetales (Tisserat *et al*, 1979). Al igual que la organogénesis, la embriogénesis somática se puede producir por dos rutas, la directa en la cual los embriones aparecen directamente sobre el explante madre, mientras que en la indirecta es indispensable la formación de tejido calloso o etapa de dediferenciación, a partir de la cual se diferenciarán las células en embriones somáticos (Tisserat, 1991; Strosse *et al*, 2003).

En monocotiledóneas el proceso de desarrollo de los embriones sean estos cigóticos o somáticos, siguen el mismo patrón secuencial, es decir que comprenden los estados globulares, escutelares y la fase del coleoptilo (Gray, 2000). En musáceas los embriones somáticos pueden ser obtenidos a partir de diferentes órganos o explantes; pudiéndose utilizar desde embriones cigóticos, hojas, cormo, escapos, flores masculinas y femeninas. Finalmente cabe indicar que la embriogénesis somática en musáceas tiene sus limitaciones, pues con frecuencia se obtienen plantas fuera de tipo y además se ha observado para los genotipos AAB reversión en algunos cultivares, tal es el caso poco frecuente de la variedad de plátano “curaré” revertida a dominico (Aguilar *et al*, 2008).

2.9.4. Callogénesis

La callogénesis es un proceso mediante el cual un tejido diferenciado o explante (raíz, tallo, hoja, flor, cormo, etc.) desarrolla tejido calloso mediante la dediferenciación celular

inducida por fitorreguladores en condiciones *in vitro* o por el estímulo de heridas en condiciones *in vivo*, que se presenta como un mecanismo de cicatrización (González *et al*, 2002). El proceso de la dediferenciación celular, ocurre previo a la formación del callo, y consiste en la pérdida de especialización de un conjunto de células para dar origen a tejidos de tipo meristemático (Rivero, 2011). Cuando las células del callo comienzan a diferenciarse, se posibilita la formación posterior de órganos a través de la organogénesis indirecta o de embriones somáticos mediante la embriogénesis somática indirecta, por lo cual los callos proporcionan gran cantidad de células totipotentes con alta capacidad de regenerar plantas completas (González *et al*, 2008; Evans *et al*, 2003).

La ventaja más relevante del tejido calloso es su capacidad morfogénica de formar órganos de crecimiento bipolar (embriones somáticos) y meristemas de origen unipolar (raíces y brotes). Sin embargo, la principal desventaja es la inestabilidad genética que conlleva a la expresión de variantes somaclonales; dicho problema podría deberse a la ocurrencia de eventos genéticos o epigenéticos (Dodds, 1985). La variación genética de los callos ocurre en la dediferenciación de las células, ya que durante la etapa de inducción se alteran procesos celulares que producen inestabilidad o aberraciones cromosómicas, mutaciones puntuales, diferentes niveles de ploidía e irregularidades cariocinéticas (Cardone *et al*, 2010).

La friabilidad es la propiedad más importante que debe alcanzar un callo, y se define como la tendencia de las células callosas a separarse entre sí, callo friable es aquel que se disgrega con facilidad, por lo cual se considera como el ideal para formar una suspensión celular embriogénica, que por lo general está formada por masas proembriogénicas de color blanco-translúcido (Aguilar *et al*, 2008; Urdaneta *et al*, 2006). Finalmente en banano y plátano se ha observado que los callos friables se producen en condiciones *in vitro* a partir de los seis meses de cultivos de flores masculinas inmaduras procedentes de ambas musáceas, cuyas células ubicadas en la periferia del callo se desprenden con facilidad y dan origen a células embriogénicas (Urdaneta *et al*, 2006; Biberach, 1995).

2.9.5. Rizogénesis

La rizogénesis se define como el desarrollo de raíces adventicias a partir de cualquier parte vegetativa de una planta (esqueje, estaca, bulbo, cormo, etc.), e implica la transformación de

los tejidos internos y los de la base de tallos y esquejes, que provocan la formación de los primordios radicales. El proceso rizogénico se inicia en la zona basal o pre-basal de los explantes o esquejes, siendo el origen de las raíces netamente endógeno, que una vez diferenciadas atraviesan la corteza y salen al exterior, mientras que simultáneamente en el interior se conectan al tejido conductor del explante o esqueje madre (Baldini, 1992; Martínez, 2009).

La rizogénesis está influenciada por algunos factores genéticos, fisiológicos, físicos y químicos (De Klerk *et al*, 1999). Los de tipo fisiológico y químico se ven favorecidos principalmente por el contenido de auxinas, que a niveles adecuados aceleran la inducción de meristemas radicales y aumentan la cantidad y calidad de raíces formadas, aunque el desarrollo de estas está determinado genéticamente por la especie vegetal y a la variedad cultivada (Martínez, 2009; Navarro y Perea, 1996).

Entre los factores físicos que influyen la rizogénesis son principalmente luz y temperatura. La calidad de la luz es uno de los factores importantes en la rizogénesis ya que sus variaciones van a influir en la homeostasis hormonal. En este sentido, la luz roja parece inducir mayor cantidad de raíces secundarias, mientras que la luz azul inhibe todo efecto de las auxinas en el proceso de rizogénesis (Zolla *et al*, 1997). Por otra parte, la etiolación ha sido reportada como un factor muy significativo sobre el proceso de rizogénesis, en este sentido Salisbury y Ross (2000) mencionan que la formación de raíces adventicias es abundante sobre tallos de algunas especies vegetales que crecen en condiciones de oscuridad., esto según William y Norton (1972) se debe a que la etiolación del tejido vegetal provoca una acumulación de auxinas.

Otro de los factores involucrados en los procesos rizogénicos, es la temperatura del sustrato (Crozon y Neyroud, 1990). En este sentido la rizogénesis se ve favorecida en aquellos sustratos con capacidad de mantener temperaturas elevadas, que contribuyen al aumento del metabolismo para la producción de enzimas propias del material vegetal (Margara, 1988; Montoya, 1993). Además el estado nutricional del tejido vegetal y específicamente la relación carbono – nitrógeno (C/N), es un aspecto endógeno que estimula el enraizamiento, pues una relación C/N alta favorece el enraizamiento en muchas especies de plantas (Hartmann y Kester, 1998).

2.10. Calidad de plántula

Existen varios conceptos de calidad por parte de varios autores. En este sentido Cetina *et al* (1999) mencionan que la calidad de planta está relacionada con aspectos morfo-fisiológicos que le permiten adaptarse y sobrevivir a las condiciones abióticas del sitio definitivo. Por su parte Rodríguez (2008) indica que una planta de calidad es aquella que posee características morfo-fisiológicas que le permiten aclimatarse y desarrollarse vigorosamente en el campo de plantación definitivo. Estos conceptos de calidad han llevado a los productores y viveristas a la búsqueda de la planta ideal o la calidad ideal (Birchler *et al*, 1998). En este aspecto Toral (1997) describe como una planta ideal aquella capaz de sobrevivir en el campo con altas tasas de crecimiento inicial. Sin embargo, la calidad ideal de una planta es el resultado de su componente genético (genotipo) y del ambiente de propagación (Landis *et al*, 1995; 1998).

2.10.1. Tipos de calidad de plántula

La calidad de una planta es el resultado de cuatro componentes básicos como son: Calidad genética, morfológica, fisiológica y sanitaria (Villar, 2003; Serrada *et al*, 2005). La calidad genética hace referencia a la procedencia del material de siembra, dado que el mismo debe proceder de parentales superiores con características fenotípicas deseables, las cuales deben ser heredadas y correspondientes a su genotipo (Quiroz *et al*, 2001). La calidad morfológica y fisiológica de una planta es dependiente de sus atributos genéticos y se refiere a los estados que pueden adoptar un conjunto de caracteres funcionales más o menos plásticos relacionados con la economía hídrica, estado nutricional y la capacidad de formar estructuras que caracterizan su morfología, además de tolerar factores abióticos que le permitirán adaptarse de mejor manera en el campo (Villar, 2003; Meza *et al*, 2009; Rodríguez, 2008). Por último la calidad sanitaria tiene que ver con la presencia de fitoparásitos que puedan reducir su futuro desarrollo, por lo cual hay que procurar que el material de siembra sea completamente sano (Villar, 2003; Serrada *et al*, 2005).

2.10.2. Indicadores, criterios o parámetros de calidad de plántulas

Para la determinación de la calidad de una planta próxima a ser trasplantada al campo definitivo, se utilizan parámetros fenotípicos denominados morfológicos y parámetros

internos de planta que se denominan fisiológicos (Gomes *et al*, 2002). Estos parámetros morfo-fisiológicos son de tipo cuantitativos tales como Altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, área foliar, biomasa aérea, biomasa radical (Quiróz *et al*, 2001; Rodríguez, 2008). Los parámetros cualitativos se basan en el aspecto y desarrollo de planta que se pueden caracterizar a simple vista tales como el vigor, coloración de tallos y hojas, deformaciones radicales, tallos múltiples, presencia o ausencia de raíces, etc. (Domínguez *et al*, 2001; Villar, 2003). En la determinación de la calidad fisiológica también se usan variables como el estado hídrico, nutricional, contenido de carbohidratos, liberación de electrolitos, intercambio gaseoso, conductancia estomática, contenido de clorofila, tasa fotosintética, etc. (Toral, 1997; Bichler *et al*, 1998; Domínguez *et al*, 2001).

Debido al gran número de variables morfológicas y fisiológicas ya sean cuantitativas o cualitativas, se hace difícil seleccionar una variable específica e interpretar la calidad de una planta (Bichler *et al*, 1998), razón por la cual a partir de la caracterización morfo-fisiológica se han generado índices que estiman la calidad de una planta, mediante valores numéricos fácil de obtener tales como el índice de vigor o esbeltez, índice de calidad de Dickson, relación parte aérea/radical, área foliar específica, etc., los cuales han dado la pauta para el establecimiento de estándares de calidad en vivero (Quiróz *et al*, 2001). En este sentido según Cetina *et al* (1999) un índice de calidad es la combinación de dos o más parámetros morfo-fisiológicos que describe atributos abstractos de las plantas como son el balance y el vigor, y determina el valor más aproximado en la predicción del comportamiento y rendimiento de la planta en campo, en comparación con lo que determine cualquier parámetro individual.

2.10.3. Índices de calidad más utilizados

Entre los índices más utilizados para evaluar la calidad de una planta en vivero son: Índice de vigor o esbeltez, índice de calidad de Dickson y relación parte aérea/radical (González, 1993).

2.10.3.1. Índice de vigor o esbeltez

Es definido como la relación entre la altura de la planta (cm) y el diámetro del tallo (mm) y se obtiene al dividir la altura sobre el diámetro (Toral, 1997). A menor índice la planta es

más vigorosa y por lo tanto de mayor calidad, por lo contrario valores altos indican que la planta es más esbelta y menos fuerte al producirse desproporción entre la altura y el diámetro. En este sentido Thompson (1985) menciona que lo ideal es que este índice sea menor a 6, dado que por encima de este valor la planta puede sufrir daño por vientos y sequía. Por lo tanto el índice de esbeltez estima el grado de resistencia mecánica de las plantas a factores abióticos adversos (Alarcón, 1999).

2.10.3.2. Índice de calidad de Dickson

Este parámetro fue propuesto por Dickson *et al* (1960), el cual permite evaluar la calidad de la planta a través de la integración de características morfológicas y fisiológicas, tales como el peso total de la planta, el índice de vigor o esbeltez y la relación entre parte aérea/radical, por lo tanto es una medida integral del vigor de la planta, donde valores altos de este índice representan una mejor calidad, indicando así una mayor potencialidad de adaptarse y desarrollarse en un ambiente particular (González, 1993; Barajas *et al*, 2004). La fórmula de Dickson se expresa matemáticamente de la manera siguiente:

$$\text{ICD} = \frac{\text{Peso seco biomasa total (g)}}{\frac{\text{Altura (cm)}}{\text{Diámetro (mm)}} + \frac{\text{Peso seco aéreo (g)}}{\text{Peso seco radical (g)}}}$$

2.10.3.3. Relación biomasa aérea/biomasa radical

Es el balance entre la parte transpirante y la parte absorbente, y se calcula habitualmente a partir de la relación de los pesos secos de cada una de las partes (Bichler *et al*, 1998). Una planta de calidad debe presentar un relación biomasa aérea/radical los más baja posible para asegurar su sobrevivencia en campo (Rodríguez, 2008). En este sentido, valores bajos de parte aérea/raíz indican una mayor capacidad para superar el momento crítico del arraigo, por lo que se verá favorecida la absorción de agua frente a las pérdidas, lo cual es una condición favorable para zonas secas. Esto debido a que una relación parte aérea/raíz baja indica que las raíces son abundantes con respecto al follaje y por lo tanto habrá mayor capacidad para evitar o soportar la deficiencia hídrica (Oliet, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del experimento

La investigación se desarrolló en la Granja Experimental “La Teodomira” perteneciente a la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí, desde noviembre del 2013 a abril del 2014. La granja se localiza en el km 12 ¹/₂ de la vía Portoviejo – Santa Ana, Provincia de Manabí, Ecuador, y ubicada geográficamente en las coordenadas 01°09' de latitud sur y 80°21' de longitud oeste a una altitud de 47 msnm.

3.2. ENSAYO 1: “Efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y Basfoliar sobre la tasa de multiplicación del banano cv. Williams en cámara térmica”.

3.2.1. Material vegetal

Para el experimento se utilizaron cormos de banano cv. Williams procedentes de hijos espada de entre 1 a 1,5 m de altura, a los cuales se les removi6 las raíces y la parte cortical hasta que quede completamente blanco (Figura 1). Esto con la finalidad de eliminar restos de nemátodos fitoparásitos (*Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus* y *Meloidogyne* sp), así como también huevos, larvas, pupas y adultos de picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y cochinillas (*Dysmicoccus texensis*). Con esta labor se garantiza que las plántulas obtenidas sean de alta calidad sanitaria.

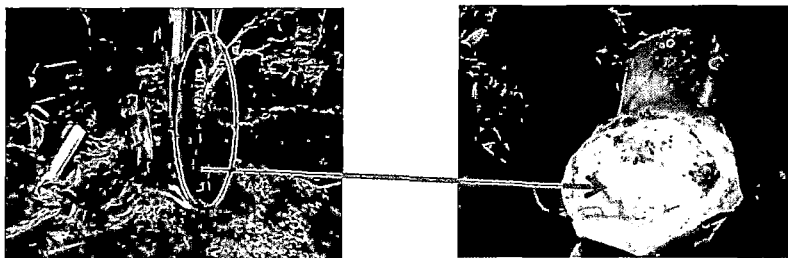


Figura 1: Hijuelo de 1 m de altura seleccionado y limpio listo para la siembra

Una vez limpios los cormos, se procedió a separar el pseudotallo dejando solo una porción de 5 cm en el cuello del cormo. Seguidamente, los cormos fueron sumergidos por un lapso de 20 minutos en una solución insecticida – nematicida compuesta por Vydate 24L (oxamyl) en dosis de 13 ml por cada 10 litros de agua. Luego, a los cormos se extrajo el meristemo apical con la ayuda de un cuchillo a una profundidad de 4 cm, con el objetivo principal de inhibir la dominancia apical y además con el interés de dejar una cavidad donde se aplicó las diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP), seguidamente se procedió a disectar transversalmente el pseudotallo en forma de asterisco, profundizando los cortes hasta el cuello del rizoma, con la finalidad de que el agua que gotea producto de la condensación del plástico en la cámara térmica, drene hacia el exterior, y así evitar que se acumule agua en la cavidad dejada en el centro del cormo (**Figura 2**).

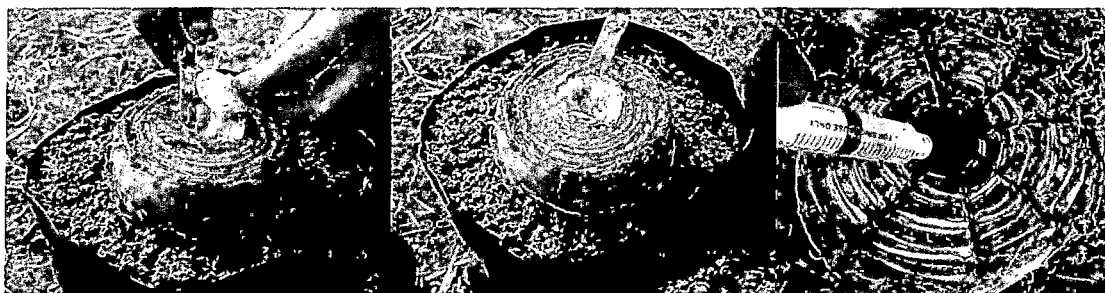


Figura 2: Extracción del meristemo apical y disección del cormo en forma de asterisco.

3.2.2. Cámara térmica

La cámara térmica consistió en una estructura armada de 9 x 18 x 2,5 m de ancho, largo y alto, respectivamente, utilizando materiales de la zona (caña guadua, madera, etc.), la cual fue cubierta con plástico térmico transparente de 0,6 mm de espesor con protección UV, con la finalidad de generar calor dentro de la misma y así estimular la brotación temprana e intensiva de hijuelos y posteriormente de callos y plantas adventicias. Dentro de la cámara térmica fueron colocadas las bolsas de polietileno de color negro de 15 x 18 pulgadas, donde fueron sembrados los cormos tratados e inducidos (**Figura 3**). El sustrato contenido en las bolsas de polietileno estuvo compuesto por suelo – arena – compost en una relación 4 – 3 – 3, con la finalidad de crear buenas condiciones de retención de agua, buen drenaje y adecuada fertilidad.

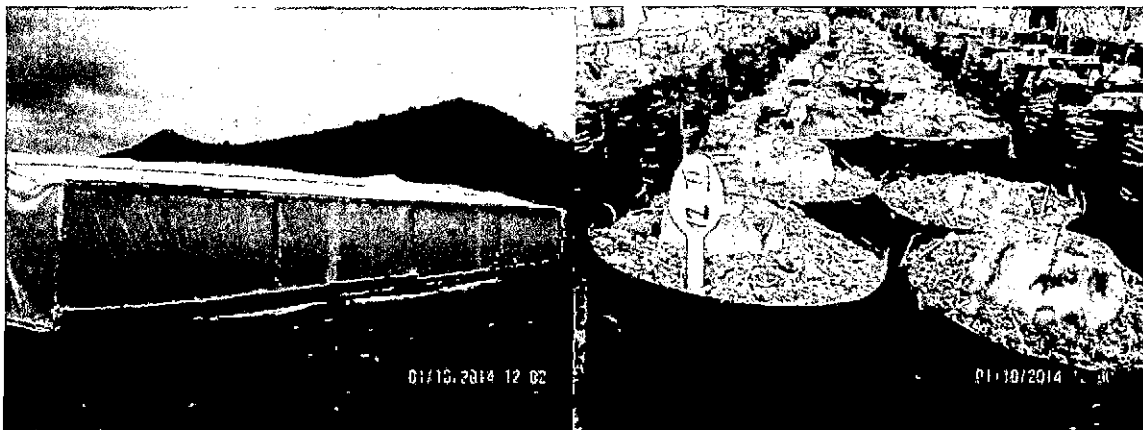


Figura 3: Cámara térmica y cormos tratados e inducidos

3.2.3. Factores y niveles estudiados

Factor A: Cuatro concentraciones de Bencilaminopurina (BAP)

- 0 mg L⁻¹
- 20 mg L⁻¹
- 40 mg L⁻¹
- 80 mg L⁻¹

Factor B: Cuatro concentraciones de Basfoliar (bioestimulante)

- 0 ml/planta
- 20 ml/planta
- 40 ml/planta
- 80 ml/planta

A continuación se consignan los tratamientos en el **Cuadro 1:**

Cuadro 1: Resumen de tratamientos evaluados en el ensayo 1.

Bencilaminopurina (mg L ⁻¹)	BASFOLIAR			
	0 ml/cormo ^a	20 ml/cormo	40 ml/cormo	80 ml/cormo
0	T1	T2	T3	T4
20	T5	T6	T7	T8
40	T9	T10	T11	T12
80	T13	T14	T15	T16

^a ml/cormo de producto comercial

- La fuente de citocinina utilizada fue la “6-benzylaminopurine plant cell culture tested” de la marca SIGMA, con una pureza superior al 99%.
- El bioestimulante utilizado fue el Basfoliar Algae, que es producido por la firma BASF (The Chemical Company), y que básicamente está compuesto por extractos de algas con minerales, fitohormonas, carbohidratos, aminoácidos y vitaminas. A continuación en el **Cuadro 2** se la composición del producto.

Cuadro 2. Composición química del bioestimulante Basfoliar Algae

Minerales	%	Carbohidratos	g/L	Vitaminas	g/L	Hormonas	g/L
Nitrógeno (N)	6	Glucosa	4	A, B1, B2, C	Trazas	Auxina	Trazas
Fósforo (P ₂ O ₅)	3	Manosa	3	A. Pantoténico	Trazas	Citocinina	Trazas
Potasio (K ₂ O)	5	Fructosa	6	Biotina	Trazas	Giberelina	Trazas
Magnesio (Mg)	0.3	Xilosa	0.45	A. Fólico	Trazas		
Otros	Trazas	Galactosa	0.38	A. Nicotínico	Trazas		
		Otros	Trazas	Carotenos	Trazas		
AMINOÁCIDOS g/L							
Glicina	1.31	Licina	0.57	Isoleucina	0.34	Prolina	0.69
A. Glutámico	0.93	Hidroxiprolina	0.54	Tirosina	0.30	Serina	0.35
Alanina	0.76	Valina	0.51	Treonina	0.29	Cisteína	0.06
Leucina	0.73	Fenilalanina	0.45	Metionina	0.23		
A. Aspártico	0.69	Arginina	0.38	Histidina	0.09		

3.2.4. Aplicación de los tratamientos

La Bencilaminopurina fue disuelta primeramente en una solución ácida conformada por 2 ml de agua destilada estéril y 2 ml de ácido acético. Una vez disuelto el compuesto, se procedió a agregar lentamente agua destilada estéril a 33°C hasta completar 1 litro de volumen, luego se ajustó el pH a 5,8 agregando gotas de ácido acético. Los tratamientos se aplicaron en la cavidad dejada en cada cormo madre a razón de 4 ml de las respectivas concentraciones de BAP. Luego, cuando la primera generación de brotes (R1) alcanzó una altura de 25 cm, se procedió a extirpar el meristemo apical con la finalidad de estimular la proliferación de yemas adventicias y callos (**Figura 4**).

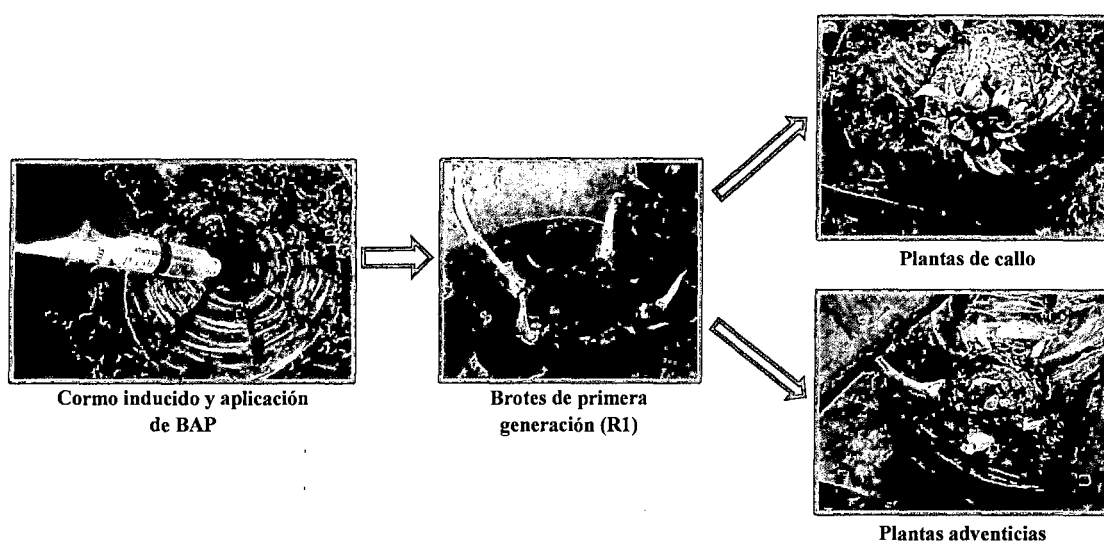


Figura 4: Aplicación de bencilaminopurina (BAP) para la inducción de callos y brotes adventicios

Las aplicaciones de bencilaminopurina (BAP) se realizaron en la mañana y fuera de la cámara térmica bajo sombra, donde se dejó los cormos tratados por 24 horas, con la finalidad de evitar que la solución hormonal se evapore o se descomponga por efecto de las altas temperaturas, que se generan en la cámara. Al día siguiente, cuando la solución hormonal aplicada en la cavidad de los cormos, penetró completamente al interior del mismo, se procedió a sembrar los cormos en las bolsas de polietileno dentro de la cámara térmica. El bioestimulante Basfoliar que es de naturaleza líquida se aplicó superficialmente en *drench* alrededor del cormo a los 15 días después de la siembra en cámara térmica, es decir cuando comenzaron a emitir las primeras raíces. La aplicaciones del Basfoliar se volvieron a repetir cada cuatro semanas junto con la fertilización, dado que los cormos independientemente del

nivel de BAP y Basfoliar evaluado, fueron fertilizados con el producto “YaraMilla™ Complex” en dosis de 10 g/cormo con el objeto de mantener el estado nutricional de los cormos. En total se realizaron cuatro aplicaciones del Basfoliar. El fertilizante YaraMilla™ Complex está compuesto de 12% de N, 19% de P₂O₅, 18% de K₂O, 2.7% de óxido de Mg, 20% de trióxido de S, 0.02% de Mn, 0.015% de B, 0.2% de Fe y 0.02% de Zn.

La primera cosecha de plántulas fue realizada a los 50 días después de la siembra, y de ahí en adelante se realizaron cosechas consecutivas cada cuatro semanas, realizándose un total cuatro cosechas (**Figura 5**).



Figura 5: Plantas cosechadas provenientes de callos y adventicias

3.2.5. Variables registradas

- **Días a la brotación:** se registró en días desde el momento de la siembra hasta cuando los cormos evaluados en cada parcela experimental emitieron al menos un brote bien diferenciado.
- **Número de brotes primarios (R1):** se determinó contabilizando el número total de brotes primarios producidos por cada cormo.

- **Número de brotes primarios que formaron callo:** se determinó contabilizando el número de brotes primarios que lograron formar tejido calloso.
- **Número de plántulas provenientes de callo:** se determinó al final del experimento, contabilizando la cantidad de plántulas totales procedentes de tejido calloso en cada cormo evaluado.
- **Número de plántulas adventicias:** se determinó al final del experimento, contabilizando la cantidad de plántulas totales adventicias producidas en cada cormo evaluado.
- **Tasa de multiplicación:** se obtuvo mediante la fórmula siguiente:

$$TM = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plántulas totales (adventicias + procedentes de callo)}}{\text{N}^\circ \text{ de cormos iniciales (unidad experimental)}}$$

3.2.6. Diseño experimental y análisis de datos

El diseño experimental utilizado fue un Bloques Completos al Azar (DBCA) con tratamientos factoriales A (BAP) x B (Basfoliar), con cuatro repeticiones/tratamiento, y cada unidad experimental estuvo conformada por cuatro cormos. En la **Figura 6** se muestra el croquis de campo con la respectiva distribución de los tratamientos y repeticiones. El análisis de datos se realizó con la ayuda del Statistical Analysis System (**SAS 9.1**) (SAS Institute, 2004), y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j + B_k + (AB)_{jk} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = es la observación perteneciente al k ésimo nivel del factor B, al j ésimo nivel del factor A, en la réplica i .

μ = es la media general.

R_i = es el efecto del i ésimo bloque o réplica.

A_j = es el efecto debido al j ésimo nivel del factor A.

B_k = es el efecto debido al k ésimo nivel del factor B.

$(AB)_{jk}$ = efecto de la interacción entre el j ésimo nivel del factor A y el k ésimo del factor B.

e_{ijk} = es el efecto del error experimental

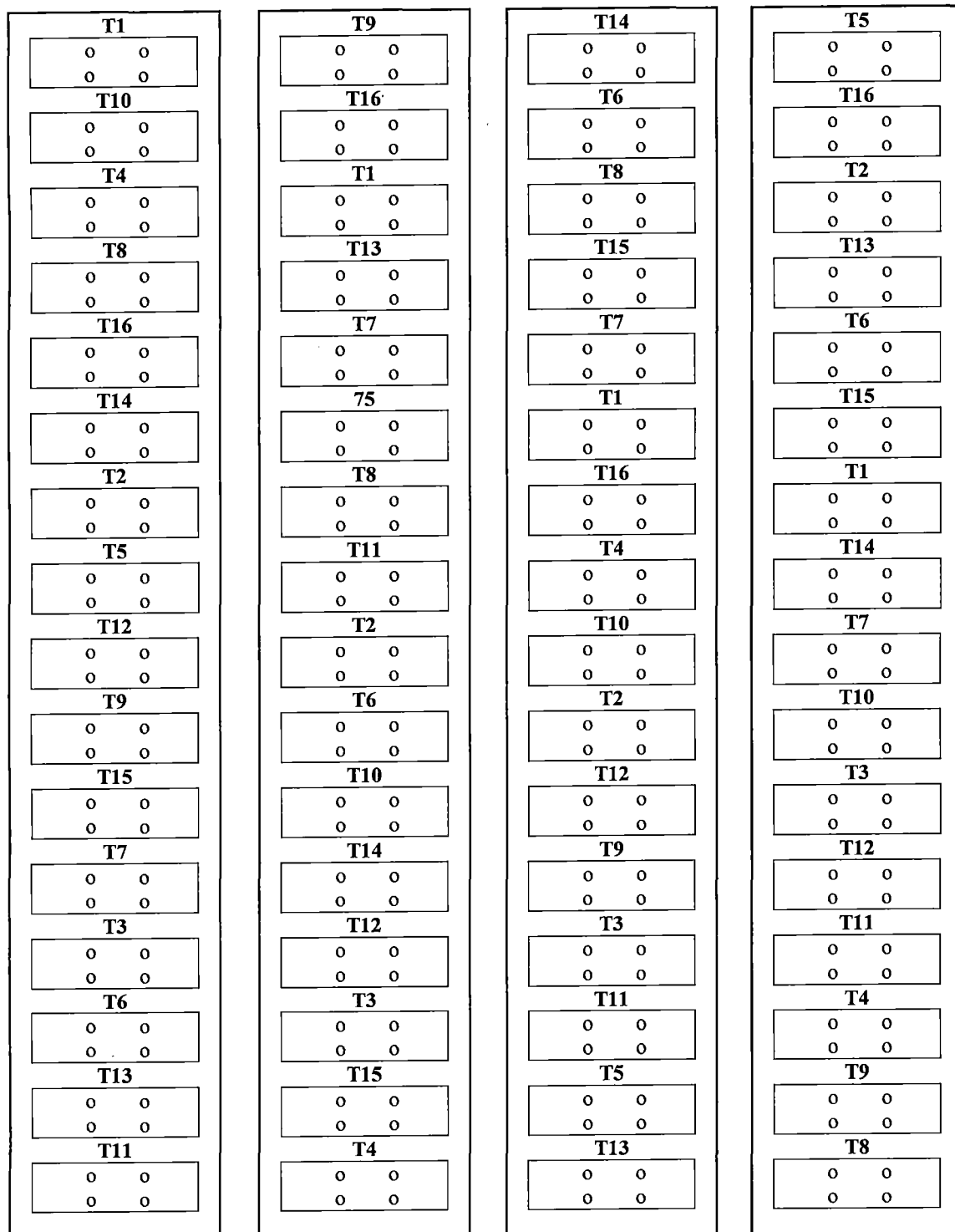


Figura 6: Croquis del ensayo experimental con sus respectivos tratamientos y repeticiones

3.3. ENSAYO 2: “Potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos y dos tipos de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica”.

3.3.1. Material vegetal

En ambos tipos de plántulas (adventicias y de callo), “FACTOR A”, se seleccionaron tres estados fenológicos “FACTOR B”, que se describen a continuación y se muestran en la **figura 7**.

3.3.2. Estados fenológicos

Estado Fenológico 1 (EF1): Plántulas con hoja bandera rudimentaria

Estado Fenológico 2 (EF2): Plántulas con hoja bandera y una hoja normal formada

Estado Fenológico 3 (EF3): Plántulas con hoja bandera y más de una hoja normal formada.

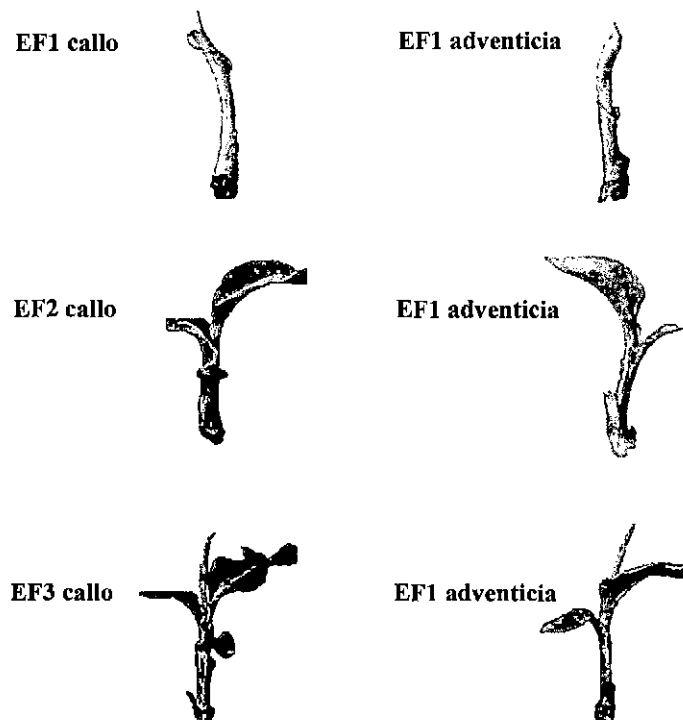


Figura 7: Estados fenológicos evaluados en ambos tipo de planta

3.3.3. Ambiente de enraizamiento

Para el enraizamiento, las plantas fueron colocadas en envases plásticos (Figura 8), los cuales contenían agua con la finalidad de estimular el enraizamiento (Figura 9). Además, se cambió el agua cada cinco días. El porcentaje de enraizamiento fue evaluado a los 5, 10 y 15 días, en cada estado fenológico. Una vez cumplido los 15 días de enraizado en agua, las plantas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 6 x 9" (Figura 10), donde se las dejó crecer por 60 días, para luego proceder a evaluar sus características morfológicas y calidad, en cada estado fenológico y tipo de planta estudiada. Las plántulas que hasta los 15 días no emitieron raíces fueron consideradas como muertas.



Figura 8: Plántulas colocadas en agua para su enraizamiento.

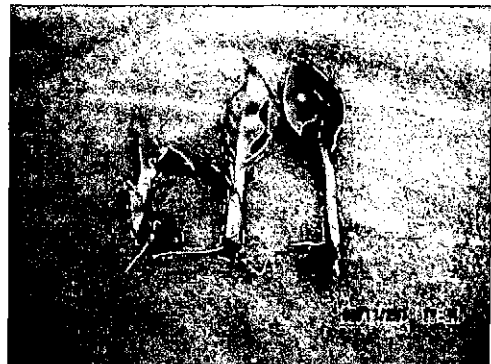


Figura 9: Plántulas enraizadas en agua



Figura 10: Plántulas en diferentes estados de desarrollo luego del enraizado

3.3.4. Variables registradas

- **Porcentaje de enraizamiento (%):** se determinó a los 5, 10 y 15 días, mediante la siguiente fórmula:

$$PE = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plántulas enraizadas}}{\text{N}^\circ \text{ de plántulas totales}} \times 100$$

Para el efecto, se contabilizaron el total de plantas/tratamiento, para luego contabilizar el número de plantas enraizadas a los 5-10-15 días de establecido el experimento. Las plantas que no emitieron raíces hasta los 15 días se las consideró como plantas muertas. Para el ensayo de enraizamiento se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tratamientos factoriales A (tipo de planta) x B (estado fenológico) con 6 repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental estuvo conformada por 10 plántulas. El análisis de datos se efectuó con la ayuda del Statistical Analysis System (*SAS 9.1*) (SAS Institute, 2004), y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

3.3.5. Evaluación de atributos morfo-métricos y calidad a los 60 días de aclimatación

Se utilizaran los principales índices morfo-métricos y calidad propuestos por Birchler *et al* (1998), para definir la calidad de plantas en condiciones de aclimatación.

- **Altura de planta:** se determinó en cm a los 60 días después del trasplante, midiendo desde el nivel del suelo hasta la V formada por las dos últimas hojas.
- **Diámetro del pseudotallo:** se determinó en mm a nivel del suelo a los 60 días después del trasplante.
- **Número de raíces:** se determinó a los 60 días después del trasplante, para lo cual se contabilizó el número de raíces que se formaron directamente del cormo.
- **Longitud de raíces:** se determinó en cm a los 60 días después del trasplante. Se midió desde la zona conectada al cormo hasta el ápice de la masa radical.
- **Índice de vigor o esbeltez:** es la relación entre la altura de la planta (en cm) y su diámetro (en mm).
- **Peso seco biomasa aérea:** se determinó en g con la ayuda de una balanza gramera marca AND a los 60 días después del trasplante. Para ello todo el tejido aéreo de las

plantas (hojas, pseudotallo y cormo), fue colocado en una estufa marca MERMAID a 105°C por 72 horas hasta alcanzar peso constante.

- **Peso seco biomasa radical:** se determinó en g con la ayuda de una balanza gramera marca AND a los 60 días después del trasplante. Para ello todo el tejido radical, fue colocado en una estufa marca MERMAID a 105°C por 72 horas hasta alcanzar peso constante.
- **Índice de calidad de Dickson:** este índice integra a los anteriores y se calcula mediante la relación entre el peso seco total de la planta (g) y la suma de esbeltez y la relación biomasa aérea/radical. A mayor índice de Dickson mejor será la calidad de la planta. A continuación se describe la fórmula:

$$\text{ICD} = \frac{\text{Peso seco biomasa total (g)}}{\frac{\text{Altura (cm)}}{\text{Diámetro (mm)}} + \frac{\text{Peso seco aéreo (g)}}{\text{Peso seco radical (g)}}}$$

- **Área foliar:** Se determinó en cm² debido a que son plantas en fase de vivero, lo cual se registró a los 60 días después del trasplante, y se calculó con la fórmula propuesta por Kumar *et al.* (2002).

$$\text{AFT} = L \times A \times K \times N \times K_2$$

Dónde:

$$\text{AFT} = \text{Área foliar total en cm}^2$$

L = Largo de la tercera hoja

A = Ancho de la tercera hoja

K (0,80) = Factor de curvatura de Murray (1960).

N = Número total de hojas al momento de la evaluación

K₂ (0,662) = Nuevo factor de curvatura de Kumar *et al.* (2002).

3.3.6. Diseño experimental y análisis de datos

Para la evaluación de atributos morfo-métricos y de calidad, se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con tratamientos factoriales A (tipo de planta) x B (estados fenológicos), donde cada tratamiento estuvo conformado por 10 plántulas. El análisis de datos se efectuó con la ayuda del Statistical Analysis System (*SAS 9.1*) (SAS Institute,

2004), y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El modelo estadístico que se utilizó fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = es el k ésimo elemento perteneciente al j ésimo nivel del factor B y al i ésimo tratamiento del nivel del factor A.

μ = es la media general.

A_i = es el efecto debido al i ésimo nivel del factor A.

B_j = es el efecto debido al j ésimo nivel del factor B.

$(AB)_{ij}$ = efecto de la interacción entre el j ésimo nivel del factor B y el i ésimo del factor A.

e_{ijk} = es el efecto del error experimental.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ENSAYO 1: “Efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP) y Basfoliar sobre la tasa de multiplicación del banano cv. Williams en cámara térmica”.

En el Cuadro 3, se observa que el análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas para el factor bencilaminopurina (BAP) en todas las variables evaluadas, mientras que para el factor Basfoliar (bioestimulante) y la interacción BAP x Basfoliar no hubo diferencias estadísticas para ninguna de las variables. Esto indica que el efecto de los niveles de bencilaminopurina son independientes de los niveles del bioestimulante Basfoliar. En los anexos 1 – 6 se muestran los ANOVA de las variables estudiadas.

Cuadro 3: Significancia estadística de la fuente de variación (FV) y coeficiente de variación (CV) de las variables evaluadas, bajo el efecto de cuatro niveles de bencilaminopurina y el bioestimulante Basfoliar. Portoviejo, Ecuador 2014.

F.V.	Variables evaluadas					
	Días a Brotación	Nº Brotes RI ^{1/}	Nº Brotes RI con callo	Nº Plantas de callo ^{2/}	Nº Plantas adventicias ^{3/}	Tasa de multiplicación
BAP	0.001**	0.001**	0.001**	0.001**	0.001**	0.001**
Basfoliar	0.634 ^{ns}	0.212 ^{ns}	0.519 ^{ns}	0.919 ^{ns}	0.914 ^{ns}	0.916 ^{ns}
BAP x Basfoliar	0.930 ^{ns}	0.191 ^{ns}	0.713 ^{ns}	0.799 ^{ns}	0.173 ^{ns}	0.378 ^{ns}
C.V. %	3.97	6.13	7.95	6.78	10.15	5.88

FV = Fuentes de variación; BAP = Bencilaminopurina; Basfoliar (Bioestimulante); BAP*Basfoliar = Interacción entre factores
^{ns} No significativo; ** Altamente significativo $\alpha = 0.01$.

^{1/} Brotes de primera generación

^{2/} Plantas formadas a partir del tejido calloso del brote RI inducido (Figura 11)

^{3/} Plantas formadas directamente del cuerpo del brote RI inducido (Figura 12)

Los coeficientes de variación obtenidos en el análisis de las variables se consideran normales al tipo de estudio realizado, dado que se asemejan a los obtenidos por Pereira *et al* (2001); Da Silva *et al* (2006); Basail *et al* (2012); Florio y Mogollón (2011), quienes realizaron trabajos relacionados al presente estudio.



Figura 11: Plantas formadas a partir de tejido calloso.



Figura 12: Plantas adventicias formadas directamente del brote R1.

El nulo efecto del bioestimulante Basfoliar sobre las variables evaluadas, pudo deberse a la alta temperatura que generó la cámara térmica, que durante el día se mantuvo por encima de los 40°C (**Figura 13**), aunque esto dependió del nivel de irradiación solar recibida. Además, el Basfoliar fue aplicado en *drench* alrededor del cormo, y como este bioestimulante está compuesto básicamente de nutrientes orgánico y mineral, las altas temperaturas pudieron haber afectado la absorción de los nutrientes por las raíces, puesto que según Taiz y Zeiger (2010) temperaturas por encima de 45°C pueden ser perjudiciales para la mayoría de especies, además de afectar la estabilidad de las membranas debido a la excesiva fluidez de las mismas, que finalmente reduce su pérdida de funcionalidad. Esto coincide a lo expresado por Mathers (2003) quien menciona que temperaturas por encima de 30°C pueden inhibir la funcionalidad de las raíces y temperaturas por encima de 39°C pueden dañar las raíces. Así mismo McMichael y Burke (2002) mencionan que las altas temperaturas del suelo afectan la actividad enzimática, la división celular y la elongación de las raíces, lo cual puede comprometer sus funciones vitales.

En el caso de banano, factores ambientales como la temperatura influyen sobre la tasa de absorción de nutrientes por las raíces, incluso se ha determinado bajo condiciones controladas que la temperatura óptima para la absorción de nutrientes varía con cada elemento (Turner and Lahav, 1985; Turner, 2003; Turner *et al*, 2007). Según Bassirrad (2000), la fisiología de las raíces puede verse seriamente afectada por altas temperaturas del suelo, dado que se afecta la cinética de la absorción de agua y nutrientes, esto por el incremento de la suberización y la deposición de materiales de la pared celular secundaria detrás de la zona de elongación, lo cual disminuye el diámetro del vaso del xilema

umentando así la resistencia a la absorción (Boyer, 1985; Oosterhuis, 1983). En este mismo sentido Huang *et al* (2012), mencionan que las altas temperaturas causan daño tanto a brotes vegetativos como a las raíces, siendo estas últimas más sensibles al estrés térmico, lo cual puede explicar el nulo efecto del Basfoliar sobre las variables estudiadas.

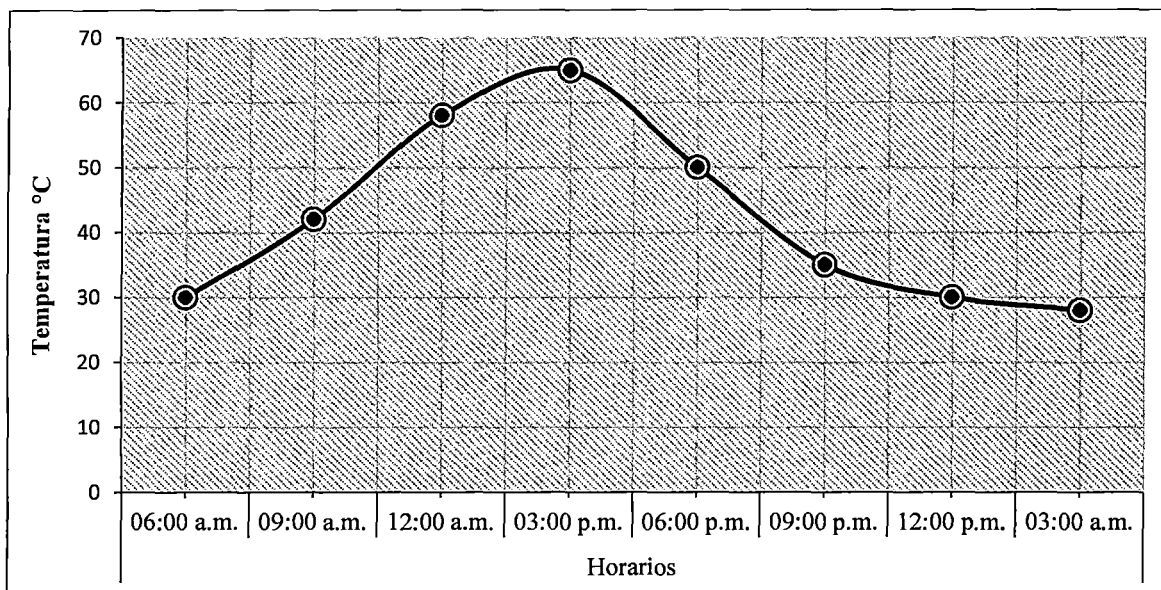


Figura 13: Temperatura promedio alcanzada en el interior de la cámara térmica en diferentes horarios del día. Los promedios obtenidos son el resultado de cuatro muestreos consecutivos. Portoviejo, Ecuador 2014.

Actualmente, con el aumento de la temperatura global, muchos han sido los estudios realizados para estudiar el potencial impacto de altas temperaturas sobre la absorción nutrientes en varios cultivos (Waraich *et al*, 2012). En este sentido, Falah *et al* (2010) determinaron mediante experimentos en plantas de tomates establecidas en solución nutritiva, que altas temperaturas en la zona radicular afecto significativamente la absorción de agua y nutrientes como nitrato, fosfato, potasio y calcio, tanto a corto como a largo plazo, lo cual se relacionó al aumento de la oxidación enzimática de compuestos fenólicos de la epidermis y corteza de la raíz, los mismos que la necrosan afectando su funcionalidad.

Bajo este mismo contexto, Giri (2013) utilizó tomate como planta modelo para evaluar el efecto de temperaturas normales 25:20, moderadas 35:30 e intensas 42:37°C de día y noche respectivamente, sobre el crecimiento de raíces y la tasa de absorción de nutrientes, donde menciona que las raíces se vieron severamente afectadas tanto por temperaturas moderadas

e intensas. Giri (2013) concluye que altas temperaturas redujeron la biomasa radical, la cantidad de proteínas que integran las membranas, la concentración y absorción de nutrientes, lo cual ocurre como consecuencia de la disminución del metabolismo y la actividad de proteínas relacionadas a la absorción de minerales. Así mismo Hao *et al* (2012); Huang *et al* (2012) y Wahid *et al* (2007), exponen que el estrés por altas temperaturas al afectar el crecimiento de las raíces, restringe la absorción de agua y nutrientes minerales lo cual afecta la biosíntesis de hormonas que se producen en las raíces y se transportan a la parte aérea de la planta, causando así un desbalance entre brotes y raíces.

Otro de los aspectos que pudieron haber influenciado la temperatura del suelo y afectar así la fisiología de las raíces, y por ende la absorción del bioestimulante evaluado, es el hecho que los cormos fueron establecidos en bolsas plásticas de polietileno negro, los cuales según Mathers *et al* (2007) absorben más calor al absorber la totalidad de la radiación recibida, ya que tienen poca capacidad de reflejar la luz. Esto coincide con lo expuesto por Markham *et al* (2011) quienes mencionan que los contenedores de colores oscuros elevan la temperatura del sustrato pudiendo afectar el crecimiento, morfología y funcionalidad de las raíces.

En el **Cuadro 4**, se muestra el efecto de los niveles de bencilaminopurina (BAP) sobre las variables días a brotación, número de brotes R1 y número de brotes R1 que formaron callo. Se puede apreciar que los niveles de 40 y 80 mg L⁻¹ de BAP son estadísticamente iguales entre sí pero difieren a los niveles 0 y 20 mg L⁻¹ de BAP, respectivamente, donde se evidencia una menor precocidad para la emergencia de brotes con 19.17 y 19.43 días con 40 y 80 mg L⁻¹ de BAP, respectivamente, en comparación a los niveles de 0 y 20 mg L⁻¹ de BAP con 21.68 y 21.35 días, lo cual corresponde a una diferencia de 2 días. En cuanto al número de brotes de primera generación (R1) y el total de estos que lograron producir callos, se observa una similar tendencia, donde los niveles de 40 y 80 mg L⁻¹ de BAP produjeron la mayor cantidad de brotes R1 y callos formados a partir de estos.

Cuadro 4: Comparación de medias para las variables días a brotación, número de brotes R1 y número de brotes R1 encallados, bajo el efecto de cuatro dosis de bencilaminopurina (BAP). Portoviejo, Ecuador 2014.

Concentraciones de BAP (mg L ⁻¹)	Variables respuesta		
	Días a brotación	Nº de brotes R1	Nº de brotes R1 con formación de callos ^{4/}
0	21.68 b*	4.70 b	2.87 b
20	21.35 b	4.60 b	2.85 b
40	19.17 a	5.55 a	3.55 a
80	19.43 a	5.85 a	3.64 a
Promedio	20.41	5.18	3.23
C.V.	3.97%	6.13%	7.95%

*Promedios dentro de columnas seguidos con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

^{4/}Brotos de primera generación (R1) que tras la eliminación de la dominancia apical producen tejido calloso.

Los resultados obtenidos son cercanos a los reportados por Pereira *et al* (2001) quienes al evaluar niveles y combinaciones de las citocininas BAP+TDZ en banano cv. “Maca” propagado *in vivo* obtuvieron un total 5.73 brotes por rizoma con la combinación BAP 10 mg L⁻¹ + TDZ 20 mg L⁻¹, y 4.72 brotes por rizoma en el testigo no tratado. Así mismo con la mayor dosis de BAP+TDZ reportaron un periodo de brotación de 24 días en comparación a los 32 días que le llevo brotar al testigo sin tratamiento. Bajo la misma metodología Canchignia *et al* (2008b) evaluaron niveles y combinaciones de BAP y AIA sobre la proliferación de cormos en banano y plátano, reportando que la dosis que produjo la mayor cantidad de brotes de primera generación fue la de 30 mg L⁻¹ de BAP.

Por otra parte, los resultados difieren a los obtenidos por Msogoya y Mwakisitu (2014) quienes reportan que la mejor concentración de citocininas para obtener mayor cantidad de brotes R1 en menor tiempo de emergencia, es de 2 mg L⁻¹ de tidiazuron (TDZ) en cultivares de banano Cavendish y French plantain, lo cual se asemeja a lo obtenido por Langford *et al.* (2012) y Dayarani *et al.* (2013) quienes lograron mayor cantidad de brotes R1 en menor tiempo de brotación con concentraciones bajas de BAP, en banano macro-propagado. Estas diferencias, quizás se deban a la forma como fue aplicada la hormona, puesto que Msogoya y Mwakisitu *et al.* (2014) y Langford *et al.* (2012) sometieron los cormos a remojo por 12 horas y 30 minutos, respectivamente, en las diferentes concentraciones de BAP, mientras

que en el presente estudio, al igual que los realizados por Pereira et al. (2001) y Cachignia et al. (2008), la hormona fue aplicada en la cavidad dejada por la extirpación del meristemo apical. Es probable que dentro de la cámara térmica se necesiten mayores concentraciones de 6-BAP debido a altas temperaturas, ya que según estudios realizados por Todorova et al. (2005) en *Arabidopsis thaliana*, los contenidos endógenos de citocininas disminuyen con temperaturas extremas.

Álvarez *et al* (2013) determinaron que cormos de plátano desprovistos del meristemo apical y sometido a altas temperaturas en cámara térmica brotan con mayor rapidez, observándose la emergencia de los mismos 18 días después de la siembra; además se produjo una mayor producción de brotes/cormo en el interior de la cámara térmica, en comparación a la baja cantidad que se obtiene al ambiente. Este hecho indica que la mayor cantidad de brotes y rapidez de brotación de los rizomas sometidos a cámara térmica no se debe solamente al efecto de reguladores de crecimiento como BAP, sino que también la temperatura ejerce un efecto determinante en la activación de yemas laterales.

Esto concuerda a lo observado por Lepoint *et al* (2013) quienes al evaluar la macro-propagación de cormos de cuatro cultivares de *Musa* spp., establecidos en tres tipos de sustratos y dos prototipos de cámaras de crecimiento, ubicadas en dos localidades con diferencias térmicas, siendo una de 18°C y la segunda de 25°C, determinaron que temperaturas más elevadas favorecieron significativamente una mayor producción de brotes/cormo y menor tiempo en la emergencia de los mismos, independientemente de los cultivares, sustratos y prototipos de cámaras de crecimiento evaluados. En este mismo contexto Kwa (2003) describe la importancia de la temperatura y humedad relativa en cámaras de propagación para alcanzar mayores tasas de multiplicación y acelerar la emergencia de brotes, lo cual es posible incluso sin el uso de hormonas.

El **Cuadro 5**, muestra la influencia de los niveles de bencilaminopurina (BAP) sobre el número de plantas de callo, adventicias y tasa de multiplicación obtenida por cormo. Se aprecia que los niveles de 40 y 80 mg L⁻¹ de BAP fueron estadísticamente iguales entre sí pero diferentes a los niveles de 0 y 20. Además el nivel de 20 fue estadísticamente diferente al nivel de 0 mg L⁻¹ de BAP para todas las variables mostradas en el **Cuadro 5**. Los niveles de 40 y 80 mg L⁻¹ BAP proporcionaron la mayor cantidad de plantas obtenidas por cormo, tanto provenientes de callos, adventicias y totales, con 36.29, 10.98 y 47.27 plantas,

respectivamente con el nivel de 40, y 34.67, 10.65 y 45.32 plantas, respectivamente con el nivel de 80. Por su parte, los niveles de 0 y 20 mg L⁻¹ de BAP fueron los que presentaron menores tasas de multiplicación, tanto de plantas procedentes de callos como adventicias, aunque el nivel de 20 fue superior al de 0 mg L⁻¹ de BAP.

Cuadro 5: Comparación de medias para las variables número de plantas de callo, número de plantas adventicias y tasa de multiplicación, bajo el efecto de cuatro dosis de bencilaminopurina (BAP). Portoviejo, Ecuador 2014.

Concentraciones de BAP (mg L ⁻¹)	Variables respuesta		
	Plantas de callo	Plantas adventicias	Tasa de Multiplicación
0	18.67 c*	7.29 c	25.96 c
20	26.56 b	8.64 b	35.20 b
40	36.29 a	10.98 a	47.27 a
80	34.67 a	10.65 a	45.32 a
Promedio	29.04	9.39	38.44
C.V.	6.78%	10.15%	5.88%

*Promedios dentro de columnas seguidos con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

Los resultados son coincidentes a los encontrados por Dayarani *et al* (2013) quienes reportan mayor cantidad de plantas totales/cormo así como también plántulas derivadas de los brotes primarios previamente despojados del meristemo apical y tratados con BAP. En el mismo contexto Kindimba y Msogoya (2014) reportaron un total de 17.11 plantas/cormo en el plátano cv. "Itoke Sege" sumergido en solución BAP a dosis de 1.5 mg/L, en contraste al tratamiento testigo (sumergido en agua) que produjo menor cantidad de plantas. Por su parte Osei (2006) al tratar una planta inicial del plátano cv. "Apantu" en campo con benciladenina (BA) y agua de coco, y posteriormente a los hijuelos establecidos en un propagador, reportó un total de 1000 plántulas obtenidas con esta metodología un año después de los tratamientos. Así mismo Mendoza *et al* (2003) mencionan que es posible obtener entre 20 a 50 plantas/cormo con la inhibición de la dominancia apical y la aplicación de bencilaminopurina. Manzur (2001) reporta haber obtenido hasta 156 plantas/cormo en plátano FHIA-20 tratado con de 40 mg L⁻¹ de BAP después de extraer el meristemo apical del cormo principal, y el de los brotes primarios y secundarios, respectivamente.

Los resultados en general indican que la bencilaminopurina ejerce un efecto significativo en la proliferación de callos y brotes adventicios que conllevan a una mayor tasa de multiplicación *in vivo*, lo cual es similar a lo observado en la propagación *in vitro* de Musáceas, donde el efecto de la bencilaminopurina y las citocininas sintéticas en general han sido determinantes para alcanzar mayores tasas de multiplicación. Bajo este contexto, trabajos realizados por Gómez *et al* (1995), Arinaitwe *et al* (2000), García *et al* (2002), García *et al* (2006), Muhammad *et al* (2007), Colmenares y Giménez (2007), Shirani *et al* (2010), Jafari *et al* (2011), Sipey and Davey (2012), Demissie (2013) y Dharaneeswara-Reddy *et al* (2014) indican una mayor proliferación de callos, brotes adventicios y plántulas regeneradas por explante, con el uso de citocininas sintéticas como bencilaminopurina, benciladenina, kinetina, zeatina, 2iP y thidiazuron, lo cual demuestra la importancia de estas hormonas en la activación de yemas latentes e inducción de mayor actividad organogénica en explantes de banano y plátano.

En la **Figura 14**, se muestra la diferencia porcentual de la cantidad de plantas obtenidas con cada nivel de BAP, en comparación al tratamiento testigo, las barras muestran un 34, 80 y 73 % de plantas adicionales obtenidas con 20, 40 y 80 mg/L de BAP, respectivamente, en contraste al testigo no tratado con la hormona. Por lo tanto los resultados indican un incremento en el número de plantas a medida que se incrementan las dosis de BAP hasta llegar al nivel de 40 mg/L, sin embargo, a partir de este nivel el número de plantas decrece, lo cual indica que mayores dosis influyen en menor medida la organogénesis *in vivo* en el cultivar de banano Williams.

Independientemente de la dosis de BAP utilizada, el efecto de la bencilaminopurina sobre una mayor tasa de multiplicación, puede estar en función del contenido endógeno de citocininas alcanzado en los cormos tratados con BAP, resultando en un balance hormonal favorable a las citocininas, dado que una relación baja Auxina/Citocinina favorecerá la inducción de brotes vegetativos (caulogénesis), mientras que una relación alta favorable a las auxinas induce a la formación de raíces (rizogénesis), esta teoría fue propuesta por Skoog-Miller en el año 1957 y en la actualidad es la tesis más aceptada para explicar el control hormonal de la organogénesis (Salisbury y Ross, 2000; Taiz y Zeiger, 2010; Azcón y Talón, 2008; Ying-Hua *et al*, 2011).

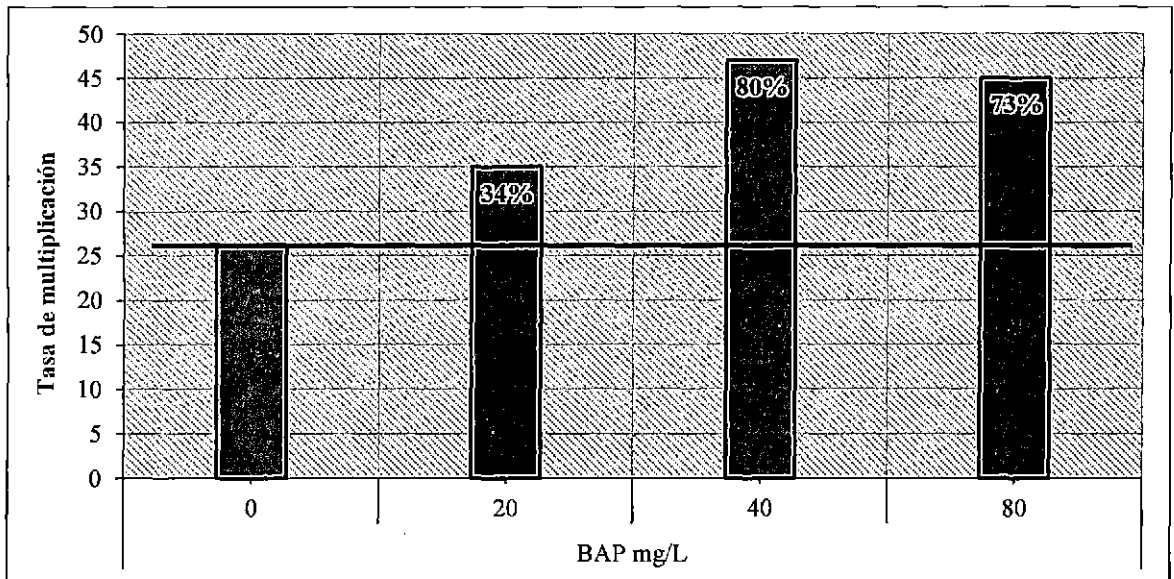


Figura 14: Diferencia porcentual del número de plantas adicionales obtenidas con las diferentes dosis de BAP en comparación al testigo sin BAP, en el cultivar de banano Williams. Portoviejo, Ecuador 2014.

Las citocininas favorecen la activación de yemas adventicias y la formación de callos al reducir la dominancia apical gobernada por las auxinas, puesto que estas se biosintetizan en el meristemo apical, por lo tanto, la eliminación mecánica del mismo disminuye la dominancia de las auxinas, favoreciendo así el efecto de las citocininas en la activación de yemas latentes. En la cámara térmica, probablemente por efecto de las altas temperaturas no hubo buena proliferación de raíces y por ende síntesis de citocininas, razón por la cual, la aplicación de citocininas exógenas, más las ya presentes en el cormo provocaron un desbalance hormonal favorable a las citocininas con relación a las auxinas, resultando de esta manera mayor inducción de callos y proliferación de plántulas. En este sentido, se ha comprobado que al aplicar citocininas sintéticas a yemas axilares de varias especies, resulta en una mayor tasa de división celular (citocinesis) que conlleva a una mayor regeneración de meristemas (Kakimoto, 2003; Madhulatha *et al*, 2004; Taíz y Zeiger, 2010). López (2010) encontró mayor formación de puntos meristemáticos en banano Enano Gigante y FHIA-23 que originaron mayores tasas de proliferación con el uso de citocininas sintéticas.

Actualmente se conoce que las citocininas también son sintetizadas en las partes aéreas de las plantas tales como las regiones nodales de los tallos, sin embargo según Tanaka *et al* (2006) la biosíntesis se ve inhibida por la dominancia apical gobernada por las auxinas.

Tanaka *et al* (2006) también mencionan que la biosíntesis de citocininas en los nudos del tallo está gobernada por la expresión de los genes (*PsIPT1* y *PsIPT2*), los cuales al producirse la ruptura de la dominancia apical ya sea por daño mecánico (decapitación del meristemo) o aplicación exógena de citocininas sintéticas, se promueve de inmediato la expresión de los mencionados genes que conllevan a una mayor síntesis de citocininas endógenas, que por ende inducen el crecimiento de brotes adventicios (Müller and Leyser, 2011), pues según lo expuesto por Matsumoto-Kitano *et al* (2008) las citocininas endógenas señalizan la regulación del desarrollo del cambium y el crecimiento secundario de los tallos. Las evidencias científicas hasta aquí descritas sustentan los resultados obtenidos en la presente investigación, donde la bencilaminopurina ejerce un claro efecto sobre la tasa de multiplicación del cultivar de banano Williams macro-propagado en cámara térmica, aclarando sin embargo que hay una respuesta diferencial con cada dosis probada.

En este contexto, varios son los trabajos que denotan una respuesta organogénica diferencial de los explantes de banano hacia dosis de bencilaminopurina, lo cual puede estar en función al tamaño del explante, el genotipo y el ambiente propio del método de propagación. Este hecho lo demuestra Dharaneeswara-Reddy *et al* (2014) quienes evaluaron en condiciones *in vitro* dosis crecientes de BAP desde 0.5 hasta 9.4 mg/L aplicadas al medio sólido MS en la proliferación del cultivar de banano “Gran Naine”, obteniendo la mayor proliferación de plantas normales con dosis de 2 mg L⁻¹, por encima y debajo de esta dosis la tasa de multiplicación disminuyó, incluso con dosis más elevadas se produjeron plantas anormales.

En este mismo contexto Muhammad *et al* (2007) evaluaron diferentes dosis de BAP en la multiplicación *in vitro* del cultivar de banano “Basrai”, utilizando medios sólidos y líquidos de MS, alcanzándose mejor tasa de multiplicación con 4 mg L⁻¹ de BAP en medio MS líquido. Así mismo Arinaitwe *et al* (2000) determinaron el efecto de varias dosis y tipos de citocininas sobre las tasas de multiplicación de tres cultivares de banano micropropagados, cuyos resultados indican una respuesta diferencial de los cultivares hacia las diferentes dosis y tipos de citocininas estudiadas. En relación a lo anterior, cabe aclarar que en el presente estudio con la concentración de 80 mg L⁻¹ de BAP se evidenció la producción de masas de callo que produjeron plántulas con características atípicas a una plántula normal.

Entre los síntomas atípicos que se presentaron fue el desarrollo de plantas con aparente síntomas de gigantismo con tallos débiles, acuosos y hojas deformadas, así como también m VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS asa de callos con brotes de crecimiento irregular y arrosetado (**Figura 15**). Las plántulas fuera de tipo no fueron contabilizadas durante el registro de datos.



Figura 15. Plántulas de banano con hojas y tallos deformes (izquierda), y masa de callo con brotes de crecimiento irregular y arrosetado (derecha).

Otra de las características atípicas que se presentó fue el desarrollo de hojas con decoloración y rayado del tejido (**Figura 16**).



Figura 16. Plántulas de banano con presencia de decoloración y rayado del tejido foliar.

Si se compara estas anomalías con plántulas y callos que presentan desarrollo característico normal (Figura 17), se aprecian claras diferencias fenotípicas.

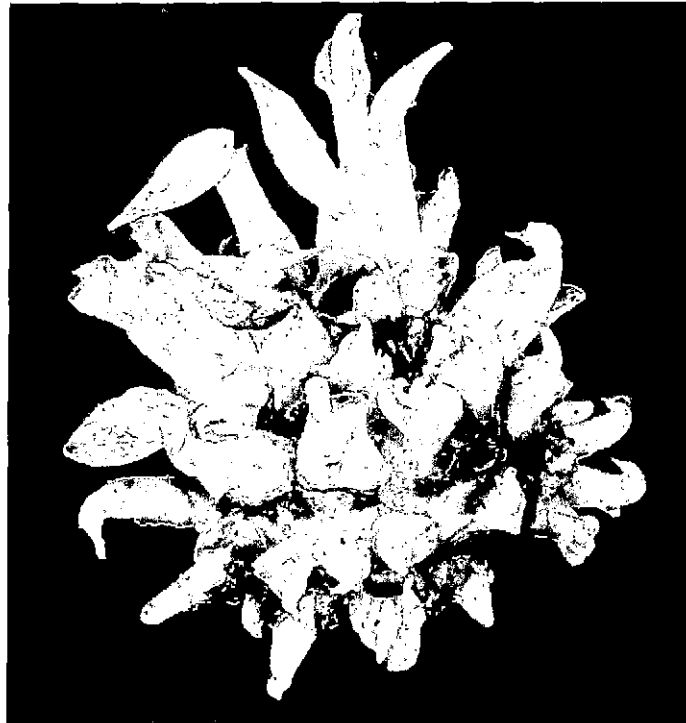


Figura 17. Callos y Plántulas de banano con características fenotípicas normales.

Las características atípicas encontradas en algunas plántulas puede deberse a las altas dosis de bencilaminopurina aplicada en los cormos, lo cual pudo haber provocado anomalías fisiológicas como la hiperhidricidad, necrosis, amarillamiento y senescencia prematura de los tejidos, problemas que han sido reportados para banano micro-propagado (Roels *et al*, 2005; Bairu *et al*, 2008). Por otra parte, también se ha relacionado altas dosis de bencilaminopurina y otros reactivos a base de citocininas con variaciones genéticas. En este sentido Giménez *et al* (2001) mencionan que altas dosis de BA estuvieron muy implicadas en el aumento del número de cromosomas en la variante somaclonal CTB-03 derivada del cv. Williams. Así mismo, Roels *et al* (2005) obtuvieron mayor incidencia de variación somaclonal en banano a mayor dosis de citocininas. A la misma conclusión llegaron Bidabadi *et al* (2010) quienes determinaron que altas dosis de BAP y TDZ acumularon mucha variación genética en cultivo de tejidos de banano. Finalmente, Vasane *et al* (2009) mencionan que la variegación en hojas así como tallos elongados y en general plántulas deformes, son anomalías típicas de variantes somaclonales que se producen durante el cultivo de tejidos de banano.

En cuanto a la influencia del ambiente de multiplicación Colmenares y Giménez (2007) mencionan haber obtenido hasta 166.5 yemas múltiples/explante de plátano “Hartón Gigante” con 100 μ M de benciladenina en medio líquido de sistemas RITA, mientras que en medio sólido con la misma dosis de benciladenina solo se alcanzó un total de 36 yemas múltiples/explante. Este hecho indica la influencia del ambiente sobre la tasa de multiplicación de Musáceas, independientemente del tipo y dosis de hormona utilizada. Así mismo a nivel de macro-propagación Lepoint *et al* (2013) mencionan que la proliferación de plantas de banano está en función del genotipo y el ambiente, dado que obtuvieron mayor número de plantas en ambientes con 25°C en comparación a localidades de 18°C, sin embargo, la tasa de multiplicación varió con cada cultivar, siendo el cv. “KAMARAMASENGE” el que presentó la menor tasa de multiplicación, en comparación a los cvs. ‘IGISAHIRA’, ‘FHIA-17’ y ‘MZUZU’ con 22, 25 y 28 plantas/cormo, respectivamente.

Bajo este mismo contexto, Kwa (2003) al propagar plátano (AAB) y banano (AAA) mediante la técnica PIF (Propagación mediante fragmentos de rizoma por sus siglas en francés) en condiciones de invernadero, obtuvieron en promedio entre 10 a 20 plantas/fragmento de rizoma, siendo los cultivares de plátano tipo AAB los que presentaron

la mayor tasa de multiplicación en contraste con el cultivar de banano “Gran Naine” (AAA) que mostro baja tasa de multiplicación. Por otra parte Álvarez *et al* (2013) al someter cormos de plátano cv. “Dominico Hartón” a condiciones de cámara térmica con temperaturas mayores a 45°C, alta humedad relativa e inhibición de la dominancia apical obtuvieron hasta 90 plantas/m²/mes, en contraste a los 35 plantas/m²/mes que obtuvieron en condiciones ambientales normales. Esto coincide con lo reportado por Njukwe *et al* (2007) quienes mencionan que es posible obtener hasta 50 plántulas/cormo en propagadores con alta temperatura y humedad 10 semanas después de la siembra de los cormos. Así mismo Lescot y Staver (2013) describen que con el uso de cámara térmica y la inhibición de la dominancia apical se logran hasta 60 plantas/cormo. Es probable, que las altas temperaturas generadas en la cámara térmica, no afecten la actividad interna del cormo, debido a que las vainas externas que lo recubren están llenas de espacios de aire, el cual ha sido catalogado como un aislante térmico por naturaleza.

Los resultados encontrados en este trabajo reflejan la importancia del ambiente generado por la cámara térmica sobre una mayor proliferación de plantas de banano Cavendish cv. Williams, donde fue posible alcanzar sin el uso de la hormona BAP una tasa de multiplicación de 26 plántulas/cormo, lo cual coincide con lo reportado por Rhoda (2013) quien obtuvo una tasa de multiplicación de 27 plantas/cormo bajo las mismas condiciones de propagación con el genotipo Cavendish, lo cual es una ventaja significativa frente a las 7 plantas que se obtienen con el método de propagación tradicional. Esto indica la influencia de la temperatura en la activación de yemas latentes y proliferación de callos, lográndose así mayores tasas organogénicas *in vivo*. Esto concuerda con lo expuesto por Blomme *et al* (2000) quienes mencionan que la temperatura juega un papel fundamental en el inicio de la brotación de yemas, dado que el banano tiene mayor tasa de crecimiento con humedad ambiental y temperaturas elevadas (Aristizábal y Jaramillo, 2010; Martínez y Cayón, 2011; HortNews, 2012), mientras que con temperaturas bajas se reduce la actividad metabólica, con lo cual se retrasa la división celular del meristemo y por lo tanto la brotación de yemas (Cayón, 2004).

4.2. ENSAYO 2: “Potencial de enraizamiento y calidad de tres estados fenológicos y dos tipos de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica”.

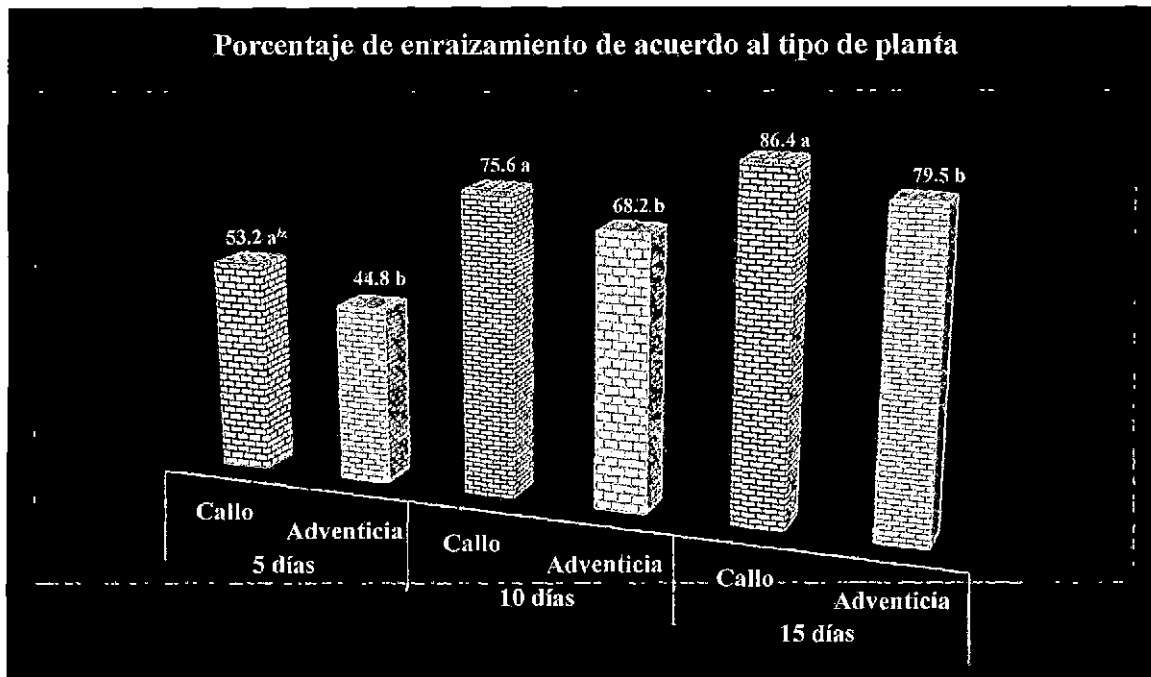
En el Cuadro 6, se aprecia que el análisis de varianza reporto significancia estadística solo para los efectos principales (tipo de planta y estado fenológico), mientras que para la interacción tipo de planta*estado fenológico no hubo diferencias significativas para ninguno de los tiempos de enraizamiento evaluados. Esto indica la independencia de los niveles de cada factor. En cuanto a los coeficientes de variación se pueden considerar normales al tipo de estudio, dado que son coincidentes con los reportados por Nogueira *et al* (2004), Al-Amin *et al* (2009), Alves (2012) y Gabriel *et al* (2013), quienes realizaron estudios relacionados a enraizamiento de musáceas. En los anexos 7 – 9 se muestran los ANOVA correspondientes.

Cuadro 6: Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de la variable porcentaje de enraizamiento a los 5, 10 y 15 días de enraizado en agua. Portoviejo, Ecuador 2014.

F.V.	Porcentaje de enraizamiento		
	5 días	10 días	15 días
Tipo de planta	0.0090**	0.0311*	0.0004**
Estado fenológico	0.0002**	0.0003**	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	0.7919 ^{ns}	0.4148 ^{ns}	0.0805 ^{ns}
C.V. %	18.39	13.63	6.24

NS = No significativo, * Significativo ($p \leq 0.05$) y ** Altamente significativo ($p \leq 0.01$)

En la Figura 18, se observa que de acuerdo al tipo de planta, las procedentes de callo mostraron mayor potencial de enraizamiento con 53.2, 75.6 y 86.4 % a los 5, 10 y 15 días, respectivamente, en contraste a las plantas adventicias que solo alcanzaron porcentajes de enraizamiento de 44.8, 68.2 y 79.5 % en el mismo periodo de evaluación, por lo que de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) las plantas de callo son significativamente mejores que las adventicias para enraizar.



^a Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 18. Potencial de enraizamiento en agua de plántulas de banano cv. “Williams” provenientes de brotes adventicios y callos obtenidos en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

Los resultados indican que el tipo de planta influye en el enraizamiento, siendo las procedentes de tejido calloso las que presentan mayor enraizamiento y por lo tanto mayor sobrevivencia, lo cual puede estar en función al origen de la plántula, dado que las que se forman a partir de tejido calloso crecen muy conglomeradas entre sí, lo cual genera una competencia por espacio, obligando a la plántula a formar su propio cormo independiente a medida que comienzan a crecer sobre la masa de callo (**Figura 19 A**), por lo tanto al momento de la cosecha se desprenden fácilmente sin producirse mayor daño (**Figura 20 A**). En contraste las plantas adventicias o axilares al formarse directamente del cuerpo del hijuelo de primera generación (**Figura 19 B**) son más susceptibles a ser dañadas dado que debe separárselas con la ayuda de un cuchillo y por lo tanto su cormo resulta con una herida de mayor tamaño (**Figura 20 B**).

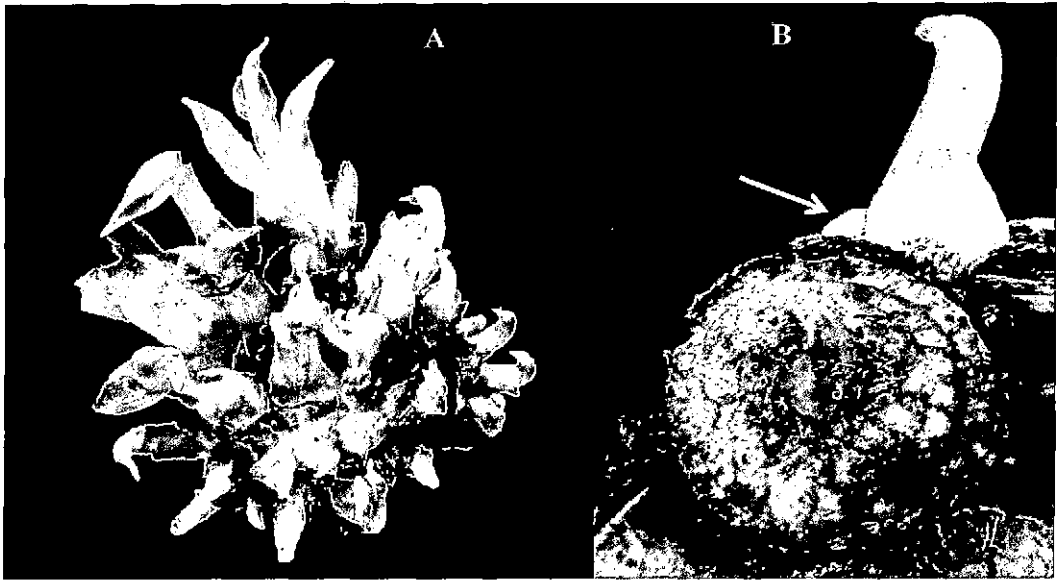


Figura 19. Plántulas formadas a partir de masa callosa (A) y directamente del cuerpo del brote de R1 (B), la flecha indica la mayor área de conexión entre la planta adventicia y el brote R1, lo cual resulta en mayor daño al momento de la extracción. Portoviejo, Ecuador 2014.

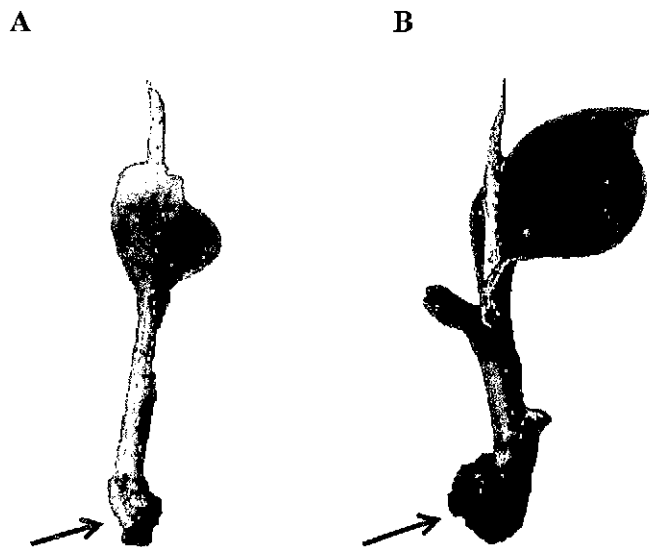


Figura 20. Plántula originada de tejido de calloso (A) nótese que su cormo se encuentra íntegro después de la extracción. Plántula adventicia (B) nótese la herida provocada por el cuchillo al momento de la extracción. Portoviejo, Ecuador 2014.

La mayor herida producida en las plantas adventicias pudo ser la causa del menor potencial de enraizamiento en agua, dado que el tejido interno del cormo al estar en contacto directo con el medio sufrió oxidación o fenolización del tejido (**Figura 21 A**), en comparación a la planta procedente de tejido calloso que no presentó oxidación del tejido, puesto que su cormo no sufrió un daño significativo (**Figura 21 B**). En este sentido Concepción *et al* (2005) mencionan que la propagación convencional es de baja eficiencia debido a que la elevada fenolización impide un buen enraizamiento, lo cual es coincidente por lo expuesto por Latsague y Lara (2003), quienes mencionan que los compuestos fenólicos en concentraciones elevadas se comportan como promotores de la oxidación de auxinas interfiriendo de esta manera con la formación de raíces adventicias de esquejes.

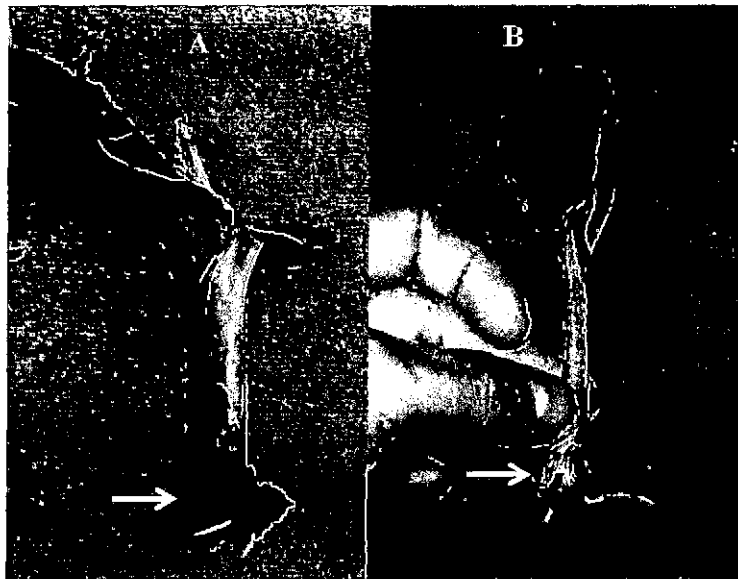
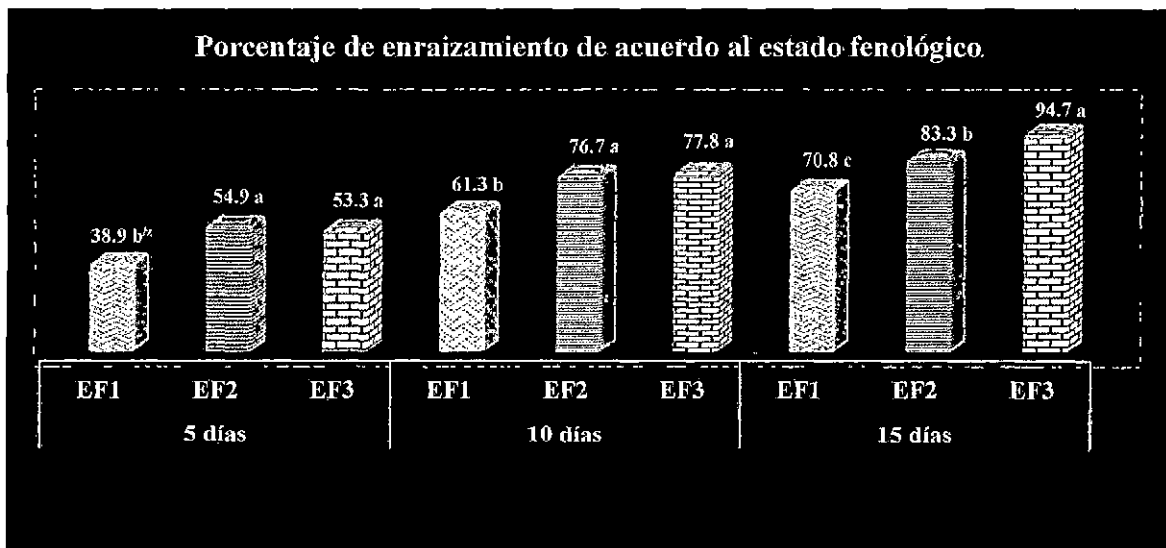


Figura 21. Plántula adventicia con oxidación del cormo (A) y planta procedente de callo sin oxidación del cormo (B), luego del enraizamiento en agua. Portoviejo, Ecuador 2014.

El ennegrecimiento causado por la oxidación fenólica ocurre por la acción de las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y tirosinasas que se biosintetizan cuando los tejidos sufren heridas como consecuencia de los cortes realizados para separar los brotes del explante madre (Amiot *et al*, 1996; Anderson y Ievinsh, 2002). Así mismo, Azofeifa (2009) indica que cuando los tejidos son lesionados las células sintetizan mayor cantidad de enzimas oxidativas conocidas como polifenol oxidasas (PPO), fenolasas, tirosinasas y peroxidasas (POX), dado que las células reconocen la herida provocada por un corte o lesión como un estrés y reaccionan produciendo mayores niveles de especies de oxígeno reactivo (ROS) y especies

de nitrógeno reactivo (RNS), que finalmente producen estrés nitro-oxidativo a los tejidos (Mittler, 2002; Van Staden *et al*, 2006, Abdelwahd *et al*, 2008; Pompeu *et al*, 2008).

En la **Figura 22**, se muestran los porcentajes de enraizamiento de acuerdo al estado fenológico de las plántulas evaluadas. Se observa que a los 5 días de enraizado los estados fenológicos EF2 y EF3 son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$) y muestran mayor porcentaje de enraizamiento con 54.9 y 53.3%, respectivamente, en contraste al 38.9% de enraizamiento mostrado por el EF1, el cual resultó ser significativamente diferente ($p \leq 0.05$) a los estados fenológicos EF2 y EF3. Situación similar se dio a los 10 días de enraizado donde los estados fenológicos EF2 y EF3 fueron significativamente iguales entre sí ($p \leq 0.05$) con 76.7 y 78.8% de enraizamiento, pero diferentes al estado EF1 que mostró un 62.3% de enraizado para el mismo periodo. Finalmente, a los 15 días de enraizado el estado fenológico EF3 mostró el mayor porcentaje de enraizamiento con 94.7, siendo estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) a los estados EF2 y EF1, los mismos que solo alcanzaron el 83.3 y 70.8% de enraizamiento, respectivamente.



^a Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 22. Potencial de enraizamiento en agua de tres estados fenológicos (EF) de plántulas de banano cv. “Williams” obtenidas en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

Los resultados sugieren que el tamaño de las plántulas influencia la organogénesis radicular, donde los estados EF2 y EF3 alcanzaron mayor potencial de enraizamiento en todos los tiempos evaluados independientemente del tipo de planta. Sin embargo, al final del ensayo

el estado fenológico EF3 fue el que alcanzo el mayor porcentaje de enraizado, lo cual indica que fisiológicamente en este estado de desarrollo posiblemente haya mayor cantidad de meristemas radiculares diferenciados y activos a nivel del cormo y por lo tanto las plántulas están más aptas para enraizar y sobrevivir. En este sentido Taji *et al* (2002) mencionan que a mayor tamaño del explante mayor será el potencial prolífico y la regeneración directa de órganos.

Los resultados se asemejan a los obtenidos por Gabriel *et al* (2013) quienes mencionan haber alcanzado 100% de supervivencia en plántulas de banano cv. Lacatan con tamaños en altura de 7-10 cm en contraste a los 86.67% obtenidos con tamaños de 3-6 cm. Así mismo Sosa-Rodríguez *et al* (2009) obtuvieron mayor supervivencia y enraizamiento en explantes de *Heliconia standley* mayores a 3 cm en contraste a los explantes de menor tamaño. Por su parte, López (2010) obtuvo mayor respuesta organogénica *in vitro* en el banano cv. Gran Enano cuando utilizó explantes de 1 cm, en comparación con la reducida o nula respuesta de explantes de 0.5 cm. Resultados similares fueron encontrados por Goswami y Handique (2013) quienes al evaluar tres tamaños de explante (5-10-20 mm) sobre la respuesta organogénica *in vitro* de tres cultivares de banano, obtuvieron mayor respuesta organogénica y porcentaje de supervivencia en los explantes de 20 mm.

El enraizamiento de las plántulas de banano en agua independientemente del tamaño y del tipo de planta (callo y adventicia) fue un método eficiente para el enraizado previo al trasplante en bolsas, lo cual podría mejorarse con la adición de hormonas tipo auxinas al agua. Los resultados obtenidos en este estudio parecen indicar que el agua activa diversos procesos fisiológicos relacionados con la inducción y activación de primordios radicales que se encuentran preformados en el cormo, lo cual desencadena la formación y crecimiento de raíces adventicias como consecuencia quizás del estrés hipoxico que causa la falta de oxígeno bajo condiciones de inundación, pues los cormos de las plántulas permanecieron hasta 15 días en agua.

Varios son los trabajos reportados donde se ha aplicado el remojo o sumersión de esquejes en agua con la finalidad de promover la formación de raíces adventicias. En este sentido Petersen y Phipps (1976) al dejar por varios días de remojo en agua esquejes de algunos clones de *Populus spp.*, obtuvieron mayor enraizado que en esquejes no remojados; a los 5 días de remojo se produjo la emergencia de las primeras raíces adventicias. Así mismo

Desrochers y Thomas (2003) determinaron que esquejes de *Populus spp.*, de 10 cm de longitud y remojados 2 días en agua tuvieron un enraizamiento óptimo en comparación a los esquejes de 5 cm, lo cual coincide con lo reportado Gökbayrak *et al* (2010) quienes describen que la sumersión en agua de esquejes de Vid cv. 41B por lo menos 24 horas mejora significativamente el enraizamiento.

Por su parte, Dawood *et al* (2013) reportaron la presencia de raíces adventicias entre 2-4 días después de la inundación en maceta de plántulas de *Solanum dulcamara*, lo cual se relacionó a una mayor división y elongación celular en los primordios. Bajo este mismo contexto Chen *et al* (2002) determinaron que plántulas de *Lepidium latifolium* incrementaron el número de raíces adventicias bajo inundación, lo cual se relacionó a una mayor acumulación de etileno. Resultados similares fueron alcanzados por Martín *et al* (2004) quienes observaron mayor cantidad de raíces adventicias y porcentaje de supervivencia en esquejes de *Salix nigra* sumergidos en agua, lo cual coincide a lo reportado por Tilley y Hoag (2008) para la misma especie.

La formación de raíces adventicias en plantas inundadas (hipoxia) ocurre como consecuencia de la acumulación de auxinas en la base de los tallos lo cual estimula la formación de primordios radicales (McNamara y Mitchell, 1990; Vidoz *et al*, 2010). Esta acumulación de auxinas se ha relacionado al incremento del nivel de etileno en tallos sumergidos, por lo que podría ser un mediador de dicha acumulación, aunque también se ha verificado una interacción entre la auxina y el etileno, dado que la acumulación de auxina en el tallo incrementa la síntesis adicional de etileno que al mismo tiempo estimula el flujo de la auxina hacia la parte sumergida carente de oxígeno (McNamara y Mitchell, 1991; Vidoz *et al*, 2010). La producción de etileno desencadena una serie de respuestas fisiológicas ante la falta de oxígeno, entre las cuales el desarrollo de raíces adventicias que contienen arénquima es una de las principales respuestas a la inundación, aunque estos eventos varían con la especie vegetal (Jackson, 2002; Evans, 2003; Bailey-Serres y Voesenek, 2008).

En el Cuadro 7, se muestra que el análisis de varianza reportó diferencias estadísticas sólo para los efectos principales (tipo de planta y estado fenológico) para todas las variables morfo-métricas determinadas a excepción de la variable longitud de raíces donde solo presentó significancia para el factor estado fenológico y no significancia para tipo de plántula. En cuanto a la interacción tipo de planta*estado fenológico no hubo diferencias

significativas para ninguna de las variables morfo-métricas evaluadas, lo cual indica la independencia de los niveles de cada factor. Los coeficientes de variación se consideran adecuados al tipo de estudio, puesto que se asemejan a los reportados por Peres *et al* (2008b), Kindimba y Msogoya (2014), Basail *et al* (2006), Basail *et al* (2012) y Hector *et al* (2007), quienes evaluaron variables morfo-métricas en plántulas de banano. En los anexos 10 – 13 se muestra los ANOVA correspondientes.

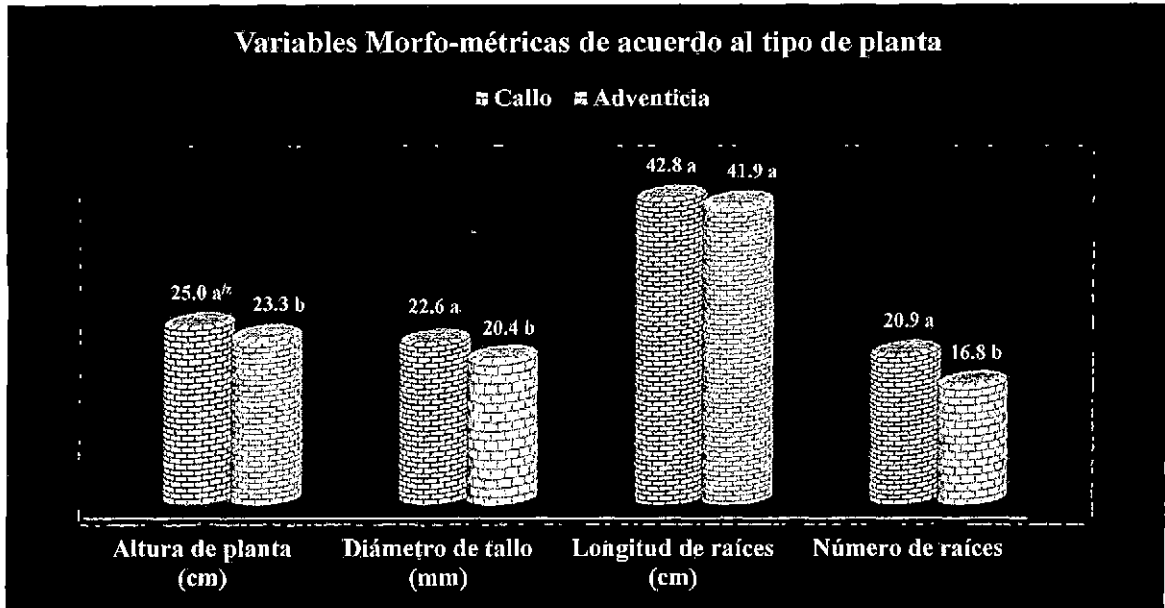
Cuadro 7. Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de las variables morfo-métricas altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíces y número de raíces. Portoviejo, Ecuador 2014.

F.V.	Variables Morfo-métricas			
	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de raíces (cm)	Número de raíces
Tipo de planta	0.0346*	0.0002**	0.7744 ^{ns}	0.0002**
Estado fenológico	0.0001**	0.0001**	0.0500*	0.0018**
Tipo de planta*Estado fenológico	0.3584 ^{ns}	0.0915 ^{ns}	0.1180 ^{ns}	0.0928 ^{ns}
C.V. %	12.56	9.57	11.30	11.13

^{ns} Los datos fueron normalizados previo al análisis de varianza con transformación de arco-seno \sqrt{X}

NS = No significativo; * Significativo ($p \leq 0.05$); ** Altamente significativo ($p \leq 0.01$).

En la **Figura 23**, se muestra la influencia del tipo de planta sobre las variables morfo-métricas evaluadas. En cuanto a la altura de planta se aprecia que las plántulas procedentes de callo con 25 cm fueron, de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) estadísticamente superiores a plántulas adventicias que sólo alcanzaron 23.3 cm de altura. La misma situación se presentó para la variable diámetro de tallo, donde las plántulas de callo con 22.6 mm fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) a las adventicias con 20.4 mm de diámetro. Así mismo, las plántulas obtenidas a partir de callo con 20.9 raíces fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) a las plántulas adventicias que solo llegaron a formar 16.8 raíces. Finalmente, el test de Tukey ($p \leq 0.05$) no detecto diferencias estadísticas entre ambos tipos de plantas para la variable longitud de raíces.



^{1/2} Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 23. Comportamiento de las variables morfo-métricas de acuerdo al tipo de plántula. Portoviejo, Ecuador 2014.

El mayor crecimiento en altura y diámetro alcanzado por las plántulas de callo puede estar en función a su mayor número de raíces formadas de manera simultánea durante los 60 días de aclimatación, lo cual les permitió una mayor exploración del sustrato contenido en las bolsas y por lo tanto mayor nutrición y desarrollo. Por otra parte, la mayor cantidad de raíces alcanzada por las plántulas de callo puede ser consecuencia del mayor porcentaje de enraizamiento logrado durante la fase de enraizado previo al trasplante a bolsas, dado que como ya se discutió, el escaso daño causado durante la separación de las plántulas desde el tejido calloso madre pudo haber sido la razón para que no se estresen y por lo consiguiente presentaran un mejor enraizado. Al contrario las plántulas axilares o adventicias sufrieron un daño apreciable al momento de ser separadas del brote R1 y por lo tanto la mayor herida provocó oxidación del tejido, que finalmente redujo su potencial de enraizado. En este sentido de acuerdo a la **figura 24**, existe una relación positiva y estadísticamente significativa entre el número de raíces con la altura y diámetro del tallo, hecho que explicaría la razón por la cual las plantas procedentes de tejido calloso alcanzaron mayor altura y diámetro de tallo.

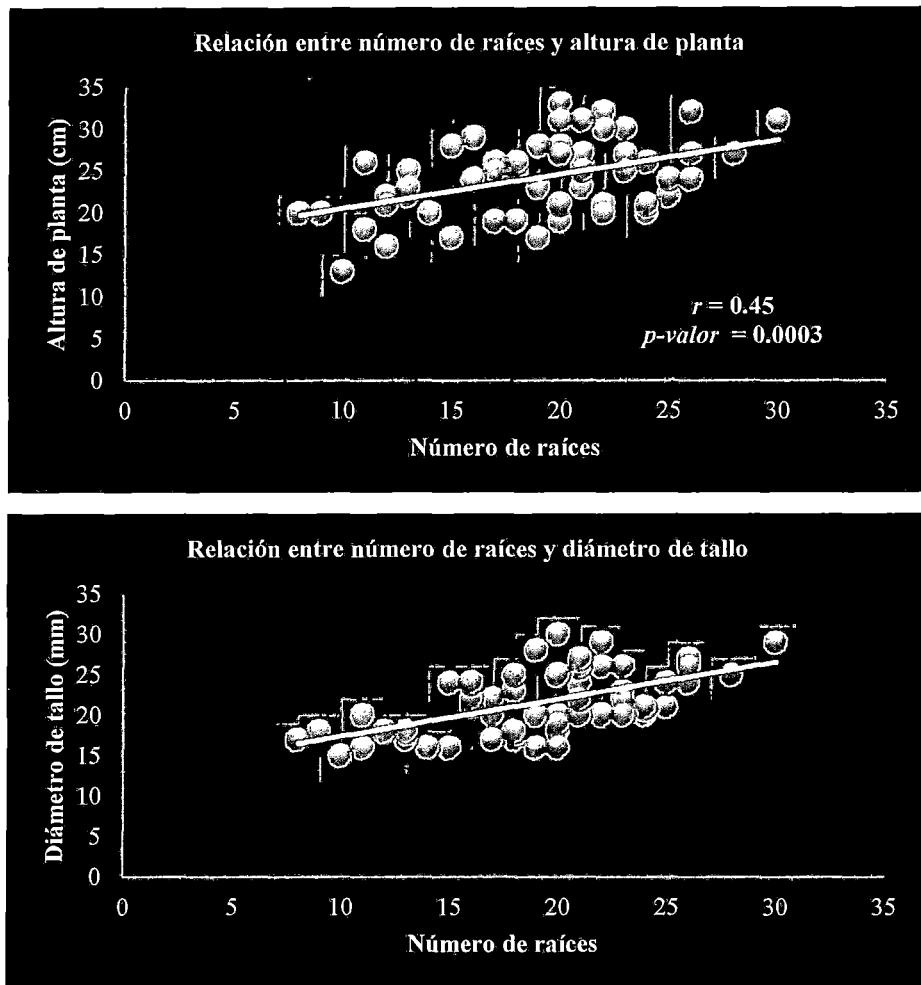
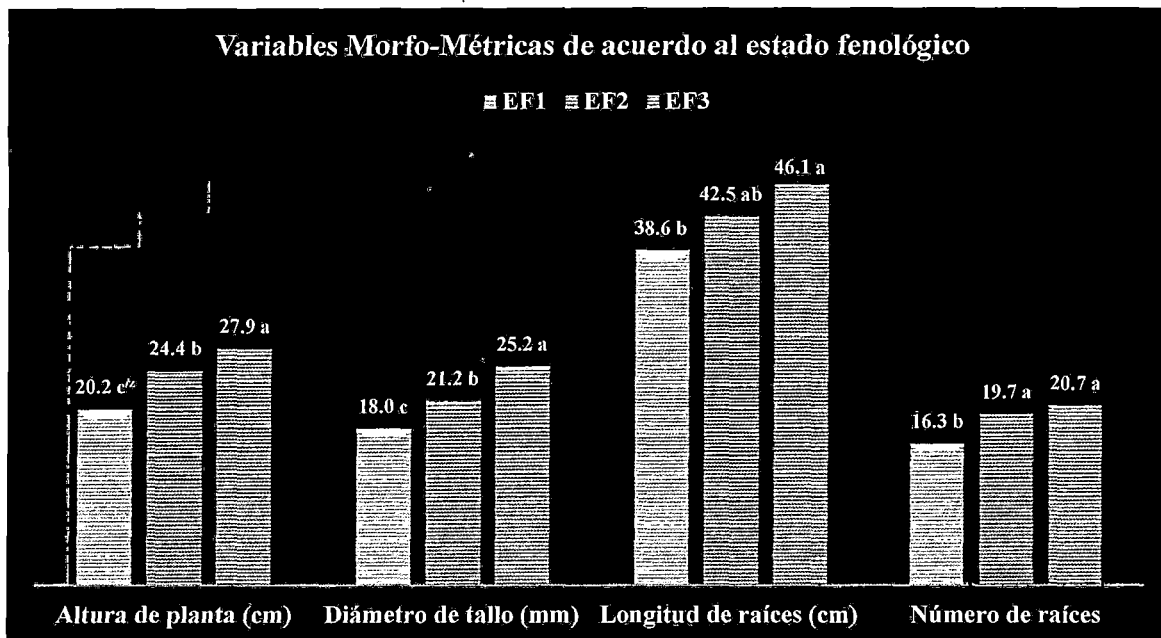


Figura 24. Relación entre el número de raíces con la altura de planta y diámetro del tallo. Portoviejo, Ecuador 2014.

Los resultados se asemejan a los obtenidos por Sosa-Rodríguez *et al* (2009) quienes obtuvieron mayor altura de tallo en plántulas de *Heliconia standley* que presentaron mayor número de raíces. Así mismo Hernández (2008) obtuvo mayor altura en plántulas de Heliconias que mostraron mayor masa radical. Por su parte Blomme *et al* (2008) encontraron que plántulas de plátano derivadas de la macro-propagación presentaron mayor altura y diámetro de tallo que las plántulas derivadas de cultivo *in vitro*, lo cual se relaciona con una mayor cantidad de raíces y no al origen del material de siembra, lo cual se asemeja a lo determinado por Blomme *et al* (2003).

A pesar de que algunos autores han indicado diferencias entre plantas derivadas de diferentes tejidos y rutas organogénicas de un mismo explante inicial en especies como cítricos, aguacate y amapola (Moreira-Dias *et al*, 2000; Ovecka *et al*, 2000; Zulfiqar *et al*, 2009), para el caso de banano no se reporta en la literatura científica diferencias en crecimiento entre plántulas derivadas de diferentes tejidos tales como el meristemo apical y brotes axilares, dado que trabajos conducidos por Youmbi y Ngaha (2004), Youmbi *et al* (2005) y Youmbi *et al* (2014) han demostrado similar comportamiento entre plántulas derivadas de diferentes fuentes de explante tanto en aclimatación y en campo, por lo que sugieren que cualquier tipo o fuente de explante serviría para la propagación, dado que presentan similar capacidad morfo-génica. Esto es coincidente a lo obtenido por López *et al* (2005) quienes evaluaron características fenotípicas de plantas derivadas por embriogénesis somática utilizando scapls, de organogénesis utilizado ápices meristemáticos y procedentes de cormos (propagación convencional).

En la **Figura 25**, se muestran los resultados obtenidos para las variables morfo-métricas de acuerdo al estado fenológico de las plántulas. Se aprecia que para todas las variables hubo diferencias significativas entre estados fenológicos de acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0.05$), donde se observa que para altura de planta el estado EF3 obtuvo el mayor promedio con 27.9 cm, seguido del EF2 y EF1 con 24.4 y 20.2 cm, respectivamente. Situación similar se obtuvo para la variable diámetro del tallo donde el estado EF3 presentó el mayor valor con 25.2 mm y seguido por los estados EF2 y EF1 con 21.2 y 18 mm, respectivamente. De igual forma se observa para la variable longitud de raíces donde el estado fenológico EF3 alcanzó el mayor valor con 46.1 cm, mientras que los estados EF2 y EF1 solo alcanzaron 42.5 y 38.6 cm, respectivamente. Finalmente, para la variable número de raíces los estados fenológicos EF3 y EF2 resultaron ser estadísticamente iguales con 20.7 y 19.7 raíces, mientras que el estado EF1 fue significativamente diferente con 16.3 raíces.



^{1/2} Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 25. Comportamiento de variables morfo-métricas de acuerdo al estado fenológico de plántulas de banano cv. Williams obtenidas en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

Los resultados indican que el estado fenológico de la plántula influye marcadamente su crecimiento inicial, donde el estado EF3 tuvo un mejor desempeño durante los 60 días de crecimiento. Esto puede estar en función de su mejor capacidad fisiológica para responder a los procesos activos que involucran crecimiento y desarrollo, aunque por otra parte puede deberse a la ventaja de su tamaño inicial en comparación a los estados EF1 y EF2 que fueron de menor tamaño al momento del trasplante. Otra hipótesis que podría explicar el mayor crecimiento alcanzado por el estado EF3, puede estar en función de un mayor contenido endógeno de reguladores de crecimiento. En este sentido González *et al* (2007) observaron diferentes respuestas morfogénicas de explantes de café, por lo que sugirieron que dicha respuesta se debía a la variación de contenidos endógenos de hormonas del propio explante; esto a su vez se relaciona a lo expresado por Taji *et al* (2002) quienes mencionan que el mayor tamaño del explante potencializa su capacidad morfogénica.

Resultados obtenidos por diferentes autores mencionan que el tamaño del explante o plántula durante las fases de endurecimiento, enraizamiento y aclimatación tiene gran influencia sobre su supervivencia y desarrollo. En este aspecto Goswami y Handique (2013) mencionan que explantes de banano de mayor tamaño responden mejor al enraizamiento, emisión de hojas y aclimatación, lo cual coincide con lo descrito por Gabriel *et al* (2013). Así mismo,

Sosa-Rodríguez *et al* (2009) observaron en *Heliconia standley* mayor enraizamiento *in vitro*, supervivencia y desarrollo de plantas en aclimatación cuando estas eran de tamaño mayor a 5 cm. Por su parte, Castro *et al* (2002) informaron que brotes de banano mayores a 6 cm fueron de mejor calidad para la aclimatación, en contraste a los de menor tamaño.

En otros cultivos diferentes al banano, también se han encontrado resultados similares donde el mayor tamaño del explante o planta ha proporcionado mayor potencial morfogénico y desarrollo durante el endurecimiento y la aclimatación. En este contexto Sierra *et al* (2001) determinaron que brotes enraizados *in vitro* de *Dieffenbachia picta* de entre 3-5 cm de tamaño alcanzaron mayor altura de planta durante los 45 días de aclimatación en comparación a plántulas de entre 1.3-1.8 cm de tamaño inicial, lo cual se asemeja a lo encontrado por Haq *et al* (2009) quienes evaluaron el efecto de cuatro tamaños de micro-esquejes de olivo (uninodal, binodal, trinodal y tetranodal) durante el endurecimiento *ex vitro*, demostrando que los esquejes tetranodales tuvieron mejor respuesta en cuanto número y longitud de raíces, así como también mayor supervivencia.

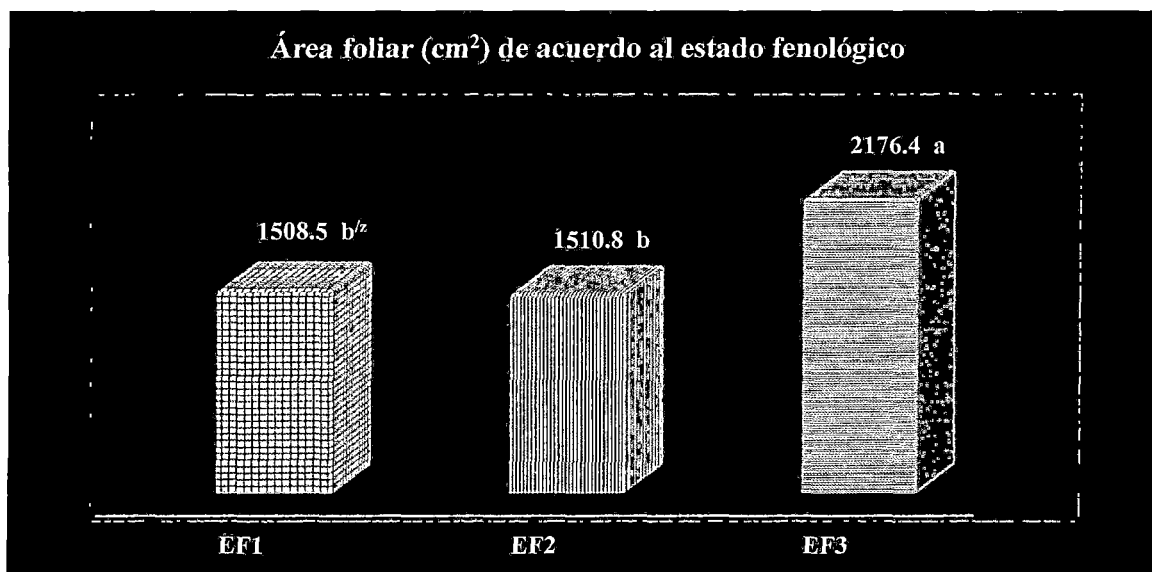
En el **Cuadro 8**, se muestra la significancia estadística obtenida para las variables integrales de calidad, donde se observa que para el área foliar solo hubo diferencias estadísticas significativa entre estados fenológicos, mientras que para el índice de vigor no se reporta diferencias significativas para los efectos principales ni para su correspondiente interacción. En cuanto a la relación biomasa aérea/radical solo se presentó diferencias significativas para el factor tipo de planta. Finalmente para las variables peso seco total e índice de calidad de Dickson el análisis de varianza mostró diferencias significativas tanto para los factores como su interacción, siendo estas dos últimas variables las únicas en mostrar dependencias entre los niveles de cada factor, lo cual puede estar en función de que estas son el resultado de la integración de todas las variables anteriormente mencionadas. Los coeficientes de variación son considerados normales al tipo de estudio, dado que se asemejan a los obtenidos por Rodríguez y Ramírez (2006), Da Silva *et al* (2006), Héctor *et al* (2007), Peres *et al* (2008b) y Luna-Ramírez *et al* (2010) quienes realizaron trabajos relacionados al presente estudio. En los anexos 14 – 18 se muestran los esquemas de los ANOVA correspondientes.

Cuadro 8. Significancia estadística de la fuente de variación y coeficientes de variación de las variables integrales de calidad área foliar, índice de vigor, relación biomasa aérea/radical, peso seco total y índice de calidad de Dickson. Portoviejo, Ecuador 2014.

F.V.	Variables integrales de calidad				
	Área foliar ^a (cm ²)	Índice de vigor	Relación biomasa A/R	Peso seco total (g)	Índice de calidad de Dickson
Tipo de planta	0.5321 ^{ns}	0.2835 ^{ns}	0.0001**	0.0001**	0.0001**
Estado fenológico	0.0006**	0.4944 ^{ns}	0.5910 ^{ns}	0.0001**	0.0001**
Tipo de planta*Estado fenológico	0.6854 ^{ns}	0.8944 ^{ns}	0.2824 ^{ns}	0.0001**	0.0340*
C.V. %	17.25	11.50	16.37	8.26	12.22

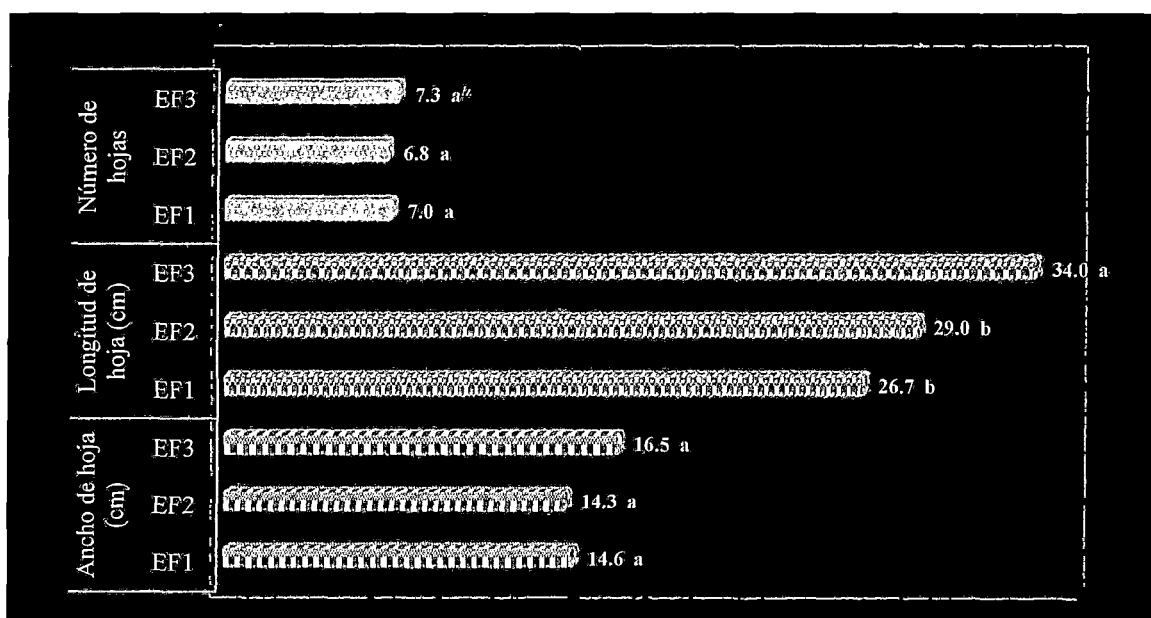
^a Los datos fueron normalizados previo al análisis de varianza con transformación de arco-seno \sqrt{x}

En la **Figura 26**, se muestra los resultados del área foliar alcanzados por los tres estados fenológicos evaluados. Se evidencia que, según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) el estado EF3 con 2176.4 cm² fue significativamente diferente a los estados EF1 y EF2 que solo alcanzaron 1508.5 y 1510.8 cm², respectivamente. El mayor área foliar alcanzado por el estado fenológico EF3 se debe a la mayor longitud de la lámina foliar tal como se observa en la **Figura 27**, puesto que el ancho y número de hojas no influyeron en el área foliar al ser estadísticamente iguales entre los estados fenológicos. Los resultados sugieren que el estado fenológico EF3 al alcanzar mayor área foliar fue más eficiente en la asimilación de carbono y acumulación de materia seca, con lo que finalmente logró un mejor desarrollo durante los 60 días de aclimatación. En este sentido, Hunt (2003) menciona que el área foliar es considerado como una medida de asimilación y acumulación de carbono por la planta. Debido al tamaño de la hoja, pueden existir diferencias en cuanto a la actividad fisiológica de la planta (Cayón, 2004), puesto que la actividad fotosintética está regulada por características de las hojas tales como edad y tamaño de la superficie foliar, estado de desarrollo de la planta y tipo de material de siembra (Galán y Robinson, 2013).



^{1/2} Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 26. Área foliar de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica, de acuerdo al estado fenológico. Portoviejo, Ecuador 2014.

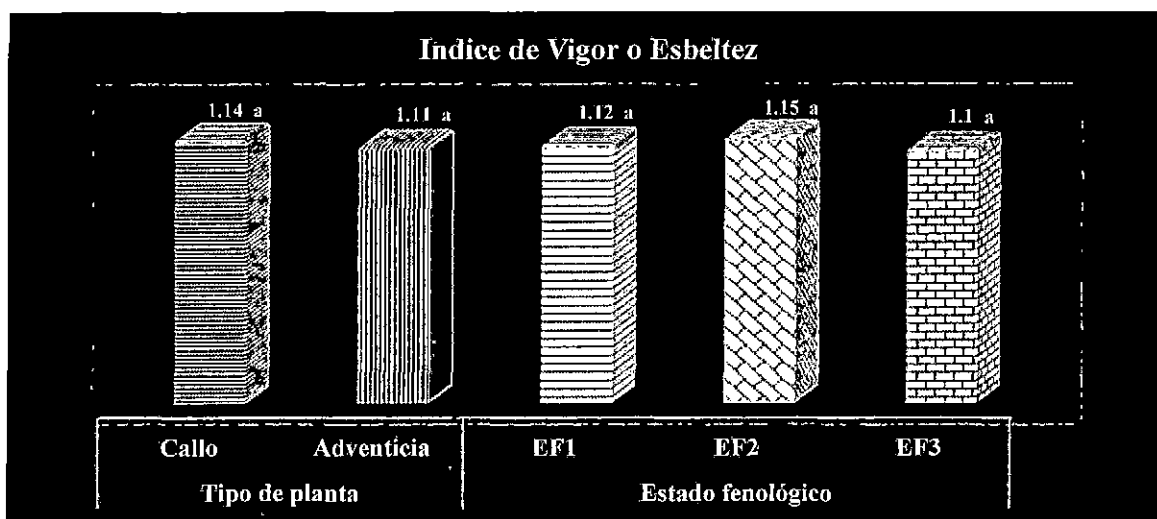


^{1/2} Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 27. Número de hojas y dimensiones de la lámina foliar de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica de acuerdo al estado fenológico. Portoviejo, Ecuador 2014.

El análisis de varianza no mostró significancia estadística para la variable índice de vigor o esbeltez en ninguno de los factores en estudio ni para su respectiva interacción, por lo que

esta variable no fue influenciada por el tipo de planta (callo y adventicia) ni por el estado fenológico (EF1, EF2 y EF3). Sin embargo en la **figura 28**, se muestran los resultados obtenidos para ambos factores, donde se puede apreciar que ambos tipos de planta independientemente del estado fenológico muestran un buen vigor, puesto que los valores están alrededor de la unidad. En este sentido, los resultados se asemejan a los obtenidos por Rodríguez y Ramírez (2006) quienes obtuvieron valores cercanos a la unidad en plántulas de banano de 12 semanas de edad.



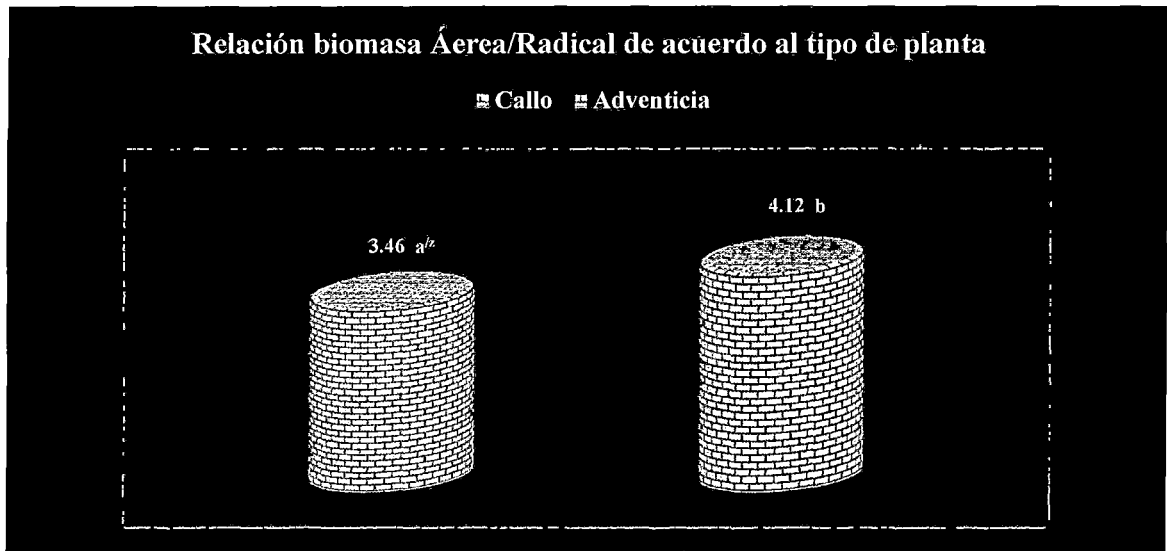
^a Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 28. Índice de vigor o esbeltez de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

Los resultados indican que ambos tipos de planta son de buena calidad y están bien proporcionadas o balanceadas, puesto que índices bajos menores a 6 indican que las plantas poseen mayor resistencia mecánica a factores abióticos adversos tales como viento y sequía (Alarcón, 1999; Rodríguez, 2008). Por su parte Prieto *et al* (2009) mencionan que plántulas con bajo índice de esbeltez son más vigorosas, mientras que con valores altos la plantas son desproporcionadas con tallos elongados y delgados.

Por otra parte, el análisis de varianza respecto a la variable relación biomasa aérea/radical solo mostró significancia estadística para el factor tipo de planta por lo que en la **figura 29**, se muestran los valores correspondientes. Se aprecia que las plántulas procedentes de tejido calloso alcanzan el menor valor con 3.46, siendo estadísticamente diferente a las plántulas adventicias con 4.12, los valores obtenidos son cercanos a los observados por Rodríguez y

Ramírez (2006) en plántulas de banano de 12 semanas de edad. Los resultados indican que las plántulas producidas a partir de tejido calloso presentan mejores atributos de calidad, puesto que según Rodríguez (2008) una planta de calidad debe mostrar una relación A/R lo más bajo posible, ya que de esta manera habrá una proporción mayor de raíces con respecto al follaje lo cual es ideal para superar el estrés de trasplante, más aún en lugares secos.



^{1/2} Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Figura 29. Relación biomasa aérea/radical de plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

El fundamento técnico para el uso e importancia de esta variable se basa en el balance hídrico de la planta, puesto que a medida que el follaje transpira necesita una cierta cantidad de raíces para compensar las pérdidas (Rodríguez, 2008). En este sentido Oliet (2000) menciona que en lugares particularmente menos favorecidos por las precipitaciones una relación baja entre la parte transpirante y la absorbente es conveniente para superar la etapa crítica del trasplante, de lo contrario la transpiración no estará compensada por la absorción.

Finalmente, el análisis de varianza reportó diferencias significativas para la interacción de factores (tipo de planta*estados fenológicos) de las variables peso seco e índice de calidad de Dickson, lo cual puede deberse a que estas variables son integradas por todas las anteriormente discutidas. El **cuadro 9**, muestra los promedios de ambas variables con la respectiva prueba de comparación de medias, donde se observa que para ambas variables el tratamiento planta de callo en estado fenológico EF3 presento los mayores promedios con

45.10 g de peso seco y 9.68 de índice de calidad, siendo por lo tanto el de mejor calidad y vigor. Varios son los autores que mencionan que a mayor valor del índice de calidad de Dickson mayor será la calidad de la planta, puesto que este índice es una medida integral que expresa el equilibrio entre la distribución de la biomasa y el vigor, lo cual es un indicador del potencial de la plántula para crecer y adaptarse a un ambiente determinado (González, 1993; Escobar, 1990; Reyes *et al*, 2005; Rodríguez, 2008; Arizaleta y Pire, 2008).

Cuadro 9. Comparación de medias del peso seco e índice de calidad de Dickson en plántulas de banano cv. Williams propagadas en cámara térmica. Portoviejo, Ecuador 2014.

Tratamiento		Peso seco (g)	Índice de calidad de Dickson
Tipo de planta	Estado fenológico		
Callo	EF1	40.84 b*	8.99 a
	EF2	32.90 c	7.54 b
	EF3	45.10 a	9.68 a
Adventicia	EF1	30.34 c	5.97 c
	EF2	29.27 c	5.50 c
	EF3	31.90 c	6.15 c

*Los promedios dentro de columnas seguidos con la misma letra son estadísticamente iguales según el test de Tukey ($p \leq 0.05$)

Los resultados obtenidos se asemejan a los obtenidos por Rodríguez y Ramírez (2006) quienes utilizaron las mismas variables para estimar la calidad de plántulas de banano bajo el efecto de distintos sustratos, siendo uno de los pocos trabajos reportados en la literatura para determinar la calidad de plántulas de banano a través de este tipo de índices que integran diversidad de variables. Cabe aclarar que tanto el índice de esbeltez, relación biomasa aérea/radical e índice de calidad de Dickson fueron desarrollados para estimar la calidad de plántulas en viveros forestales, razón por la cual existe escasa información sobre su uso en especies herbáceas como las musáceas y otras especies frutales. Sin embargo, recientemente se comienza a evidenciar su uso potencial en otras especies tales como pimiento y café (Arizaleta y Pire, 2008; Guzmán *et al*, 2008), por lo tanto su aplicación puede ser de gran utilidad para determinar índices de calidad en plántulas de banano en fase de aclimatación.

V. CONCLUSIONES

1. La mayor tasa de multiplicación se obtuvo con la dosis de 40 mg L⁻¹ de bencilaminopurina (BAP).
2. Con la dosis de 80 mg L⁻¹ de bencilaminopurina (BAP) se observó la presencia de plántulas anormales.
3. No se evidenció ningún efecto del bioestimulante Basfoliar sobre la tasa de multiplicación.
4. Las plántulas formadas a partir de tejido calloso, tuvieron mayor potencial de enraizamiento en agua, independientemente del estado fenológico evaluado.
5. El estado fenológico EF3 (plántulas con hoja bandera y más de una hoja normal formada) fue el que presentó el mayor potencial de enraizamiento en agua independientemente del tipo de planta evaluada.
6. Las plántulas provenientes de tejido calloso y cosechadas en el estado fenológico EF3, fueron de mejor calidad después de los 60 días de aclimatación, de acuerdo al mayor Índice de calidad de Dickson y al peso seco total alcanzado.
7. El Índice de calidad de Dickson se presenta como una buena alternativa para determinar la calidad de plántulas de banano en vivero, sin embargo habría que realizar estudios de su comportamiento en campo, para relacionarlos con los índices alcanzados en vivero.

VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados y discusiones recomienda lo siguiente:

1. Con fines de mejorar la tasa de multiplicación, se recomienda evaluar otros tipos de citocininas sintéticas, ajustar dosis y formas de aplicación.
2. Evaluar el efecto de bioestimulantes en cámara térmica, aplicándolos en horas de la tarde cuando la temperatura disminuye, con la finalidad de reducir el riesgo de que se destruyan los componentes del producto por efecto de altas temperaturas, así como también permitir una mejor absorción por parte de las raíces.
3. Evaluar la estabilidad genética de plántulas de banano obtenidas con altas dosis de bencilaminopurina (BAP), puesto que en el presente ensayo aunque no se lo determinó molecularmente hablando, se evidenció plántulas morfológicamente anormales con dosis de 80 mg L^{-1} de BAP.
4. Registrar el número de plántulas anormales, en futuras investigaciones donde se evalúen dosis crecientes de citocininas.
5. Evaluar otros ambientes de enraizamiento y ajustar dosis de auxinas con la finalidad de potencializar el enraizamiento de las plántulas extraídas de cámara térmica.
6. Estudiar a profundidad la relación de índices de calidad de Dickson obtenidos en plántulas de banano durante la aclimatación con su posterior comportamiento en campo, y así determinar el mejor índice a nivel de vivero.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdelwahd, R; Hakam, N; Labhilili, M; Udupa, S. 2008. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics *in vitro* plantlet regeneration of faba bean. *African Journal of Biotechnology* 7: 997-1002.
2. Adelaja, B. 1995. Técnica de multiplicación rápida en la explotación de bananos y plátanos. *Musafrica* 12 (8): 6.
3. AEBE (Asociación de Exportadores Bananeros del Ecuador). 2011. La industria bananera Ecuatoriana año 2010. Guayaquil, Ecuador. AEBE. 17 p.
4. Aguilar, M; Reyes, G; Acuña, M. 2004. Métodos alternativos de propagación de semilla agámica de plátano (*Musa sp*). Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. 20 p. (Serie Técnica no. 1).
5. Aguilar, M; Ortiz, J; Sandoval, J. 2008. Embriogénesis somática en bananos y plátanos: Perspectivas y Limitaciones. Turrialba, Costa Rica. CORBANA – CATIE. 65 p. (Boletín Técnico no. 27).
6. Aguilar, C; Daga, W. 2011. Perú: Una década de éxitos en la exportación de bananos orgánicos. Turrialba, Costa Rica. Musalac-Bioiversity International. 11 p. (Boletín Musalac vol. 2 no. 1).
7. Aguas, A; Martínez, M. 2003. Técnicas rápidas para la multiplicación de semillas de plátano. Ecorregión Caribe. 7 p. (Boletín divulgativo no. 69).
8. Albarrán, J; González, A; González, O; Salazar, E; Trujillo, I; Fuchs, M; Torrealba, M. 2009. Embriogénesis somática a partir de flores masculinas de pineo gigante y cambur manzano. *Agronomía Tropical* 59(4): 363-371.
9. Alves, G. 2012. Protocolo para micropropagação de bananeira ‘Thap Mao’. Tese. D.Sc. UNESP, Ilha Solteira, Brasil. 121 p.
10. Álvarez, A; Ceballos, G; Cañán, L; Rodríguez, D; González, S; Pantoja, A. 2013. Producción de material de siembra limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 16 p. (Publicación CIAT no. 384).

11. Alarcón, B. 1999. Crecimiento inicial y calidad de plantas de *Pinus greggii* Engelm., bajo diferentes condiciones de fertilidad. Tesis Mg. Sc. Montecillo, México. COLPOS. 123 p.
12. Alvard, D; Cote, F; Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 32: 55-60.
13. Al-Amin, M; Karim, M; Amin, M; Rahman, S; Mamun, N. 2009. In vitro micropropagation of banana (*Musa* spp.). *Bangladesh Journal Agricultural Research* 34(4): 645 – 659.
14. Amiot, M; Forget, F; Goupy, P. 1996. Polyphenol, oxidation and colour: progress in the chemistry of enzymatic and non-enzymatic derived products. *Herba-Polonica* 42: 237-247.
15. Anderson, U; Ievinsh, G. 2002. Changes of morphogenic competence in mature *Pinus sylvestris* L. buds *in vitro*. *Annals of Botany* 90(2):293-298.
16. Aristizábal, M; Jaramillo, C. 2010. Identificación y descripción de las etapas de crecimiento del plátano Dominicano-Hartón (*Musa* AAB). *Agronomía* 18 (1): 29 – 40.
17. Armijos, F. 2008. Principales tecnologías generadas para el manejo del cultivo de banano, plátano y otras musáceas. Guayaquil, Ecuador. INIAP. 64 p. (Boletín Técnico no. 131).
18. Arinaitwe, G; Rubaihayo, P; Magambo, M. 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 86:13 – 21.
19. Arias, O. 1993. Comercial micropropagation of banana. *En*: Proceedings of the Workshop on “Biotechnology Applications for Banana and Plantain Improvement”, Held in San José, Costa Rica, 27 – 30 January, 1992. INIBAP (Eds.) 1993, Montpellier, France. 249 p.
20. Arias, P; Dankers, P; Liu, P; Pilkauskas, P. 2004. La economía mundial del banano 1985-2002. Roma, Italia. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 104 p.
21. Arizaleta, M; Pire, R. 2008. Respuesta de plántulas de café al tamaño de la bolsa y fertilización con nitrógeno y fósforo en vivero. *Agrociencia* 42:47-55.
22. Azcón, J; Talón, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal 2da Ed. Madrid, España. McGRAW-HILL – INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. 651 p.
23. Azofeifa, A. 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana* 20(1): 153-175.

24. Baldini, E. 1992. *Arboricultura General*. Madrid, España. Mundi-Prensa. 375p.
25. Baiyeri, K; Aba, S. 2005. Response of *Musa* species to macropropagation 1: genetic and initiation media effects on number, quality and survival of plantlets at pre-nursery and early nursery stages. *African Journal of Biotechnology* 4(3): 223-228.
26. Barajas, J; Aldrete, A; Vargas, J; López, J. 2004. La poda química en vivero incrementa la densidad de raíces en árboles jóvenes de *Pinus greggii*. *Agrociencia* 38: 545 – 553.
27. Basail, M; Kosky, R; Medero, V; Otero, E; Torres, M; Cabrera, M; López, J; García, M; Santos, A; Rayas, A; Ventura, J; Bauta, M; Álvez, M; Paz, E; Beovidez, Y; Albert, J; Espinoza, A; García, J. 2006. Influencia de reguladores e inhibidores del crecimiento en la multiplicación de brotes axilares del cultivar híbrido ‘FHIA-21’ (AAAB) en sistema de inmersión temporal. *Biotecnología Vegetal* 6(1): 23 – 28.
28. Basail, M; Medero, V; Ventura, J; Otero, E; Torres, M; López, J; Cabrera, M; Santos, A; Rayas, A; Bauta, M; Beovidez, Y. 2012. Multiplicación del clon de banano ‘FHIA-18’ (AAAB) en sistema de inmersión temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología* 14(1): 8 – 19.
29. Bailey-Serres, J; Voeselek, L. 2008. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review Plant Biology*. 59: 313–339.
30. Bairu, M; Stirk, W; Doležal, K; Van Staden, J. 2008. The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars Williams and Grand Naine (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 95: 373-379.
31. Bassirirad, H. 2000. Kinetics of nutrient uptake by roots: responses to global change. *New Phytologist* 147: 155–169.
32. Belalcázar, S. (Ed). 1991. *El Cultivo del Plátano en el Trópico*. Cali, Colombia. ICA-INIBAP-CIID-COMITECAFE. 376 p.
33. Bibadabi, S; Meon, S; Mahmood, M. 2010. Study of genetic and phenotypic variability among somaclones induced by BAP and TDZ in micropropagated shoot tips of banana (*Musa* spp.) using RAPD markers. *Journal of Agricultural Science* 2(3): 49 – 60.
34. Biberach, F. 1995. *Embriogénesis somática y regeneración de plantas en cultivares de Musa sp*. Tesis Mg. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 86 p.
35. Biju, S; Kurien, S; Mohanakumaran, N. 1997. Cambios en el punto de crecimiento del cultivar “Red Banana” durante diferentes fases fisiológicas. *InfoMusa* 6: 19-21.

36. Birchler, T; Rose, R; Royo, A; Pardos, M. 1998. La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Sistemas de Recursos Forestales* 7: 109-121.
37. Boche, A. 1996. Evaluación de los parámetros de producción entre las variedades de banano (*Musa sapientum* L.) Gran Nain y Williams en el departamento de Izabal, Guatemala. Tesis de Ing. Agr. Guatemala, Universidad Rafael Landívar. 60 p.
38. Boyer, J. 1985. Water transport. *Annual Review Plant Physiology* 36: 473-476.
39. Bonte, E; Verdonck, R; Gregoire, L. 1995. Propagación rápida de bananos y plátanos en Camerum. *Tropicultura* 13(3):109-116.
40. Bonte, E; Verdonck, R; Gregoire, L. 1999. La multiplicación rapide du bananier et du plantain au Cameroun. *Tropicultura* 13(3): 109 – 116.
41. Borges, A; Souza, da S. (Ed). 2004. O Cultivo da Bananeira. Cruz das Almas, Brasil. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 279 p.
42. Blomme, G; Swennen, R; Tenkouano, A. 2000. Assessment of variability of the root system characteristics of banana (*Musa* spp) according to genome group and ploidy level. *Infomusa* 9: 4-7.
43. Blomme, G; Teugels, K; Blanckaert, I; Sebuwufu, G; Swennen, R; Tenkouano, A. 2003. Methodologies for root system assessment in bananas and plantains (*Musa* spp.). pp 43 – 57. **En:** *Banana Root System: Towards a better understanding for its productive management*. Turner and Rosales (Eds). Proceedings of an international symposium held in San José, Costa Rica, 3-5 November 2003.
44. Blomme, G; Swennen, R; Tenkouano, A; Turyagyenda, F; Soka, G; Ortiz, R. 2008. Comparative study of shoot and root development in micropropagated and sucker derived banana and plantain (*Musa* spp.) plants. *Journal of Applied Biosciences* 8(2): 334 - 342.
45. Castro, D; Díaz, J; Montoya, N. 2002. Propagación clonal de bananos en biorreactores de inmersión temporal. 44 – 48 pp. **En:** *Memorias de la XV reunión internacional ACORBAT 2002*. Cartagena de Indias, Colombia.
46. Cayón, D. 2004. Ecofisiología y productividad del plátano (*Musa* AAB Simmonds). 172 – 183 pp. **En:** *Memorias de la XVI Reunión Internacional ACORBAT 2004*, Oaxaca, México.
47. Canchignia, H; Espinoza, M; Benavides, G; Saucedo, S; Carranza, M; Cevallos, O. 2008a. Propagación vegetativa de plátano y banano con la aplicación de

- bencilaminopurina (6-BAP) y ácido indolacético (AIA). *Ciencia y Tecnología* 1: 11-15.
48. Canchignia, H; Sigcha, L; Toaquiza, J; Ramos, L; Saucedo, S; Carranza, M; Cevallos, O. 2008b. Alternativas para la propagación *in vitro* de plátano variedad “Maqueño” (*Musa balbisiana* AAB). *Ciencia y Tecnología* 1: 43-48.
 49. Cañal, M; Rodríguez, R; Fernández, B; Sánchez, R; Majada, J. 2001. Fisiología del cultivo *in vitro*. *Biotecnología vegetal* 1: 3-9.
 50. Cardone, S; Olmos, S; Echenique, V. 2010. Variación Somaclonal. *En: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*, Capítulo 5, pp. 229 – 242. Levitus, G.; Echenique, V.; Rubinstein, C.; Hopp, G.; Mroginski, L. (Eds). Buenos Aires, Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
 51. Cetina, A; González, H; Vargas, H. 1999. El manejo en vivero de *Pinus greggii* Engelm. y la calidad de planta. *Agrociencia* 33: 423 – 430.
 52. Cordeiro, Z; Dos Santos, W. 1991. Propagación de bananos por división de rizoma. EMBRAPA/CNPMF. *Banana emfoca*. (45):1-2.
 53. Cordeiro, J; Mesquita, L. 2000. Manejo integrado das pragas, doenças e plantas daninhas. pp. 15 – 20. *En: Cordeiro, J. (Ed). Banana Fitossanidade: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Alma, Brasil.
 54. Coto, J. 2009. Guía para la multiplicación rápida de cormos de banano y plátano 2da edición. La Lima, Honduras. FHIA. 14 p.
 55. Costa, F; Pereira, J; Pereira, M; Oliveira, J. 2006. Efeito da interação entre carvão ativado e 6-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. Grand Naine (AAA). *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2): 280-283.
 56. Costa, F; Pasqual, M; Santos, A; Castro, E; Scherwinski, J. 2008. Modificações na anatomia foliar de bananeiras durante o proceso de micropropagação. *Interciencia* 33: 663-667.
 57. Colmenares, M; Giménez, C. 2007. Inducción de yemas múltiples en *Musa* (AAB) plátano “Hartón Gigante” con inmersión temporal. *Ciencia* 15(3):331 – 340.
 58. Concepción, O; Nápoles, L; Pérez, A; Hernández, M; Peralta, M; Trujillo, R. 2005. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo *in vitro* de ápices de guayaba (*Psidium guajava* L.). Relación entre el origen del explante y el contenido de compuestos fenólicos. *Cultivos Tropicales* 26(1): 33 – 39.
 59. Chang, S; Shu, H. 2013. A method to suppress the browning in banana (*Musa* AA) embryogenic callus induced. *Research Journal of Biotechnology* 8 (4): 63 – 69.

60. Chen, H; Qualls, R; Miller, G. 2002. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. *Environmental and Experimental Botany* 48: 119–128.
61. Crops Research Institute (CRI). 1995. Técnica de división de cormos: tecnología apropiada para la propagación rápida de retoños de plátano. *Musafrica* 3(6):1-2.
62. Crozon, J; Neyroud, J. 1990. Etude des caractéristiques physiques de quelques substrats en horticulturas. *Review Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticultura* 22 (6): 416-441.
63. Da Silva, F; Scherwinski, J; Alves, M; Peres, J. 2006. Efeito da interação entre carvão ativado e 6-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. Grand Naine (AAA). *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2): 280-283.
64. Dawood, T; Rieu, I; Wolters-Arts, M; Derksen, E; Mariani, C; Visser, E. 2013. Rapid flooding-induced adventitious root development from preformed primordia in *Solanum dulcamara*. *AoB Plants* 6: 1 – 13.
65. Dayarani, M; Dhanarajan, M; Uma, S; Durai, P. 2013. Macro-propagation for regeneration of wild bananas (*Musa* spp.). *Advanced BioTech* 12(12):16 – 17.
66. De Klerk, G; Van der Krieken, W; De Jong, J. 1999. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 35:189-199.
67. Desrochers, A; Thomas, B. 2003. A comparison of pre-planting treatments on hardwood cuttings of four-hybrid poplar clones. *New Forests* 26: 17–32.
68. Demissie, A. 2013. Effects of different combinations of BAP (6-benzyl amino purine) and NAA (naphthalene acetic acid) on multiple shoot proliferation of plantain (*Musa* spp.) cv. Matoke from meristem-derived explant. *Academia Journal of Biotechnology* 1(5): 071-080.
69. Dickson, A; Leaf, L; Hosner, J. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *The Forestry Chronicle* 36 (1): 10-13.
70. Díaz, M. 2002. Efecto de compuestos obtenidos a partir de vermicompost sobre los vegetales. *En: Primer encuentro Provincial de la Agricultura Orgánica. La Habana, Cuba.* 104 p.
71. Díaz, B; Héctor, E; Torres, A; Cabañas, M; Garcés, N; Izquierdo, H; Núñez, M; Iglesias, R. 2004. Empleo de productos bioactivos cubanos como sustitutos de los reguladores del crecimiento en la propagación del plátano (AAB) en fase de establecimiento *in vitro*. *Alimentaria* 51: 103-107.

72. Domínguez, L; Murrias, G; Herrero, N; Peñuelas, J. 2001. Cultivo de once especies mediterráneas en vivero: Implicaciones prácticas. *Ecología* 15: 213 – 223.
73. Dodds, J. 1985. Experimentos en cultivo de tejidos de plantas 2 edición. New York, USA. 232 p.
74. Dharaneeswara, D; Suvarna, D; Muralidhra, D. 2014. Effects of 6-benzylaminopurine (6-BAP) on in vitro shoot multiplication of Grand Naine (*Musa* sp.). *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* 5(1):36-42.
75. Escobar, R. 1990. Análisis de algunos elementos básicos involucrados en la producción artificial de plantas de especies nativas. *Bosque (Chile)* 11(1): 3 – 9.
76. Evans, E. 2003. Aerenchyma formation. *New Phytologist* 161:35–49.
77. Evans, D; Coleman, J; Kearns A. 2003. *Plant Cell Culture*. USA. BIOS. 153-155.
78. Ezhova, T. 2003. Genetic control of totipotency of plant cells in an *in vitro* culture. *Russian Journal of Developmental Biology* 43: 197-204.
79. Fairlie, A. 2008. Asociaciones de pequeños productores y exportaciones de banano orgánico en el valle del Chira. Proyecto comercio y pobreza en América Latina. Lima, Perú. CIES. 127 p. (Informe final).
80. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2010. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo: La inseguridad alimentaria en crisis prolongada. Roma, Italia. FAO. 68 p.
81. FAOSTAT | © FAO Dirección de Estadística 2013 | 26 julio 2013. [Consultado en línea]. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>
82. Falah, M; Wajima, T; Yasutake, D; Sago, Y; Kitano, M. 2010. Responses of root uptake to high temperature of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in soil-less culture. *Journal of Agricultural Technology* 6(3): 543-558.
83. Fahn, A; Stoler, S; First, T. 1963. Vegetative shoot apex in banana and zonal changes as it becomes reproductive. *Botanical Gazette* 12(4): 246 250.
84. Faturoti, B; Tenkouano, A; Lemchi, J; Nnaji, N. 2002. Rapid multiplication of plantain and banana: Macropropagation Techniques. A pictorial guide. Ibadan, Nigeria: IITA. 8 p. (A pictorial guide).
85. Florio, S; Mogollón, N. 2011. Efecto de dos citocininas y dos estados físicos del medio de cultivo sobre la multiplicación *in vitro* del plátano ‘Hartón Gigante’ (*Musa* AAB). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28(1): 89-98.

86. Galán, V; Robinson, J. 2013. Fisiología, clima y producción del banano. 43 – 57 pp. *En*: Memoria de la XX Reunión Internacional ACORBAT 2013, Fortaleza, Brasil.
87. Gabriel, M; Atis, M; Badar, A; Pascua, M. 2013. Development of low-cost and rapid multiplication techniques of tissue-cultured *Musa acuminata* (AAA Group) cv. 'Lacatan' banana seedlings. *MMSU Science and Technology Journal* 3(1): 108 – 124.
88. García, L; Pérez, P; Bermúdez, I; Orellana, P; Veitía, N; García, L; Padrón, Y; Romero, C. 2006. Nuevo protocolo para la rápida inducción de yemas adventicias y la regeneración de plantas en banano cv. 'Grande Naine' (*Musa* AAA). *Bioteología Vegetal* 6(1): 15 – 21.
89. García, L; Pérez, P; Bermúdez, I; Orellana, P; Veitía, N; García, L; Padrón, Y; Romero, C. 2002. Desarrollo de yemas adventicias en banano (*Musa* sp.) cv. Gran Enano (AAA). *Bioteología vegetal* 2: 47 – 49.
90. Giri, A. 2012. Effect of acute heat stress on nutrient uptake by plant roots. Toledo, USA. Mg.Sc. Thesis. University of Toledo. 54 p.
91. Giménez, C; de García, E; de Enrech, N; Blanca, I. 2001. Somaclonal variation in banana: Cytogenetic and molecular characterization of the somaclonal variant CIEN BTA-03. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 37: 217-222.
92. Gómez, R; Gerth, A; García, L; Freire, M; Pérez, B; Herrera, I. 1995. Obtención de callos y regeneración de plantas en diferentes clones de plátano y banano. *Agronomía Tropical* 54(2):233-246.
93. Gómez, R. 1998. Embriogénesis Somática. *En*: Pérez-Ponce, J.N (Ed) Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología pp 57-79 .Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba.
94. Gomes, J; Couto, L; Leite, G; García, S. 2002. Parámetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore* 26(6): 655 – 664.
95. González, M. 1993. Estudio del efecto de diferentes regímenes de acondicionamiento de plantas de Raulí (*Nothofagus alpina*) a raíz desnuda. Tesis Ing. For. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. 117 p.
96. González, M; Morejón, R; Portilla, M. 2007. Establecimiento de las concentraciones óptimas de hormonas para el cultivo in vitro de especies de *Coffea arabica* L. *En*: XII Congreso Científico del Instituto Nacional de Ciencia Agrícola (INCA). La Habana, Cuba.

97. González, S; Silva, J; Espinoza, A; Ros, C; Acosta, L; Meneses, S; Hernández, M. 2002. La embriogénesis somática en *Ipomoea*: Una posibilidad para la multiplicación y conservación de los recursos vegetales. *Biodiversidad* 4:15-21.
98. González, O; Morejón, O; Hernández, M; Coronado, M; Silva, J. 2008. Estudio histológico de la embriogénesis somática: Una necesidad para el conocimiento de los procesos biotecnológicos y la conservación de la biodiversidad en el cultivo del boniato *Ipomoea batatas* L. Centro Iberoamericano de la biodiversidad (CIBIO).
99. Gökbayrak, Z; Dardeniz, A; Ankan, A; Kaplan, U. 2010. Best duration for submersion of grapevine cuttings rootstock 41B in water to increase root formation. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8(3-4): 607 – 609.
100. Goswami, N; Handique, P. 2013. Explants size response to *in vitro* propagation of *Musa* (AAA Group) ‘Amritsagar’ *Musa* (AAB Group) ‘Malbhog’ and *Musa* (AAB Group) ‘Chenichampa’ banana. *Indian Journal of Applied Research* 3(8): 40 – 43.
101. Guzmán, A; Borges, L; Pinzón, L; Rufiz, E; Zuñiga, J. 2012. Efecto del ácido salicílico y la nutrición mineral sobre la calidad de plántulas de chile habanero. *Agronomía Mesoamericana* 23(2):247-257.
102. Gray, D. 2000. Nonzygotic Embryogenesis. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*. USA, CRC Press. pp 175 – 190.
103. Hao, H; Jiang, C; Zhang, S; Tang, Y; Shi, L. 2012. Enhanced thermal-tolerance of photosystem II by elevating root zone temperature in *Prunus mira* Koehne seedlings. *Plant and Soil* 353(1-2): 367-378.
104. Haq, I; Ahmad, T; Hafiz, I; Abbasi, N. 2009. Influence of microcutting sizes and IBA concentrations on in vitro rooting of olive cv. ‘DOLCE AGOGIA’. *Pakistan Journal of Botany* 41(3): 1213-1222.
105. Hazarica, B. 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Horticulturae* 108(2): 105–120.
106. Haddad, G; Haddad, O; Rodríguez, H; Pargas, R; Manzanilla, E; Muñoz, D. 1994. Multiplicación del plátano 'Hartón Enano' mediante secciones de cormos. Maracay, Venezuela. *En: Memorias del Congreso Nacional de Fruticultura*.
107. Hartmann, H; Kester, D. 1998. Propagación de plantas; principios y prácticas, 6ta reimpression. México, DF. Continental. 785 p.
108. Héctor, E; Díaz, B; Torres, A; Garcés, N; Huelva, R; Roque, A; Godoy, L; Isidró, M; Tirado, A; Cabañas, M; Cremé, Y; Díaz, A; Proenza, R. 2002. Efecto del Liplant y el

- Biostan en la propagación *in vitro* del plátano macho (*Musa* sp. AAB). **En:** Memorias AGROTROP/UNAH. La Habana, Cuba.
109. Héctor, E; Torres, A; Algoe, S; Cabañas, S; López, A. 2007. Propagación *in vitro* del plátano (*Musa* sp. AAB) clon sobrino con los bioestimulantes cubanos BB-6 y Biostan como sustitutos de los reguladores del crecimiento. *Cultivos Tropicales* 28 (1): 13-18.
 110. Hernández, E. 2008. Regeneración *in vitro* de *Heliconia* spp. vía organogénesis directa. Tesis Mg. Sc. Montecillo, México. COLPOS. 111 p.
 111. Herrera, M; Colonia, L. 2011. Guía Técnica de Manejo Integrado del Cultivo de Plátano. Jornada de Capacitación UNALM – AGROBANCO. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina, Oficina Académica de Extensión y Proyección Social. 33 p.
 112. HortNews. 2012. Growing bananas. Horticultural, agricultural news and the latest in the field of horticulture: East African Fresh Produce Journal. www.hortinews.co.ke All Rights Reserved.
 113. Huang, B; Rachmilevitch, S; Xu, J. 2012. Root carbon and protein metabolism associated with heat tolerance. *Journal of experimental botany* 63(9): 3455-3465.
 114. Hunt, R. 2003. Growth analysis individual plants. 579-588. **En:** Thomas, B., D.J. Murphy and B.G. Murray (Eds). *Encyclopaedia of applied plant sciences*. Academic Press, London. 1618 p.
 115. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2012. Situación de la Seguridad Alimentaria en las Américas. **En:** XLII Asamblea General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). San José, Costa Rica. Abril del 2012. 50 p.
 116. INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2010. Análisis del sistema agroalimentario del banano en el Ecuador. Quito, EC. 27 p.
 117. INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). 2011. Tecnología para la producción rápida de semilla de banano (*Musa* spp) en campo. Piura, Perú. INIA. 12 p. (Cartilla técnica).
 118. Izquierdo, H; González, M; Núñez, M; Proenza, R; Álvarez, I. 2012. Efectos de la aplicación de un análogo espiroestano de brasinoesteroides *in vitro* plantas de banano (*Musa* spp.) durante la fase de aclimatización. *Cultivos Tropicales* 33 (1): 71-76.
 119. Jackson, M. 2002. Long-distance signaling from roots to shoots assessed: the flooding story. *Journal of Experimental Botany* 53: 175–181.

120. Jafari, N; Othman, R; Khalid, N. 2011. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. African Journal of Biotechnology 10(13):2446-2450.
121. Kabir, M; Baque, M; Nasiruddin, K. 2008. Eradication of banana bunchy top virus (BBTV) and banana mosaic virus (BMV) from infected plant of banana cv. Amritasagar through meristem culture. South Pacific Studies 29 (1): 17-41.
122. Kamle, M; Bajpai, A; Chandra, R; Kalim, S; Kumar, R. 2011. Somatic embryogenesis for crop improvement. GEF Bulletin of Biosciences 2(1):54-59.
123. Karim, M; Malek, M; Rahman, S; Al-Amin, M; Ruhul-Amin, M. 2009. *In vitro* propagation of banana. Bangladesh Journal of Agricultural Research 34(2): 269-278.
124. Kakimoto, T. 2003. Perception and signal transduction of cytokinins. Review Plant Biology 54: 605 – 627.
125. Kindimba, G; Msogoya, T. 2014. Effect of benzylaminopurine on *in vivo* multiplication of french plantain (*Musa* spp. AAB) cv. 'Itoke sege'. Journal of Applied Biosciences 74:6086– 6090.
126. Kumar, N; Krishnamoorthy, V; Nalia, L; Soorianathasundharam, K. 2002. Nuevo factor para estimar el área foliar total en banano. InfoMusa 11(2): 42 – 43.
127. Kwa, M. 1993. Architecture, morphogénèse et anatomie de quelques cultivars de bananiers. Thèse. Ph.D. Montpellier, France. USTL. 287 p.
128. Kwa, M. (2003) Activation de bourgeons latents et utilisation de fragments de tige du bananier pour la propagation en masse de plants en conditions horticoles *in vivo*. Fruits 58: 315–328.
129. Landis, T; Tinus, R; McDonald, S; Barnett, J. 1995. Nursery planning, development and management. Vol 1. Washington, DC. USDA-Forest Service. 188 p. (Container Tree Nursery Manual).
130. Landis, T; Tinus, R; Barnett, J. 1998. Seedling propagation. Vol 6. Washington, DC. USDA-Forest Service. 166 p. (Container Tree Nursery Manual).
131. Langford, E; Abram, B; Daruni, N; Jens, W; Choochad, S. 2012. Macropropagation of bananas for pig fodder in Northern Thailand. *En: International Scientific Conference on "Sustainable Land Use and Rural Development in Mountain Areas"* Hohenheim, Stuttgart, 16-18 April 2012. 15 p.
132. Latsague, M; Lara, J. 2003. Fenoles solubles totales y su relación con la inhibición de la rizogénesis en estacas de *Nothofagus pumilio* (Poepp. Et Endl.) Krasser. Guyana Botánica 60(2): 90-93.

133. Lescot, T; Staver, C. 2013. Bananas, plátanos y otras especies de musáceas. pp 17 – 35. **En:** Material de propagación de calidad declarada: Protocolos y normas para material propagado vegetativamente. FAO-CIP (Eds.), Roma, Italia. 157 p.
134. Lepoint, P; Iradukunda, F; Blomme, G. 2013. Macropropagation of *Musa* spp. in Burundi: A preliminary study. **En:** Banana systems in the humid highlands of Sub-Saharan Africa. Part 1, Chapter 7. Blomme, G; Vanlauwe, B; Asten, P. (Eds.). London, UK. *CAB International*. 58 – 65 pp.
135. Litz, R. 1993. Organogenesis and somatic embryogenesis. *Acta Horticulturae*. 336: 199-205.
136. López, Z. 2010. Organogénesis directa de *novo* en *Musa AAA* “Enano Gigante” y “FHIA-23”. Tesis Mg. Sc. Montecillo, México. COLPOS. 70 p.
137. López, J; Gómez, R; Toledo, H; Montano, N; Rayas, A; Reinaldo, D; Chong, B; Cabrera, M; Santos, A; Ventura, J; Medero, V; García, M; Basail, M; Cantero, A; Arbel, J. 2005. Evaluación en campo de plantas regeneradas por embriogénesis somática a partir de ápices de brotes de yemas axilares en cv. ‘Navolean’ (*Musa* spp., AAB). *Biotecnología Vegetal* 5(2): 115 – 119.
138. Loeillet, D. 2012. Mercado bananero internacional: De un mundo al otro. **En:** II Conferencia del Foro Mundial bananero celebrado en Guayaquil, Ecuador, 28-29 febrero 2012. 1 – 5 pp.
139. Luna, M; Enríquez, J; Velasco, V; Chávez, J. 2010. Efecto del sustrato y fertirriego en el crecimiento inicial de vitro-plantas de *Musa* sp. cv. Roatán. *Naturaleza y Desarrollo* 8(2): 39 – 48.
140. Mathers, H. 2003. Summary of temperature stress issues in nursery containers and current methods of protection. *HortTechnology* 13:617-623.
141. Mathers, H; Lowe, S; Scagel, C; Struve, D; Case, L. 2007. Abiotic factors influencing root growth of woody nursery plants in containers. *HortTechnology* 17(2):151-162.
142. Markham, J; Bremer, D; Boyer, C; Schroeder, K. 2011. Effect of container color on substrate temperatures and growth of red maple and red bud. *Horticultural Science* 46(5):721–726.
143. Martín, L; Pezeshki, S; Shields, F. 2004. High oxygen level in a soaking treatment improves early root and shoot development of black willow cuttings. *The Scientific World Journal* 4: 899-907.

144. Martín, K; Zhang, C; Slater, A; Madassery, J. 2007. Control of shoot necrosis and plant death during micropropagation of banana and plantains (*Musa* spp.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 88:51-59.
145. Martínez, G; Tremont, O; Hernández, J. 2004. Manual técnico para la propagación de musáceas. *Revista Digital CENIAP HOY*. Disponible en: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n4/texto/gmartinez.htm
146. Martínez, F. 2009. Multiplicación de ornamentales por esqueje de tallo. *En: "Planteles, semilleros y viveros"*. Ediciones de Horticultura. pp 83-102. (Compendio de Horticultura no. 13).
147. Martínez, A; Cayón, D. 2011. Dinámica del crecimiento y desarrollo del banano (*Musa* AAA Simmonds cvs. Gran Enano y Valery). *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 64(2): 6055-6064.
148. Manzur, D. 2001. Propagación masiva *in situ* del híbrido de plátano FHIA-20 utilizando bencilaminopurina. *InfoMusa* 10 (1) 3 – 4.
149. Madhulatha, P; Anbalagan, M; Jayachandran, S; Sakthivel, N. 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 76:189-192.
150. Matsumoto-Kitano, M; Kusumoto, T; Tarkowski, P; Kinoshita-Tsujimura, K; Václavíková, K; Miyawaki, K; Kakimoto, T. 2008. Cytokinins are central regulators of cambial activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 105(50):20027–20031.
151. Mahdavi, F; Sariah, M; Puad, M; Maziah, M. 2010. Micropropagation of some Malaysian banana and plantain (*Musa* sp.) cultivars using male flowers. *African Journal of Biotechnology* 9(16): 2360-2366.
152. Margara, J. 1988. *Multiplicación Vegetativa y Cultivo in vitro*. Madrid, España. Mundi-Prensa. 232 p.
153. MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca) 2013. Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (SINAGAP). Cultivo de banano: Superficie, Producción y Rendimiento [Base de datos en línea] Ecuador, 2013. Disponible en: <http://servicios.agricultura.gob.ec/sinagap/index.php/superficie-produccion-y-rendimiento> [Consultado el 26 de Julio del 2013].

154. Meza, R; Ruiz, F; Navejas, J. 2009. Guía para la producción de plantas y plantación con especies nativas. México, DF. INIFAP-SAGARPA. 32 p. (Folleto para productores no. 4).
155. Mendonça, V; Contijo, T; Abreu, N; Dantas, D; Martins, P. 2003. Propagação da bananeira e cuidados na instalação do pomar. Revista Científica Eletrônica de Agronomia no. 3, UFLA. 11 p.
156. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science 7(9), 405-410.
157. Montoya, M. 1993. Manual Práctico de Propagación de Plantas. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 106 p.
158. Molina, E; Martínez, E. 2004. Comportamiento agronómico y fenológico del cultivar plátano cuerno (*Musa* spp. AAB) propagado a través de la técnica de reproducción acelerada de semilla en dos localidades del departamento de Chinandega. Tesis. Ing. Agr. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. 33 p.
159. Moreira-Dias, J; Molina, R; Borbón, Y; Guardiola, J; García-Luis, A. 2000. Direct and indirect shoot organogenic pathways in epicotyl cuttings of troyer citrange differ in hormone requirements and in their response to light. Annals of Botany 85: 103-110.
160. Müller, D; Leyser, O. 2011. Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. Annual Botany 107(7):1203–1212.
161. Murray, D. 1960. The effect of deficiencies of the major nutrients on growth and leaf analysis of the banana. Tropical Agricultural 37:97-106.
162. Muhammad, A; Rashid, H; Hussain, I. 2007. Proliferation rate effects of BAP and kinetin on banana (*Musa* spp. AAA Group) ‘Basrai’. HortScience 42(5):1253–1255.
163. McMichael, B; Burke, J. 2002. Temperature effects on root growth pp 717-728. *En: Plant roots: the hidden half* three edition. Waisel, Y; Eshel, A; Kafkafi, L. (Eds.) New York, US. 2002.
164. McNamara, S; Mitchell, C. 1990. Adaptive stem and adventitious root responses of two tomato genotypes to flooding. HortScience 114:976-980.
165. McNamara, S; Mitchell, C. 1991. Roles of auxin and ethylene in adventitious root formation by a flood-resistant tomato genotype. HortScience 26(1):57-58.
166. Msogoya, T; Mwakisitu, J. 2014. Effect of thidiazuron on in vivo shoot proliferation of popular banana (*Musa* spp.) cultivars in Tanzania. Journal Applied Bioscience 81:7214 – 7220.

167. Mwangi, M; Bandyopandhyay, R; Ragama, P; Tushemereirwe, W. 2007. Assesment of banana planting practice and cultivar tolerance in relation to management of *Xathomonas campestris* pv *musacearum*. *Crop protection* 26: 1202-1208.
168. Navarro, W; Perea, M. 1996. Técnicas *in vitro* para la producción y mejoramiento de plantas. 2 ed. Heredia, Costa Rica. Editorial de la Universidad Nacional (EUNA).105 p.
169. Naciones Unidas. 2008. Como afrontar la crisis alimentaria mundial: Políticas de comercio, inversión y productos básicos fundamentales para garantizar la seguridad alimentaria sostenible y aliviar la pobreza. Nueva York, USA. 67 p.
170. Nogueira, J; Oliveira, S; Innecco, R; Almeida, J; Alves, J. 2004. Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação *in vitro* de *Heliconia stricta* Huber. *Revista Ciência Agronômica* 35: 232 – 237.
171. Ngo-Samnick, E. 2011. Improvet plantain production. Douala-Bassa, Cameroon. The Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation (CTA) - Engineers without Borders (ISF). 24 p.
172. Njukwe, E; Tenkouano, A; Amah, D; Sadik, K; Muchunguzi, P; Nyine, M; Dubois, T. 2007. Macro-propagation of banana and plantain. Yaounde, Cameroon. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). 23 p. (Training Manual).
173. Oliet, J. 2000. La calidad de la postura forestal en vivero. Córdoba, España. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes. 93 p.
174. Osei, J. 2006. Rapid field multiplication of plantains using benzyl adenine or coconut water-treated split corms. *Ghana Journal of Agricultural Science* 39 (2): 189-202.
175. Ortiz, R; López, A; Ponchner, S; Segura, A. 2007. El Cultivo del Banano. San José, Costa Rica. Editorial Universidad Estatal a Distancia (EUNED). 197 p.
176. Orellana, P. 1994. Tecnología para la micropropagación *in vitro* de clones de *Musa spp.* Tesis D.Sc. Santa Clara, Cuba. Universidad Central de las Villas. 120 p.
177. Oosterhuis, D. 1983. Resistance to water flow through the soil-plant system. *South Africa Journal of Science* 79: 459-465.
178. Ovecka, M; Bobak, M; Samaj, J. 2000. A comparative structural analysis of direct and indirect shoot regeneration of *Papaver somniferum* L. *in vitro*. *Journal of Plant Physiology* 157: 281–289.
179. Palencia, G; Gómez, R; Martín, J. 2006. Manejo sostenible del cultivo de plátano. Bucaramanga, Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). 28 p.

180. Panis, B. 2009. Crioconservación de germoplasma de Musa. 2a edición. **En:** F. Engelmann; E. Benson (Eds.). Montpellier, France, Bioversity International. 51 p. (Guías técnicas no. 9).
181. Pérez, J. 2007. Efecto de algunos reguladores del crecimiento y el Fitomás-E en la micropropagación de Musa sp. variedad FHIA-18 (AAAB). Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Universidad de Granma, Cuba. 13 p.
182. Pérez, M; Vásquez, V; Osuna, J. 2006. Efecto del Plant preservative mixture (PPM) y bencilaminopurina en la propagación *in vitro* de plátano macho" (Musa AAB). pp 504 – 509. **En:** Memorias de la XVII Reunión ACORBAT. Santa Catarina, Brasil.
183. Peres, J; Da Silva, F; Scherwinski, J. 2008a. Micropropagación y estimativa de producción de mudas de bananos para la amazonia occidental. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 43(10): 1429-1432.
184. Peres, J; Da Silva, F; Scherwinski, J. 2008b. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira aclimatizadas nas condições da amazônia sul ocidental sob a influência de diferentes substratos e recipientes. Revista Brasileira de Fruticultura 30(2): 459-465.
185. Pereira, L; Ramírez, C; Pereira, J; Alvarenga, A. 2001. Efeitos do BAP e do TDZ na produção de mudas de bananeira-'Maçã' através da propagação rápida "in vivo". Revista Brasileira de Fruticultura 23(2):230 – 233.
186. Petersen, L; Phipps, H. 1976. Water soaking pretreatment improves rooting and early survival of hardwood cuttings of some populus clones. Tree Planter's Notes 27: 20–22.
187. Pinto, E; De Souza, M; Calheiros, L; Lessa, J; Sarmiento, A. 2001. Micropropagação de clones de banana cv. terra em biorreator de imersão temporária. Revista Brasileira de Fruticultura 23(3): 482-487.
188. Pierik, R. 1990. Cultivo *In vitro* de las Plantas Superiores. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 301 p.
189. Pompeu, G; Gratão, P; Vitorello, V; Azevedo, R. 2008. Antioxidant isoenzyme responses to nickel-induced stress in tobacco cell suspension culture. Scientia Agricola 65: 548-552.
190. Prieto, J; García J; Mejía, J; Huchín, S; Aguilar, J. 2009. Producción de planta del género Pinus en vivero en clima templado frío. Durango, México. INIFAP-SAGARPA. 48 p. (Publicación especial no. 28).

191. PRO ECUADOR (Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones). 2013. Análisis del sector bananero. Quito, EC. 28 p.
192. Quiroz, M; Flores, L; Pincheira, M; Villarroel, A. 2001. Manual de viverización y plantación de especies nativas. Valdivia, Chile. Instituto Forestal. 160 p.
193. Ramírez, M; Lindorf, H; De García, E. 2011. Cambios morfoanatómicos del ápice del vástago de banano CIEN BTA-03 y su parental Williams bajo condiciones *in vitro*. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 28(1): 62-72.
194. Ramírez, M; De García, E; Lindorf, H. 2008. Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano Williams (AAA, *Musa* spp.) bajo distintas concentraciones de N6-benciladenina. Revista de Agricultura de la Universidad de Puerto Rico 92: 53-72.
195. Radice, S. 2010. Morfogénesis. *En*: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II, Parte I, Capítulo 2. pp 26 – 33. Levitus, G; Echenique, V; Rubinstein, C; Hopp, G; Mroginski, L. (Eds.) 2010. Buenos Aires, Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
196. Reyes, G; Rivers, E; Corea, G; García, R. 2009. Experiencias de la aplicación comercial de la técnica de reproducción acelerada de semilla (TRAS) en plátano en Rivas y Nandaime. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. La Calera 50 – 54 p.
197. Reyes, J; Aldrete, A; Cetina, M; Lopez, J. 2005. Producción de plántulas de *Pinus pseudostrabus* var. *Alpuncensis* en sustratos a base de aserrín. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 11(2):105-110.
198. Rivero, M. 2011. Biotecnología Vegetal: Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI). Programa de Biotecnología para América Latina y el Caribe, Universidad de las Naciones Unidas.
199. Robinson, J; Galán, V. 2011. Plátanos y Bananas (2da ed.). Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 321 p.
200. Robinson, J. 1993. Handbook of Banana Growing in South Africa. Agricultural Research Council. 128 p.
201. Rodríguez, A. 2008. Indicadores de calidad de planta forestal. México, DF. UACH-ANCF. 156 p.
202. Rodríguez, B; Gutiérrez, A; Acosta, D. 1996. Somatic embryogenesis of *Agave victoria-reginae* Moore. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 46:85–87.

203. Rodríguez, T. 1999. Influencia de biorreguladores cubanos sobre algunos indicadores morfológicos durante las fases de multiplicación y enraizamiento *in vitro* del plátano (*Musa* sp.). Tesis Mg. Sc. La Habana, Cuba. Universidad de La Habana. 53 p.
204. Rodríguez, G; Ramírez, H. 2006. Efecto de diferentes sustratos y dosis de nitrógeno sobre el desarrollo de plantas de banano. pp 605 – 615. *En*: Memoria de la XVII Reunión Internacional ACORBAT 2006, Joinville, Brasil.
205. Rodríguez, D; Ceballos, G; Mejía, J; Álvarez, E; Lugo, O. 2013. Construcción, implementación y estandarización de cámara térmica para producción de semilla de plátano libre enfermedades. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) 13 p.
206. Rojas, J; Vegas, U; Domínguez, R. 2010. Núcleo para la producción rápida de semilla de banano orgánico en campo en el Perú. pp 587 – 593. *En*: Memorias de la XIX Reunión Internacional ACORBAT 2010. Medellín, Colombia.
207. Roels, S; Escalona, M; Cejas, I; Noceda, C; Rodriguez, R; Canal, M; Sandoval, J; Debergh, P. 2005. Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 57-66.
208. Russo, R; Lugo, J; Arreola, O; Rango, O. 1995. Efecto de un bioestimulante húmico extraído del raquis de banano (pinzote) sobre el crecimiento de plántulas de banano (*Musa* AAA subgrupo "Cavendish" clon 'Gran enano'). *Agronomía Mesoamericana* 6: 130-133.
209. Ruíz, M; Ureña, M. 2009. Situación actual y perspectivas del mercado del plátano. Economic Research Service (ERS) – USAID – MIDAS. 16 p.
210. Rhoda, M. 2013. Efficiency of macropropagation in relation to other banana seedling production methods in different agro-ecologies in Central and Eastern Kenia. Mg.Sc. Thesis. School of Agriculture, Kenyatta University. 85 p.
211. Salisbury, F; Ross, C. 2000. Fisiología de las Plantas. Parte 3. Desarrollo de las Plantas y Fisiología Ambiental. THOMSON (Eds.), Madrid, España. 529 – 599 p.
212. Sandoval, J. 2001. Biotecnología aplicada para la micropropagación de banano y plátano. San José, Costa Rica. CORBANA. 28 p.
213. Sandoval, J; Brenes, G; Pérez, L. 1991. Micropropagación de plátano y banano en el CATIE. Turrialba, Costa Rica. 186 p.
214. SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1 User's Guide. Cary, NC.

215. Serna, J; Zamorano, C. 2008. Respuesta de proliferación de cormos del híbrido de plátano FHIA-21 (*Musa* AAAB) mediante la técnica PIF. *Temas Agrarios* 14(1): 24 – 31.
216. Serrada, R; Navarro, R; Pemán, J. 2005. La calidad de las repoblaciones forestales: una aproximación desde la silvicultura y la ecofisiología. *Sistema de Recursos Forestales* 14: 462 – 481.
217. Sierra, L. 1993. *El Cultivo de Banano: Producción y Comercio*. Medellín, Colombia. 679 p.
218. Sierra, Y; Sánchez, R; Gradaille, M; Laffite, O; Nápoles, L. 2001. Micropropagación de *Dieffenbachia picta*. *Bioteconología vegetal* 1: 49-55.
219. Singh, H; Selvarajan, R; Uma, S; Karihaloo, J. 2011. Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific. New Delhi, India. Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB). 92 p.
220. Sipe, P; Davey, M. 2012. Effects of 6-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* 23(2): 67–80.
221. Soto, M. 2008. *Banano: Técnicas de Producción, Manejo Poscosecha y Comercialización* (3 ed.). San José, Costa Rica. Litografía e Imprenta LIL, 5. A. 1090 p.
222. Sosa-Rodríguez, F; Ortiz, R; Hernández, R; Armas, P; Guillen, D. 2009. Propagación in vitro de *Heliconia standley* Macbride en Cuba. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(2): 17-23.
223. Souza, A; Ledo, S; Silveira, G; Souza, D; Faria, A; Neto, S; Santos, S; Silva, M; Costa, C; Soares, L; Junghans, G; Almeida, B. 2006. *Introdução à micropropagação de plantas*. Cruz das Almas, Brasil. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. 151 p.
224. Sunshine, F; Mogollón, N. 2008. Efecto de dos citocininas y dos estados físicos del medio de cultivo sobre la multiplicación *in vitro* del plátano ‘Hartón Gigante’ (*Musa* AAB). *En: Memorias de la XVIII Reunión Internacional ACORBAT 2008*. Guayaquil, Ecuador.
225. Sugiyama, M. 2000. Genetic analysis of plant morphogenesis *in vitro*. *International Review of Cytology* 196: 67-84.
226. Sheela V; Ramachandran, S. 2001. Growth, flowering and yield potential of tissue culture banana (*Musa* AAB cv. Nendran). *Journal of Tropical Agriculture* 39: 1-4.

227. Shirani, S; Sariah, M; Zakaria, W; Maziah, M. 2010. Scalp induction rate responses to cytokinins on proliferating shoot-tips of banana cultivars (*Musa* spp.). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5 (2): 128-134.
228. Skoog, M. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 54:118–130.
229. Strosse, H; Domergue, R; Panis, B; Escalant, J; Côte, F. 2003. Suspensiones de células embriogénicas de banano y plátano. Montpellier, Francia, 31 p. (Guías técnicas INIBAP).
230. Taiz, L; Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*, Fifth Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA, USA. 782 p.
231. Taji, A; Kumar, P; Lakshmanan, P. 2002. *In vitro* Plant Breeding. Food Products Press. New York, USA. 167 p.
232. Tanaka, M; Takei, K; Kojima, M; Sakakibara, H; Mori, H. 2006. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *The Plant Journal* 45:1028–1036.
233. Teisson, C; Alvard, D; Berthouly, B; Cote, F; Escalant, J; Etienne, H; Lartaud, H. 1996. Simple apparatus to perform plant tissue culture by temporary immersion. *Acta Horticulturae* 440:521-526.
234. Tenkouano, A; Hauser, S; Coyne, D; Coulibaly, O. 2006. Clean planting material and management of practices for sustained production of banana and plantain in Africa. *Chronica Horticulturae* 46(2): 14 –18.
235. Tisserat, B. 1991. Embryogenesis, organogenesis and plant regeneration. **En:** Dixon, R.A. (eds). *Plant Cell Culture: a practical approach*. IRL Press, Oxford, England, pp. 79 - 105.
236. Tisserat, B; Esam, B; Murashige, T. 1979. Somatic embryogenesis in angiosperm. *Horticultural Review* 11: 1-78.
237. Tilley, D; Hoag, J. 2008. Evaluation of fall versus spring planting of dormant hardwood willow cuttings with and without soaking treatment. *Riparian/Wetland Project Information*. 9 p. (Series no. 25).
238. Todorova, D; Genkov, T; Vaseva, I; Alexieva, V; Karanov, E; Smith, A; Hall, M. 2005. Effect of temperature stress on the endogenous cytokinin content in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 27(1): 13 – 18.

239. Tone, T; Kone, M; Kone, D; Traore, S; Kouadio, J. 2011. Multiplication rapide du bananier plantain (*Musa* spp. AAB) *in situ*: une alternative pour la production en masse de rejets. *Agronomie Africaine* 23 (1): 21 – 31.
240. Toral, M. 1997. Concepto de calidad de plantas en viveros forestales. Jalisco, México. Programa de Desarrollo Forestal. (Documento Técnico no. 1).
241. Torres, M. 2009. Procedimientos de propagación de plátano (*Musa* spp). Tesis Ing. Agr. Nayarit, México. Universidad Autónoma de Nayarit. 51 p.
242. Turner, D. 2003. Factors affecting the physiology of the banana root system. pp 107 – 113. **En:** Banana Root System: Towards a better understanding for its productive management. Turner and Rosales (Eds.). Proceedings of an International Symposium Held in San José, Costa Rica, 3-5 November 2003.
243. Turner, D; Lahav, E. 1985. Temperature influences nutrient absorption and uptake rates of bananas grown in controlled environments. *Scientia Horticulturae* 26:311-322.
244. Turner, D; Fortescue, J; Thomas, D. 2007. Environmental physiology of the bananas (*Musa* spp.). *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19(4):463-484.
245. Thompson, B. 1985. Seedling morphological evaluation. What can you tell by looking? **En:** Evaluating seedling quality: Principles, procedures and predictive abilities of major test. Duryea, M. (Eds.), Forest Research Laboratory. Oregon State University. pp. 59-69.
246. Urdaneta, J; Valerio, R; Vargas, T; De García, E. 2006. Aspectos morfoanatómicos de callos originados durante el proceso de embriogénesis somática en banano Williams subgrupo Cavendish (*Musa* sp. grupo AAA). *Agronomía Tropical* 56(4): 697-703.
247. Van Staden, J.; Fennell, C. and Taylor, N. 2006. Plant stress *in vitro*: the role of phytohormones. *Acta Horticulturae* 7(25): 55-62.
248. Vasane, S; Patil, A; Kothari, R. 2009. Phenotypic characters of various off types identified in laboratory, primary and secondary hardening in tissue cultured banana var. Grand Naine. *Indian Journal of Biotechnology* 9: 178 – 186.
249. Villar, P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. Capítulo IV. Valladolid, España. Asociación Española de Ecología Terrestre. Universidad de Alcalá. pp 66 – 86.
250. Villalobos, V; Thorpe T. 1991. Micropropagación: conceptos, metodologías y resultados. pp 127 – 142. **En:** Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Roca, W; Mroginski, L. (Eds.), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

251. Vidoz, M; Loreti, E; Mensuali, A; Alpi, A; Perata, P. 2010. Hormonal interplay during adventitious root formation in flooded tomato plants. *The Plant Journal* 63: 551–562.
252. Waraich, E; Ahmad, R; Halim, A; Aziz, T. 2012. Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12 (2), 221-244.
253. Wahid, A; Gelani, S; Ashraf, M; Foolad, M. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 61(3): 199-223.
254. Williams, M; Norton, R. 1972. Propagation of red raspberry from softwood cuttings. *Journal American Society Horticultural Science* 74: 401-406.
255. Wirakarnain, S; Hossain, B; Chandran, S. 2008. Plantlet production through development of competent multiple meristem cultures from male inflorescence of banana, *Musa acuminta* cv. 'Pisang Mas' (AA). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4 (4): 325-328.
256. Woodward, B. 1997. Micropropagation. *En: Advanced tissue culture course*. UNESCO/BAC-BETCEN, Biotechnology Division ACR-Roodeplaat. Pretoria. 186 p.
257. Ying-Hua, Su; Yu-Bo, Liu; Xian-Sheng, Zhang. 2011. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular Plant* 4(4): 616–625.
258. Youmbi, E; Ngaha, D. 2004. Expression in vitro des capacités organogènes des bourgeons axillaires chez le bananier plantain (*Musa* spp.). *Fruits* 59: 241–248.
259. Youmbi, E; Philipps, N; Ngaha, D; Ndoumbé, M; Kwa, M. 2005. Comportement de vitroplants de bananiers plantains issus de bourgeons axillaires et apicaux au cours de l'acclimatation et en champ. *Fruits* 60: 91–100.
260. Youmbi, E; Tchananyambeu, M; Ngaha, D; Fonbah, C. 2014. In vitro proliferation ability of axillary buds in *Musa* spp. *Agronomie Africaine* 26(1): 1-7.
261. Zaffari, G; Kerbauy, G. 2006. Efeito de reguladores de crescimento na formação de gemas adventícias *in vitro* de *Musa acuminata* cv. Grand Naine. *En: Memorias de la XVII Reunión Internacional ACORBAT 2006*. Joinville, Brasil.
262. Zolla, G; Castillo, C; Calderón, A. 1997. Efecto de la calidad de luz y concentración del ácido alfa naftalén acético en la rizogénesis "*in vitro*" de *Guzmama lingulata* (L) var. Lingulata. *En: Anales científicos UNALM, 1997*. 1-10 pp.
263. Zulfiqar, B; Akhtar, N; Ahmad, T; Ahmed, I. 2009. Effect of explant sources and different concentrations of plant growth regulators on in vitro shoot proliferation and rooting of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. "FUERTE". *Pakistan Journal of Botany* 41(5): 2333-2346.

264. Zhang, S; Lemaux, P. 2004. Molecular analysis *in vitro* of shoot organogenesis. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23: 325-335.

ANEXOS

Universidad Nacional Agraria
Biblioteca Agrícola Nacional

43874

Anexo 1: Análisis de varianza de la variable días a la brotación.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	5.78906250	1.92968750	2.90	0.0450*
BAP	3	66.02343750	22.00781250	33.12	0.0001**
Basfoliar	3	1.14843750	0.38281250	0.58	0.6337 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	2.37500000	0.26388889	0.40	0.9300 ^{NS}
Error	45	29.8984375	0.6644097		
Total	63	105.2343750			
C.V.				3.97%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); * Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 2: Análisis de varianza de la variable número de brotes R1.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	3.38574219	1.12858073	11.60	0.0001**
BAP	3	12.37792969	4.12597656	42.39	0.0001**
Basfoliar	3	0.45605469	0.15201823	1.56	0.2118 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	1.28222656	0.14246962	1.46	0.1908 ^{NS}
Error	45	4.37988281	0.09733073		
Total	63	21.88183594			
C.V.				6.13%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 3: Análisis de varianza de la variable número de brotes R1 encallados.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	0.07324219	0.02441406	0.41	0.7446 ^{NS}
BAP	3	2.35449219	0.78483073	13.27	0.0001**
Basfoliar	3	0.13574219	0.04524740	0.77	0.5196 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	0.36816406	0.04090712	0.69	0.7125 ^{NS}
Error	45	2.66113281	0.05913628		
Total	63	5.59277344			
C.V.				7.95%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 4: Análisis de varianza de la variable número de plantas de callo.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	41.002930	13.667643	3.51	0.0226*
BAP	3	3168.252930	1056.084310	271.45	0.0001**
Basfoliar	3	1.932617	0.644206	0.17	0.9190 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	20.633789	2.292643	0.59	0.7988 ^{NS}
Error	45	175.075195	3.890560		
Total	63	3406.897461			
C.V.				6.78%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); * Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 5: Análisis de varianza de la variable número de plantas adventicias.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	27.2373047	9.0791016	9.97	0.0001**
BAP	3	145.4091797	48.4697266	53.24	0.0001**
Basfoliar	3	0.4716797	0.1572266	0.17	0.9143 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	12.3916016	1.3768446	1.51	0.1728 ^{NS}
Error	45	40.9658203	0.9103516		
Total	63	226.4755859			
C.V.				10.15%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 6: Análisis de varianza de la variable tasa de multiplicación.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Bloques	3	132.582031	44.194010	8.63	0.0001**
BAP	3	4665.972656	555.324219	303.67	0.0001**
Basfoliar	3	2.597656	0.865885	0.17	0.9167 ^{NS}
BAP x Basfoliar	9	50.925781	5.658420	1.10	0.3789 ^{NS}
Error	45	230.480469	5.121788		
Total	63	5082.558594			
C.V.				5.88%	

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 7: Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 5 días en agua.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	633.36	633.36	7.79	0.0090**
Estado fenológico	2	1856.89	928.44	11.42	0.0002**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	38.22	19.11	0.24	0.7919 ^{NS}
Error	30	2438.50	81.28		
Total	35	4966.97			

C.V. 18.39%

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); * Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 8: Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 10 días en agua.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	491.36	491.36	5.12	0.0311*
Estado fenológico	2	2056.17	1028.08	10.70	0.0003**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	174.06	87.03	0.91	0.4148 ^{NS}
Error	30	2881.17	96.04		
Total	35	5602.75			

C.V. 13.63%

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); * Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 9: Análisis de variancia de la variable porcentaje de enraizamiento a los 15 días en agua.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	427.11	427.11	15.96	0.0004**
Estado fenológico	2	3410.89	1705.44	63.72	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	146.89	73.44	2.74	0.0867 ^{NS}
Error	30	803.00	26.77		
Total	35	4787.89			

C.V. 6.24%

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 10: Análisis de varianza de la variable Altura de planta.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	43.3500000	43.3500000	4.70	0.0346*
Estado fenológico	2	602.0333333	301.0166667	32.62	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	19.3000000	9.6500000	1.05	0.3584 ^{NS}
Error	54	498.3000000	9.227778		
Total	59	1162.983333			
C.V.			12.56%		

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); * Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 11: Análisis de varianza de la variable Diámetro de tallo.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	70.4166667	70.4166667	6.58	0.0002**
Estado fenológico	2	558.0333333	279.0166667	65.71	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	21.2333333	10.6166667	2.50	0.0915 ^{NS}
Error	54	229.3000000	4.2462963		
Total	59	878.9833333			
C.V.			9.57%		

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 12: Análisis de varianza de la variable Longitud de raíces.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	0.04428167	0.04428167	0.08	0.7744 ^{NS}
Estado fenológico	2	3.36394333	1.68197167	3.15	0.0500*
Tipo de planta x Estado fenológico	2	2.37394333	1.18697167	2.22	0.1180 ^{NS}
Error	54	28.82669000	0.53382759		
Total	59	34.60885833			
C.V.			11.30%		

*Significativo ($p \leq 0.05$); ^{NS} No significativo

Anexo 13: Análisis de varianza de la variable Número de raíces.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	3.68528167	3.68528167	16.09	0.0002**
Estado fenológico	2	3.26185333	1.63092667	7.12	0.0018**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	1.13861333	0.56930667	2.49	0.0928 ^{NS}
Error	54	12.37035000	0.22908056		
Total	59	20.45609833			
C.V.			11.13%		

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 14: Análisis de varianza de la variable Área foliar.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	19.6768267	19.6768267	0.40	0.5321 ^{NS}
Estado fenológico	2	844.2331233	422.1165617	8.48	0.0006**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	37.8557633	18.9278817	0.38	0.6854 ^{NS}
Error	54	2687.100260	49.761116		
Total	59	3588.865973			
C.V.			17.25%		

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 15: Análisis de varianza de la variable Índice de vigor o esbeltez.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	0.01980167	0.01980167	1.17	0.2835 ^{NS}
Estado fenológico	2	0.02409333	0.01204667	0.71	0.4944 ^{NS}
Tipo de planta x Estado fenológico	2	0.00377333	0.00188667	0.11	0.8944 ^{NS}
Error	54	0.91139000	0.01687759		
Total	59	0.95905833			
C.V.			11.50%		

^{NS} No significativo

Anexo 16: Análisis de varianza de la variable Relación biomasa aérea/radical.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	6.53400000	6.53400000	16.97	0.0001**
Estado fenológico	2	0.40900000	0.20450000	0.53	0.5910 ^{NS}
Tipo de planta x Estado fenológico	2	0.99700000	0.49850000	1.29	0.2824 ^{NS}
Error	54	20.79400000	0.38507407		
Total	59	28.73400000			
C.V.			16.37%		

**Altamente significativo ($p \leq 0.01$); ^{NS} No significativo

Anexo 17: Análisis de varianza de la variable Peso seco total.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	1243.060167	1243.060167	148.13	0.0001**
Estado fenológico	2	559.680333	279.840167	33.35	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	242.636333	121.318167	14.46	0.0001**
Error	54	453.145000	8.391574		
Total	59	2498.521833			
C.V.			8.26%		

**Altamente significativo ($p \leq 0.01$)

Anexo 18: Análisis de varianza de la variable Índice de calidad de Dickson.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F	p-valor
Tipo de planta	1	122.9801667	122.9801667	154.21	0.0001**
Estado fenológico	2	20.4733200	10.2366600	12.84	0.0001**
Tipo de planta x Estado fenológico	2	5.7438533	2.8719267	3.60	0.0340*
Error	54	43.0645600	0.7974919		
Total	59	192.2619000			
C.V.			12.22%		

**Altamente significativo ($p \leq 0.01$); *Significativo ($p \leq 0.05$)