

Universidad “Carlos Rafael Rodríguez” Cienfuegos
Facultad de Ciencias Agrarias

Carrera de Ingeniería Agrónoma



**Título: “Caracterización y establecimiento *in vitro* de
Heliconia wagneriana Petersen”.**

Tesis para aspirar al título de Ingeniero Agrónomo

Autor: Yanelis Puerta González

Tutor: MSc. Flora M. Sosa Rodríguez

Cotutor: MSc. Roberto Suarez Surí

Consultante: Dr.C. Enrique Casanovas Cosío

2012

RESUMEN

Heliconia es una especie hortícola, no solo con uso ornamental por su durabilidad y llamativos colores de sus inflorescencias, sino por su importancia y contribución en el incremento de la biodiversidad. El trabajo se desarrolló en la Biofábrica, perteneciente a la Empresa de Semillas Varias y en la Universidad “Carlos Rafael Rodríguez” de Cienfuegos. Para hacer una breve caracterización de esta especie del género Heliconia y su posterior preparación (Fase 0), establecimiento o introducción del material (Fase I), según el proceso de micro propagación. Se determinaron características propias de la especie en cuanto al número de brácteas por inflorescencia, altura, periodo de floración y hábitat. Se comprobó la importancia de la Fase 0 en el proceso de micro propagación y se propone como desinfección inicial el uso de Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 3 %, durante 25 minutos. Con el uso del Cloranfenicol la brotación fue un 10% superior al G 1. Para el procedimiento estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 15, prueba no paramétricas con dos muestras independientes de Mann Whitney y pruebas de Chi-cuadrado respectivamente.

INDICE

1. Introducción	1
2. Revisión Bibliográfica	4
2.1 Sistemática de la familia <i>Heliconiaceae</i>	4
2.2 Taxonomía.....	6
2.3 Características generales. Anatomía y morfología.....	7
2.4 Propagación de Heliconia.....	10
2.5 Requerimientos climáticos.....	11
2.5.1 Altitud.....	11
2.5.2 Temperatura e iluminación.....	12
2.5.3 Precipitaciones y humedad relativa.....	12
2.5.4 Viento.....	12
2.6 Requerimientos edáficos.....	12
2.7 Densidad de siembra.....	13
2.8 Prácticas culturales del cultivo de Heliconias.....	13
2.8.1 Riego.....	13
2.8.2 Fertilización.....	13
2.8.3 Control de malezas.....	14
2.9 Enfermedades.....	14
2.10 Plagas.....	15
2.11 Cosecha.....	16
2.12 Comercialización.....	16
2.13 Otros beneficios.....	17
2.14 Heliconias en Cuba.....	18
2.15 Descripción <i>Heliconia wagneriana</i> Petersen por W.J.Kress.....	19

3. Materiales y Métodos	20
3.1 Caracterización de la especie.....	20
3.2 Fase 0: Preparativa.....	20
3.3 Fase I: Establecimiento.....	21
3.3.1 Porcentaje de contaminación en el establecimiento de explantes tratados y no tratados previo a Fase I con fungicida	21
3.3.2 El hipoclorito de sodio en la desinfección superficial del material.....	22
3.3.3 Brotación (%) de explantes en medio de líquido (Cloranfenicol) y semi-Solido (Vitrofurul).....	23
4. Resultados y Discusión	24
4.1 Caracterización de la especie.....	24
4.2 Fase 0: Preparativa.....	25
4.3 Fase I: Establecimiento.....	25
4.3.1 Porcentaje de contaminación en el establecimiento de explantes tratados y no tratados previo a Fase I con fungicida.....	25
4.3.2 El Hipoclorito de Sodio en la desinfección superficial del material.....	25
4.3.3 Brotación (%) de explantes en medio de líquido (Cloranfenicol) y semi-Solido (Vitrofurul).....	29
5. Conclusiones	31
6. Recomendaciones	32
7. Bibliografía	33

Anexos

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la familia *Heliconiaceae* solo existe el género *Heliconia*, perteneciente al orden *Zingiberales*. Agrupa más 250 especies en el mundo; originarias de Suramérica, Centroamérica, las islas del Pacífico e Indonesia (Instituto Alexander von Humboldt, 2003) (Heno y Andrea Ospina, 2008).

Son plantas perennes y se encuentran entre las especies tropicales más populares en cultivo como plantas ornamentales por sus coloridas y extraordinarias brácteas, de gran durabilidad, las cuales envuelven sus flores. Protegen las fuentes de aguas y se consideran imprescindibles en la reforestación, ya que se consideran especies protectoras por su crecimiento rizomatoso (Vargas, 2002). Actúan recíprocamente con un extraordinario número de organismos y son polinizadas por colibríes y murciélagos (Berry y Kress, 1991). Los frutos son dispersados por muchas especies de pájaros (Berry y Kress, 1991). Gran cantidad de insectos, incluyendo escarabajos, orugas, hormigas, se alimentan o viven dentro de sus brácteas (Seifert, 1982). Tales interacciones biológicas demuestran el valor ecológico de estas especies, sobre todo en las comunidades tropicales. Son de vital importancia ecológica, ya que debido a su crecimiento rizomatoso son aptas para contrarrestar los movimientos de tierra en las laderas erosionadas de barrancos y pendientes. El rizoma de algunas es comestible, asado o cocinado; tal es el caso de la *Heliconia hirsuta*, por otra parte las hojas son utilizadas en algunas regiones para envolver alimentos.

El potencial de estas especies ha sido poco reconocido, pero los mercados europeos, asiáticos y de Estados Unidos tienen una demanda creciente por este tipo de flores. Comercialmente son explotadas en países como Colombia, Costa Rica y Brasil, principalmente como flores de corte (Sosof *et al.*, 2006). El insuficiente conocimiento técnico y científico acerca del cultivo de estas especies, asociado al lento desarrollo de las mismas en campo, hacen que se dificulte su producción a gran escala (Atehortúa *et al.*, 2002). La biotecnología constituye una herramienta fundamental para ayudar a satisfacer las necesidades de los productores, a través del desarrollo de métodos de

propagación *in vitro* que permiten obtener explantes de interés económico y excelente calidad en las cantidades requeridas (Ciencia y Técnica, 2004).

La floricultura en nuestro país está concebida por pequeños productores, asimismo, las condiciones de producción y distribución exigen un sustancial incremento en cantidad y calidad para cubrir la demanda. Por lo que es necesario la introducción de nuevas variedades y mejorar la calidad de la oferta, organizando y potencializando este sector (Soroa, 2000).

En encuesta realizada por el Grupo de Prospección Tecnológica de Flores y Plantas Ornamentales (GPDTPOFC, 2000), en La Habana están más satisfechos con las ofertas de plantas ornamentales que con las flores, en el caso de los hoteles, se dificulta mucho la ornamentación que desean y el precio al que se ofertan estos productos. En la población existe una gran insatisfacción, tanto en la oferta de plantas ornamentales como de flores, más aun en días señalados (Hernández, 2004).

La producción anual oscila alrededor de los 80 millones de docenas. Entre las provincias de mayor producción de flores se encuentran Ciego de Ávila y Camagüey (GPDTPOFC, 2000). Con estas producciones, no se satisfacen las demandas de la población, por lo que la búsqueda de nuevas variedades para su comercialización es una necesidad. Estas especies poco conocidas en el país, son flores tropicales de gran calidad y potencial para la floristería (Jerez, 2007).

El cultivo de Heliconias en Cuba puede incrementar las posibilidades de comercialización, ya que nuestro clima es favorable para el desarrollo del mismo, se incrementará la conservación de este recurso fitogenético y su explotación sostenida.

Problema Científico:

No se dispone de una caracterización, ni un método para el establecimiento *in vitro* de la especie *Heliconia wagneriana* Petersen.

Teniendo en cuenta lo antes expuesto se establece la siguiente hipótesis de trabajo:

“Con la caracterización del crecimiento y desarrollo de esta especie, y la determinación del método para el establecimiento *in vitro*, permitirá obtener mayores volúmenes de material para su propagación, posterior plantación y explotación sostenida de su cultivo”

Para dar cumplimiento a la hipótesis se trazan los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Caracterizar y determinar un método para el establecimiento *in vitro* de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar la especie *Heliconia wagneriana* Petersen.
2. Proponer la dosis de desinfección y tiempo de exposición de los rizomas para su establecimiento en el proceso de micropropagación.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistemática de la familia *Heliconiaceae*

Las Heliconias, nombre que hace referencia a la montaña griega Helicón, lugar sagrado donde se reunían las Musas, se encuentran dentro de la familia *Heliconiaceae* del orden *Zingiberales*. Con un único género "Heliconia", donde se agrupan más 225 a 250 especies en el mundo; siendo Colombia el que mayor número de especies tiene (aproximadamente 93) de plantas tropicales y especies de Heliconias endémicas más de 48, originarias de Suramérica, Centroamérica, las islas del Pacífico e Indonesia (Instituto Alexander von Humboldt. 2003) (Henao y Ospina, 2008). Otras fuentes refieren que tiene entre 200 a 400 especies y el 98% de éstas se encuentran distribuidas en el centro y sur de América y en el Caribe (Kress, 1994, citado por Maza y Builes, 2000).

Adicionalmente, en este orden se encuentran ocho familias a las cuales pertenecen flores y frutos de interés comercial tales como: Ave del paraíso (*Strelitziaceae*), banano, plátano y musa (*Musaceae*), Ginger (*Zingiberaceae*), Costus (*Costaceae*), Cannas y chirillas (*Cannaceae*) y Calateas (*Marantaceae*), (Figura 1) (Proexport Colombia, Instituto Alexander von Humboldt. 2003).



FIGURA 1.-Familias que componen el orden *Zingiberales*.

Fuente: Berry, F.; Krees, J. (1991)

Las plantas del género *Heliconia* son las únicas, monocotiledóneas, con un crecimiento rizomatoso que emiten brotes, o vástagos. Cada uno de estos está compuesto por un tallo, técnicamente llamado pseudotallo. Entre las características que permiten identificar a este orden se encuentran las hojas largas y grandes, están compuestas por un pecíolo y una lámina, colocadas en posición dística, simples, alternas, con margen entero, ápice acuminado y base redondeada, verde brillante más claro por el envés, oblongas, con nerviación marcada y nervio central prominente en el envés. Generalmente el pecíolo tiene de 15 a 50 cm. de largo y envuelve al tallo (Maza y Builes, 2000).

Producen inflorescencias al final de cada tallo y en la base de la planta, de vistoso colorido, las panojas con varias brácteas de colores (rojo, amarillo, naranja, entre otros) y flores nectaríferas que atraen al colibrí, con el que se asocian dichas especies para la polinización. Son hermafroditas, pues poseen una parte masculina (estambres) y una femenina (pistilo); los frutos son drupas (Maza y Builes, 2000). Las Heliconias se ubican entre las especies tropicales más populares en cultivo como plantas ornamentales. La mayoría de las especies son ornamentales por sus coloridas e inusitadas brácteas que envuelven sus flores, así como por la durabilidad de las mismas

2.2 Taxonomía

Anteriormente, el grupo de plantas pertenecientes a la familia *Heliconiaceae* se ubicaban en la familia *Musaceae*; sin embargo, Nakai en 1941 las separó como *Heliconiaceae*. Posteriormente, Kress en 1994 propuso un nuevo sistema de clasificación en subgéneros y secciones, basado en características morfológicas, ecológicas y genéticas. Según FHIA (1995), el orden Zingiberales anteriormente era llamado *Scitamineae* y en 1771, Linneo las estableció en un nuevo y único género *Heliconia* dentro de la familia.

Del género *Heliconia* se han descrito unas 250 especies, 48 han sido descritas como endémicas para Colombia, ubicándola como el centro de diversidad más grande de este género en el mundo (Abalo y Morales, 1982).

Científicamente se encuentran en: Reino: Plantae, Subreino: Embryobionta (*Tracheobionta*), División: Magnoliophyta, Clase: *Liliopsida*, Subclase: Zingiberidae (*Commelinidae*), Orden: *Zingiberales*, Familia: *Heliconiaceae*, Género: *Heliconia*, Especie: *Heliconia wagneriana* P., entre otras (FHIA, 1995).

En Colombia, las regiones con mayor número de especies son la vertiente occidental andina, con el 35%; el valle del río Atrato, con el 25%; las vertientes del río Magdalena, con el 25% y la región Oriental Andina con el 25%. Aproximadamente la mitad de las especies que crecen en Colombia son endémicas. Las regiones con mayor proporción

de endemismo son la Andina, con el 75% y la Pacífica con el 20% (Betancur y Kress, 1993).

2.3 Características Generales. Anatomía y morfología de Heliconias.

Son herbáceas perennes cuya altura varía desde 70 cm hasta 10 m.; monocotiledóneas, con crecimiento rizomatoso que emite brotes, o vástagos. Cada uno de estos está compuesto por un tallo, técnicamente llamado pseudotallo.

Según Maza y Builes (2000), las hojas son largas, opuestas, compuestas por un pecíolo y una lámina, colocadas en posición dística, es decir en un solo plano. De acuerdo a la disposición de estas en el pseudotallo, se pueden identificar tres hábitos de crecimiento:

- 1- Musoide, cuando las hojas están en posición vertical y con pecíolos muy largos
- 2- Zingiberoide, con hojas en la mayoría de los casos sésiles y dispuestas en forma más o menos horizontal
- 3- Canoide, cuando las hojas presentan pecíolos medianos y se disponen oblicuamente.

Las raíces adventicias y fasciculadas. Son simpódicas acaulecentes con tallos aéreos extendidos no ramificados glabros, o algunas veces con tricómas ramificados, relativamente pobres en flavonoides algo taniníferas y con rafidios en todas las partes, vasos confinados a las raíces con placas perforadas escalariformes alargados, haces vasculares encerrados dispersos en el tallo, pero los que se encuentran en la periferia aglomerados y provistos cada uno con una vaina fibrosa, células de sílice presentes cercanos a los haces vasculares hacia su cara interna, cada una con paredes engrosadas irregularmente y conteniendo un cuerpo de sílice (Edgar, 2001).

El pseudotallo está formado por la superposición de las vainas de las hojas y se origina desde el sitio de crecimiento del rizoma hasta donde brotan los pecíolos de las hojas, dándole sostén a las mismas, el cual asciende por su interior en épocas reproductivas.

El pecíolo puede tener colores diferentes al verde como en *H. platystachis* que tiene el pecíolo blanco y en *H. mutisiana*, en la cual el pecíolo tiene cobertura pubescente (Krees *et al*, 1999).

Sus inflorescencias, casi siempre terminales son hermafroditas pues poseen una parte masculina (estambres) y una femenina (pistilo). Las brácteas son los órganos más vistosos de una *Heliconia*, generalmente son de colores primarios o mezclados, en ocasiones verdosas o incluso rosadas, ofreciendo un colorido incomparable. La inflorescencia está formada por unas hojas transformadas en brácteas. Cada una de ellas encierra en su interior un número variado de flores hermafroditas que puede llegar a ser hasta 50 (Velayos, 2001). (Figura 2)

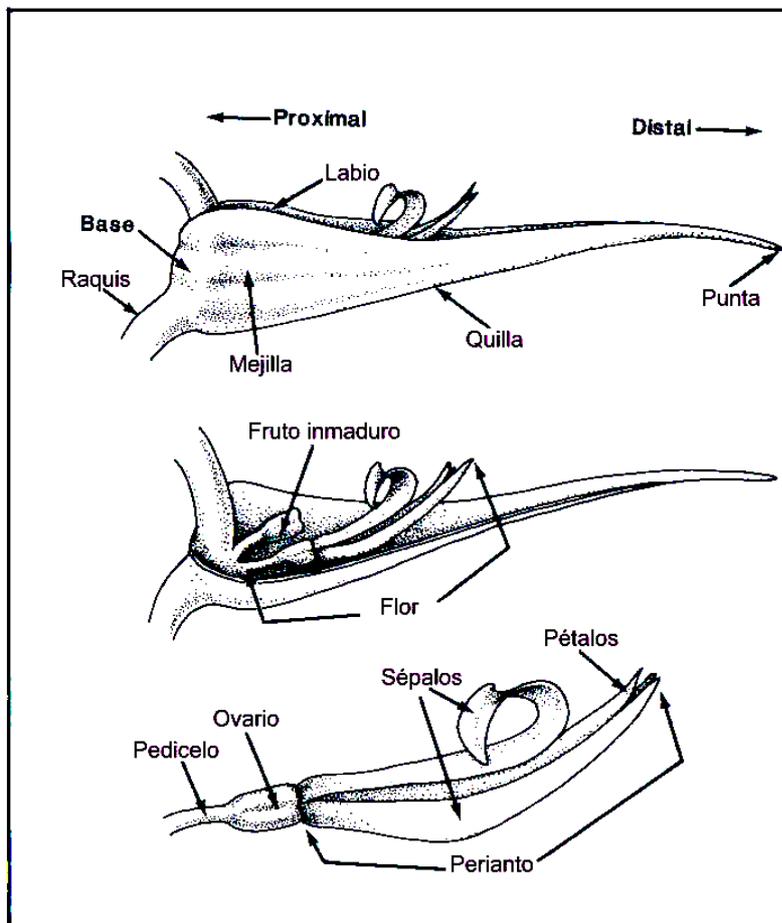


FIGURA 2. Partes de inflorescencia, bráctea y flor de *Heliconia*.

Fuente: Berry, F.; Krees, J. (1991)

En la mayoría de los casos las brácteas son suaves y brillantes, aunque a veces están cubiertas de pelos lanosos. Cada flor permanece abierta únicamente un día, pero hay muchas flores por cada bráctea y numerosas brácteas por cada inflorescencia, cada planta permanece florida por un largo periodo de tiempo (Velayos, 2001). La inflorescencia puede ser erecta, con brácteas dispuestas hacia arriba (*H. wagneriana*) o péndula, con brácteas dispuestas hacia abajo (*H. rostrata*). La inflorescencia generalmente brota en forma terminal, al final del pseudotallo, como en *H. reptans*; en algunas especies ocasionalmente brota del rizoma en un tallo sin hojas, como en *H. metallica* y *H. hirsuta*.

Los polinizadores de las Heliconias americanas son los pequeñísimos colibríes, sin embargo, las del Pacífico son polinizadas por murciélagos comedores de néctar. En el neotrópico los colibríes son atraídos por los vivos colores de las brácteas. La longitud y la curvatura del tubo floral suelen coincidir exactamente con los del pico del colibrí. Los colibríes introducen su pico en las flores con objeto de libar el néctar, cambiando constantemente de flor y de planta, ejecutando así una efectiva polinización. Es hermoso y curioso a la vez, ver como los Colibríes polinizan a las especies rojas, amarillas, rosas y naranjas, en tanto que los murciélagos que se alimentan de néctar, y son quienes polinizan las de color verde (Berry y Kress, 1991).

Buchner (1995), la fruta es una baya que contiene de una a tres semillas de 1.5 cm. de diámetro, de color verde o amarillo cuando esta inmadura y de color azul profundo al madurar. Fruto en esquisocarpo separados en mericarpos, usualmente azules, carnosos con uno a tres semillas, testa de la semilla con un opérculo opuesto a la radícula, arilo ausente en el embrión, recto con un cotiledón pobremente diferenciado aun cuando la semilla se encuentra madura. Las semillas atraen aves y mamíferos, los que contribuyen así a su dispersión (Velayos, 2001).

2.4 Propagación de Heliconias

Las especies de Heliconias pueden propagarse fácilmente por rizomas. La propagación vegetativa por división, a través de rizomas es preferida para obtener resultados uniformes FHIA (1995). La corona de rizomas que se forman al pie de cada planta se denomina macolla, se pueden separar por división para obtener varias plantas, cortando la parte aérea y colocando individualmente cada rizoma en bolsas con suelo por un período de un mes, siempre bajo sombra de hasta 50%, llevándose al sitio definitivo al tercer mes, luego de la siembra (Sosof *et al.*, 2006).

El periodo de día que duran los rizomas, después de ser arrancados, varía de acuerdo a cada especie, los rizomas de las especies más pequeñas pueden durar hasta 12 días, las medianas hasta 15 días y las grandes hasta 25 días. Lo más recomendable es sembrar los rizomas lo más pronto posible, luego de ser arrancados. Luego de la siembra, la parte visible del rizoma se va pudriendo con los días pero la parte que se encuentra debajo de la tierra está emitiendo nuevos rebrotes que son los que van a formar la nueva planta, estos rebrotes tardan entre 20 días y 1 mes en ser visibles (Osorio, 1993) ,(Sosof *et al.*, 2006).

Durante los primeros meses, las Heliconias no deben ser expuestas directamente a la luz solar, ya que son muy sensibles al calor excesivo. Por lo que se recomienda tenerlas en la sombra y aumentar gradualmente la luminosidad. Cuando la planta tenga 40 cm. de altura debe ser trasplantada al lugar definitivo. En evaluaciones realizadas en cultivos de *Heliconia* spp., provenientes de la región Suroccidental de Guatemala, bajo una sombra del 30%, el porcentaje de brotación de rizomas osciló entre 81% y 100%, con una media general de 89.8% de brotación de rizomas (Otzoy *et al.* 2003).

Independientemente del método de propagación, siempre es recomendable tratar la parte vegetativa con Hipoclorito de Sodio, en una proporción de 1:9 Agrotropical (2009). También pueden propagar por semilla, sin embargo, esta presenta dificultades ya que las semillas poseen un bajo porcentaje de germinación y larga latencia, además las plántulas

resultantes son de lento crecimiento y presentan gran variabilidad en las características obtenidas de un mismo lote, por otro lado, las semillas tardan de tres meses a tres años en germinar (Sosof *et al.*, 2006).

Otro método de propagación es a través de micropropagación, proceso que permite la propagación masiva de plántulas *in vitro*, mediante varios sistemas de regeneración del material vegetativo y reproductivo. Aunque el cultivo de tejidos es una técnica ampliamente utilizada para la propagación de especies ornamentales, este no ha sido el caso para especies de este género, ya que a pesar del éxito de la técnica utilizada vía organogénesis directa, los costos todavía son muy altos, debido al largo tiempo de reproducción requerida, insumos y mano de obra, lo cual restringe la producción comercial (Sosof *et al.*, 2006). El escaso conocimiento técnico y científico acerca del cultivo de estas especies, aunado al lento desarrollo de las mismas en campo, hacen que se dificulte su producción a gran escala (Atehortúa *et al.*, 2002).

2.5 Requerimientos climáticos

Estas especies se pueden encontrar creciendo en áreas húmedas, sub húmedas, tropical y subtropical y espacios con sistema de irrigación (FEDEX, 2003). En la región Suroccidental de Guatemala, se encuentran principalmente en la zona de vida bosque muy húmedo subtropical (cálido), en los departamentos de Suchitepéquez, Retalhuleu y la parte costera de los departamentos de Quetzaltenango y San Marcos (Otzoy *et al.* 2003).

2.5.1 Altitud

Las Heliconias se desarrollan bien entre el nivel del mar y los 600 metros de altitud (FHIA, 1995). En la región Suroccidental de Guatemala, se encontraron en altitudes que van de 206 a los 963 metros sobre el nivel medio del mar (Otzoy *et al.* 2003).

2.5.2 Temperatura e iluminación

La temperatura óptima para el desarrollo de *Heliconia* es de 28°C con un rango entre 25 y 32°C, no soportan las heladas y tampoco producen flores cuando la temperatura se eleva más de los 35°C. A estas flores no les afecta el fotoperiodo y su floración depende de la temperatura (FHIA, 1995). En la región Suroccidental de Guatemala, se encuentran en un rango de temperatura que va de los 21°C a los 25°C, con una media de 23°C (Otzoy *et al.* 2003).

Deben sembrarse a pleno sol o en áreas donde la mayor parte del día estén iluminadas por la luz solar (FHIA, 1995).

2.5.3 Precipitación y Humedad Relativa

Las flores tropicales son suculentas y el mayor contenido lo constituye el agua, crecen naturalmente en zonas con más de 2 000 mm. de precipitación anual. El suplemento de irrigación puede ayudar a solventar el déficit hídrico en zonas con medias de precipitación más bajas al requerimiento (FHIA, 1995). En la región Suroccidental de Guatemala, las zonas donde se localizaron *Heliconias*, la precipitación promedio anual varía entre 2 136 y 4 327 mm., con una media de 3 284 mm. (Otzoy *et al.* 2003). Generalmente todas las flores tropicales se ven favorecidas cuando la humedad es mayor al 80%.

2.5.4 Viento

Los vientos fuertes, mayores de 14.4 km/h son causa importante de pérdidas de plantas. En zonas con incidencia de vientos es aconsejable usar cortinas rompe vientos (FHIA, 1995). En la región Suroccidental de Guatemala los vientos no son mayores de los 10 km/h (Otzoy *et al.* 2003).

2.6 Requerimientos edáficos

Según FHIA (1995), los ornamentales tropicales se pueden cultivar en una amplia variedad de suelos. Los mejores suelos para estos cultivos, son con preferencias de origen aluvial, ricos en materia orgánica, profundas, bien drenadas, llanas o con

pendientes suaves, con una buena proporción entre arena, arcilla y limo. En la región Suroccidental de Guatemala, el 41.9% se encontró en suelos franco arcilloso, el 39.5% en un suelo arcilloso y el 9.3% se encontró en un suelo tanto arenoso como franco arenoso (Otzoy *et al.*, 2003). El pH óptimo del suelo para ornamentales tropicales varía de 5 a 7. Las plantas son demandantes fuertes de nitrógeno y potasio especialmente durante sus primeras etapas de crecimiento, por lo que se recomienda un análisis de suelo para poder ayudar al cultivo con una recomendación de fertilización adecuada.

2.7 Densidad de siembra

De acuerdo a FHIA (1995), la cantidad de plantas de Heliconias que deben sembrarse por hectárea, varían según la especie cultivada. Las distancias de siembra más comúnmente usadas son:

- En hileras sencillas: 1.5 m. entre plantas y 2 m. entre hilera, para una población de 3300 plantas por hectárea.
- En hileras dobles: 1.5 m. entre plantas, 1.5 entre las dos hileras y 2 m. entre hileras dobles, para una población de 4000 plantas por hectárea.

2.8 Prácticas culturales del cultivo de Heliconias

2.8.1 Riego

Según FHIA (1995), debe suplirse el agua, por lo menos semanalmente, durante la época de verano, para que la planta realice sus labores vitales. En los meses más cálidos las exigencia son mayores y las aplicaciones serán hasta 2 veces por semana, siendo necesario aplicar hasta un galón por planta. El estrés hídrico se puede notar cuando las hojas comiencen a enrollarse.

2.8.2 Fertilización

Se puede generalizar dentro de ciertos rangos, que los aspectos nutricionales de las Heliconias y las Alpinias son muy similares a los de las musáceas, donde el nitrógeno y el potasio juegan un papel importante en el crecimiento normal y la producción comercial.

La mayoría de las plantas que pertenecen al orden *Zingiberales* son altamente susceptibles a la deficiencia de potasio.

Según Álvarez (1984), el intenso crecimiento de esta especie y la alta producción de masa verde de la misma, denotan un alto nivel de utilización de nutrientes, cuyo abastecimiento puede resolverse a través de la aplicación de fertilizantes en proporciones y momentos teóricamente convenientes. Para el efecto, se recomienda la aplicación de 46, 50 y 150 kg.ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente, en las siguientes épocas de aplicación: un mes, cuatro y cinco meses después de la siembra (Bittencourt y Oliveira, 1995).

2.8.3 Control de malezas

Las malezas compiten con las plantas por nutrientes, espacio, luz y son hospederas de insectos y enfermedades. Especialmente, al iniciar cualquier cultivo será necesario mantener el área de siembra sin malezas para permitir un desarrollo adecuado, luego el tamaño y la sombra de las plantas disminuirá el agresivo crecimiento de las malezas (FHIA, 1995).

2.9 Enfermedades

En general las flores son susceptibles al ataque de enfermedades, no solamente porque sus pétalos son frágiles, sino porque también las soluciones de azúcar secretadas por los nectarios son una excelente fuente de nutrientes para los patógenos. Un organismo común responsable del moho gris es *Botrytis cinerea*, el cual puede germinar en condiciones de poca humedad ambiental (Sosof *et al.*, 2006).

Otros organismos como *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus* *Pseudomonas*, son también organismos que causan serios daños, muchos de estos organismos son bacterias que están asociadas con el agua y el suelo. Una apropiada higiene en los invernaderos, control de temperatura y minimizar la condensación sobre las flores pueden reducir las pérdidas causadas por los hongos. Algunos funguicidas como Ronilan, Rovral, y un compuesto cúprico como el Pitón-20, han sido aprobados para el uso en flores y son efectivos para el control de enfermedades (Sosof *et al.*, 2006).

Escalona *et al.* (2003), menciona que entre los hongos que afectan las Heliconias en el mundo, destacan: *Cylindrocladium spathiphylli* '*Heliconiae*', *Pythium* sp. Y *Rhizoctonia solani*, en raíces. Como parásitos foliares son mencionados *Cercospora* sp., *Helminthosporium* sp., *Phomopsis* sp., *Phyllosticta Heliconiae* y *Septoriasp.*; también, *Hansfordia ovalispora*, *Stachylidium* (*Verticillium*) *bicolor* y *Phaeoisario psiscercosporoides* son reportados atacando el follaje. En Venezuela han sido señalados los hongos *Phyllosticta musae*, *Glomerella cingulata*, *Mycosphaerella musicola*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Phomopsis* sp. y *Pestalotiopsis* sp.; todos asociados al follaje de *H. psittacorum* en cultivo. En inflorescencias de *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* 'Golden Torch' y del cultivar conocido como 'Tropic', se han observado en las espatas y en el pedúnculo floral una sintomatología caracterizada por manchas de color marrón, necróticas y de diferentes tamaños, las cuales al coalescer se tornan extensas.

Los daños causados en las plantaciones son considerables, afectando principalmente al cultivar Golden Torch y hasta un 30% de las inflorescencias cosechadas de 'Tropic', en la época de alta humedad y temperatura. Dado el grado de severidad de la enfermedad y localización del daño, las inflorescencias pierden su valor comercial. El hongo causante de esta enfermedad pertenece al género *Myrothecium* (*Hyphomycetes*) (Escalona *et al.*, 2003).

Madriz *et al.* (1991), plantea que las especies de hongos más comunes en *Heliconia* son *Phyllosticta musae*, *Gloeosporium musarum* y *Colletotrichum musae*.

2.10 Plagas

Según Thrower, (1973), las plagas más comunes en las flores son: Trips, pulgones, araña roja y nematodos, entre otros. Los trips son insectos pequeños de movimientos rápidos, succionan la savia y por ello afectan a las plantas. Las plantas atacadas presentan listas pardas o plateadas en sus tallos, el crecimiento se retrasa y generalmente se deforman las flores. Esta plaga necesita calor y atmósfera seca.

El pulgón verde y el pulgón negro son los dos áfidos más corrientes, atacan muchas plantas. Tienen un tamaño de 1.5 mm., rápidamente invaden las hojas y los brotes tiernos, que se ven seriamente afectados debido a que tales insectos succionan la savia

de las plantas. En un ataque intenso causan daños considerables al cultivo provocando el secado de las plantas. Pueden además ser los principales transmisores de las enfermedades virales. Prefiere las temperaturas cálidas y poca humedad relativa.

Las numerosas colonias de araña roja son visibles mediante una lupa, pueden producir importantes daños. Son de color rojo y se alimentan de la savia de las plantas, encontrándose normalmente en el envés de las hojas, en los ángulos de las venas. Estas al ser atacadas toman un aspecto moteado amarillento y caen prematuramente. Rociados frecuentes con agua, es el método más barato y eficiente para combatirlos en invernaderos y otras construcciones.

Los síntomas del ataque de nematodos, son el follaje y tallos distorsionados, un color pardo de las hojuelas de los bulbos y floración tardía. Si un bulbo afectado es cortado transversalmente se observan anillos coloreados de oscuro en el tejido (Sosof *et al.*, 2006).

2.11 Cosecha

Las flores de Heliconia deben cosecharse cuando las primeras dos o tres brácteas apicales están abiertas. Las flores pasadas o cosechadas muy jóvenes no continuarán creciendo y la flor se abrirá luego de la cosecha. El tallo se debe cortar lo más cerca posible de la base (rizoma), incluyendo todas las hojas que estén adheridas al tallo. Las brácteas deben estar limpias y libres de insectos y enfermedades (FHIA, 1995), (Sosof *et al.*, 2006).

2.12 Comercialización

Las exportaciones de flores exóticas, en particular de heliconias, son de alrededor de 24.000 a 30.000 tallos al año, dependiendo de las variedades. El destino de estas exportaciones son: Estados Unidos, Canadá, Holanda y Alemania (Proexport Colombia e Instituto Alexander von Humboldt. 2003), (Proexport, 2002, 2003).

Países como Colombia, explotan mucho su comercialización a través de Agrotropical, ubicada en Pereira, los envíos internacionales se hacen a través de DHL, empresa Courrier que efectúa las entregas incluido descuentos si las mismas se tratan de grandes

volúmenes. Si el pago se realiza a través de Internet con tarjeta de créditos el costo del envío es fijo, ejemplo:

Estados Unidos	us \$ 89
Canadá	us \$ 93
Asia y Australia	us \$ 128

Los envíos nacionales tienen costos que varían entre \$ 10.000 y \$ 30.000 pesos de acuerdo al volumen y el destino. A pesar de su belleza, las Heliconias tienen varias limitantes de distribución, como el peso, tamaño, costo de los fletes y el transporte inadecuado, por lo cual se deben generar acciones a corto y a largo plazo para ser competitivos en el mercado externo (Agrotropical, 2009).

Los análisis de mercado internacional y trabajos previos realizados por Biocomercio Sostenible y Proexport Colombia, muestran un gran potencial de mercado para las flores tropicales y follajes en Europa y Estados Unidos, es un sector con alto potencial para generación de empleo a nivel local y regional. Se estima que durante el año 2002, Colombia tuvo exportaciones cercanas a los 275 millones de dólares en flores tropicales y otras flores no tradicionales. No es posible calcular cuánto de este monto corresponde a Heliconias (Proexport Colombia e Instituto Alexander von Humboldt. 2003), (Biocomercio, 2006).

2.13 Otros beneficios

Además de su uso ornamental, en Colombia son un símbolo de la biodiversidad, en Venezuela son muy utilizadas como flores de corte y para el ornato de parques y jardines, en Bolivia *Heliconia rostrata* Ruiz & Pavon, es la flor nacional (Madriz, 1991).

Son importantes como protectoras, ya que protegen las fuentes de agua y son imprescindibles en la reforestación (Vargas, 2002). De vital importancia ecológica, ya que debido a su crecimiento rizomatoso son aptas para contrarrestar los movimientos de tierra en las laderas erosionadas de barrancos y pendientes. Heliconia actúa

recíprocamente con un extraordinario número de organismos. Son polinizadas por los colibrís y los murciélagos (Berry y Kress, 1991). Los frutos son azules en el Neotropico y rojo en el Paleotropico, pero los dos se dispersan por muchas especies de pájaros (Berry y Kress, 1991). Los virus, bacterias y hongos infectan sus raíces, retoños y hojas (Assis *et al.*, 2002). Gran cantidad de insectos, incluyendo escarabajos, orugas, hormigas, se alimentan o viven dentro de sus brácteas (Seifert, 1982). Tales interacciones biológicas demuestran el valor ecológico de Heliconia y su importancia en las comunidades tropicales. El rizoma o tuber de algunas es comestible, asado o cocinado; tal es el caso de la *Heliconia hirsuta*, conocida como isira o bijao, por otra parte las hojas son utilizadas en algunas regiones para envolver alimentos.

2.14 Heliconias en Cuba

Heliconia caribaea Lam., conocida como "Plátano cimarrón" es la especie endémica cubana. Tiene porte erecto, en abanico, su follaje es persistente, verde claro, brillante, más claro por el envés. Largos pecíolos envainantes, grandes hojas alternas, lanceoladas, con nerviación marcada y nervio central prominente por el envés, de limbo oblongo de un metro o más.

La floración es en invierno, nectarífera. Inflorescencia terminal en espiga densa comprimida, de 40 a 60 cm. Formada por brácteas naviculares, acuminadas e imbricadas de (5-15) cerosas, gruesas y alternas, con pequeñas flores tubulares poco visibles formadas por 3 sépalos y 3 pétalos. Estas brácteas presentan un color rojo-anaranjado. En cultivares e híbridos las brácteas pueden ser de color rojo-anaranjado, verde amarillento, amarillo, o naranja.

Las flores masculinas están en el extremo de las espigas. Sus flores son de un color verdoso-amarillentas, fruto en drupas azules en la madurez y se encuentra en los Montes húmedos de la Sierra Maestra (Loma del Gato, Oriente; España y otras Antillas (Hnos. León, 1945); (Álvarez, 1984).

Existe poco, en ocasiones es nulo, el material en los herbarios de los Jardines Botánicos, aunque en ocasiones sí están presentes algunas especies en las áreas. Existen otras

especies del género, que se encuentran de forma aislada en jardines botánicos, patios y jardines y pocas colonias en zonas urbanas y periurbanas.

La escasez de material de herbario entorpece aún más los estudios sobre el género *Heliconia*, ya que al ser hierbas muy grandes, trae consigo que no se hayan colectado en todos los momentos requeridos. *Heliconia wagneriana*, es una de las especies presentes en Cuba, pero no colectada en ningún herbario.

2.15 Descripción *Heliconias wagneriana* Petersen por W. J. Kress

Hierba con hábito similar al de *Musa*, 1.75–4 m. Hojas 3 ó 4 por tallo; lámina 95–150 × 24–30 cm, ondulada. Inflorescencia: 45 cm, erecta; brácteas cincinadas dísticas, 7–13 por inflorescencia.; bráctea medial 12–15 × 11–12 cm, con la superficie externa rojo rosado a rosada con márgenes y quilla verdes, glabra. Flores. 15–20 por cincino; perianto 55–60 × 7–8 mm, blanco basalmente, verde oscuro apicalmente, esencialmente glabro, a veces escasamente hirsuto apicalmente en los sépalos, uniformemente curvado a parabólico. Habita en bosque muy húmedo, matorrales abiertos en tierras húmedas, 0–700 msnm; común y abundante en las costas del Caribe y America Central (Kress 92-3503, INB). Las flores con sépalos verde oscuro y brácteas cincinadas anchas con márgenes verdes y lados rojo rosado son fuertemente conspicuas.

3. Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en la Biofábrica de Cienfuegos, perteneciente a la Empresa de Semillas Varias de dicha provincia, en el periodo comprendido entre mayo del 2010 y febrero del 2012. Los experimentos desarrollados se efectuaron durante la Fase 0 y I de la micropropagación:

3.1 Caracterización de la especie

Para la caracterización de la especie se colectaron plantas, se herborizaron sus partes y se confrontó con la información existente en el Instituto de Ecología y Sistemática (IES) de la Academia de Ciencias de Cuba, el Jardín Botánico Nacional (JBN), el Jardín Botánico de Cienfuegos (JBC) y la literatura internacional especializada para ello (Berry y Kress, 1991), (Kress *et al.*, 2001).

3.2 Fase 0: Preparativa

Como material vegetal de partida se utilizaron rizomas de plantas donantes de la especie *Heliconia wagneriana* Petersen (Anexo 1) (A. 1), según Berry y Kress (1991), los cuales fueron colectados en el Jardín Botánico de Cienfuegos (JBC) (A. 2). Los rizomas fueron sembrados en macetas, usando como sustrato una mezcla de suelo (50%), cachaza (40%) con 120 días de descomposición, la cual según la Estación Experimental de Suelos en Barajagua, tiene 1.48% de Potasio (P), 1.37% de Nitrógeno (N), una conductividad eléctrica de 0.98 mmol.cm³, 42,17% de materia orgánica (M.O) y una relación carbono-nitrógeno de 17.85 (40%) y zeolita (10%), el mismo fue desinfectado con vapor durante 30 minutos, todo el ciclo del experimento se desarrolló en condiciones semicontroladas (invernadero), para evitar el efecto negativo de microorganismos contaminantes, se realizaron dos aspersiones con Silvacur Combi CE 30 (fungicida eficaz con efecto sistémico, el cual es adsorbido por los ectodermos y luego se transporta vía xilema a todo el vegetal. Es de efecto preventivo, curativo y erradicante) a dosis de 30 cc. en 16 l antes de pasar a la Fase I, al 50 por ciento de las plantas, y el resto sin aplicación para su introducción, comparando los resultados en la siguiente Fase. El riego se efectuó cada tercer día de forma localizada.

3.3 Fase I: Establecimiento

El instrumental utilizado en el laboratorio para la manipulación del material vegetativo fue esterilizado en estufa a temperatura de 180°C, durante dos horas antes de cada sección de trabajo, manteniendo la asepsia. Las pinzas y bisturí, colocados en soluciones de hipoclorito de sodio (NaOCL) al 1%, según la metodología propuesta por Agramonte *et al.* (1993). Todas las operaciones de disección y transferencia fueron realizadas en cabinas de flujo laminar horizontal (A. 3).

Medio de cultivo

El medio utilizado como base en los experimentos fue líquido, compuesto por las sales inorgánicas del medio propuesto por Murashige y Skoog (1962) (MS). El pH de medio fue ajustado entre 5.6-5.8 y esterilizado en autoclave (A. 4) durante 20 min. para el caso del medio líquido; en el semisólido se aplicó Vitrofurul o G 1, según dosis recomendada (35 mg.l⁻¹).

Se utilizaron tubos de ensayo (A. 5), dosificados a 10 ml para el medio líquido y 15 ml para el semisólido, ambos suplementando con 30g.l⁻¹ de sacarosa, 2.0 ml.l⁻¹ de tiamina, 4.0 ml.l⁻¹ de 6 bencilaminopurina (6 BAP) y 0.3 ml.l⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB), y Cloramfenicol (50 mg l⁻¹) en el medio líquido (antibióticoefectivo de amplio espectro contra microorganismos). Los experimentos fueron incubados en cámaras con luz solar, a una temperatura de 28 ± 2°C y 11 horas luz por días (A. 6).

3.3.1 Porcentaje de contaminación en el establecimiento de explantes tratados y no tratados previo a Fase I con fungicida

Para determinar el efecto de las aplicaciones con fungicida a las plantas en la Fase 0 sobre los resultados en la Fase I, se realizó una evolución a 10 explantes de los cuales cinco no se habían tratado y cinco sí (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto sobre la concentración en los explantes no tratados y tratados con fungicida sobre *Heliconia wagneriana* Petersen.

Tratamientos	Explantes contaminados	Supervivencia
1 (Explantes tratados)	1-10	1-10
2 (Explantes no tratados)	11-20	11-20

Para la comparación de los dos tratamientos se utilizó la prueba de hipótesis no paramétrica de Mann Whitney para $P < 0.001$, en el paquete estadístico SPSS v. 15.1 (SPSS, 2006).

3.3.2 El hipoclorito de sodio en la desinfección del material

Para determinar la mejor concentración del hipoclorito de sodio y el tiempo de exposición del material, así como su efecto para la desinfección superficial se probaron dos concentraciones de hipoclorito de sodio (3% y 5%) durante dos intervalos de tiempo de exposición del material: 15 y 25 min., (A.8) conformándose treinta y dos tratamientos en cuatro combinaciones (Tabla 2).

El medio de cultivo MS, contenía 30g.l⁻¹ de sacarosa, 2.0 ml.l⁻¹ de tiamina, 4.0 ml.l⁻¹ de 6 bencilaminopurina (6 BAP) y 0.3 ml.l⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB).

Tabla 2. Efecto de la concentración y el tiempo de exposición al Hipoclorito de Sodio sobre la contaminación, necrosis y brotación de los explantes de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Tratamientos (32) (cuatro grupos)	Concentración (NaOCl) (%)	Tiempo de exposición (min)
1	3	15
2	3	25
3	5	15
4	5	25

Se evaluó semanalmente hasta 30 días el porcentaje de explantes contaminados y la brotación expresada en porcentaje de explantes verdes, blancos y pardos (Isaza, 2004). Para el procedimiento estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 15, pruebas de Chi-cuadrado.

3.3.3 Brotación (%) de explantes en medio líquido (Cloranfenicol) y en medio semisólido (Vitrofurul)

Se formaron dos grupos de 10, uno donde el medio era líquido y contenía Cloranfenicol ($C_{11}H_{12}N_2Cl_2O_5$) $50mg\ l^{-1}$ y el otro con medio semisólido pero con Vitrofurul o G-1 ($0.114mg\ l^{-1}$), esterilizante químico (sólido) con estabilidad de siete meses, posee acción bactericida y fungicida, sustituye el proceso convencional de autoclaveo. Se evaluó el porcentaje de brotación en el medio con Cloranfenicol y con G-1.

Para el procedimiento estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 15, pruebas de Chi-cuadrado.

4. Resultados y Discusión

4.1 Caracterización de la especie

Se presenta una breve descripción acerca de las características morfológicas y ecológicas de la especie *Heliconia wagneriana* Petersen (Tabla 3), la cual no aparece reportada en los Herbario del Instituto de Ecología y Sistemática (IES), de la Academia de Ciencias de Cuba, el Jardín Botánico Nacional (JBN), ni el Jardín Botánico de Cienfuegos (JBC). Características que coinciden parcialmente con lo descrito por Berry y Kress (1991), excepto en el número de brácteas, donde plantean, estas van desde 6-20 por inflorescencia (A. 7) y en el periodo de floración, ya que en nuestras condiciones se acorta dos meses, lo cual puede tener su causa en las elevadas temperaturas, puesto que, aunque a estas flores no les afecta el fotoperiodo, su floración sí depende de la temperatura, y cuando esta sobrepasa valores de 35⁰C no produce flores (FHIA, 1995), (Otzoy *et al.*, 2003), (Sosof *et al.*, 2006).

Especie que tiene potencial para ser cultivada no solo con interés comercial, sino en plantaciones amigables con la biodiversidad. Su uso se sugiere en el incremento de bosques secundarios y fragmentados, como una alternativa de combinar manejo forestal con conservación biológica (Santos *et al.*, 2009).

Tabla 3. Morfología y ecología de la especie *Heliconia wagneriana* Petersen.

Especie	Altura (m)	Habito de crecimiento	Orientación de la inflorescencia	Arreglo de la bráctea	Nº. de brácteas	Color de la bráctea	Hábitat	Floración
<i>Heliconia wagneriana</i> Petersen*	3.0-5.0 (1.7-5.0)	Musoide	Erecta	Dística	9-12 (6-20)	Verde, amarillo, y rojo en el centro de la bráctea	CH, CPS, CSS	enero-julio (ene-sept)

CH= Cultivada en lugares húmedos, CPS= Cultivada a pleno sol, CSS= Cultivada semisombra

4.2 Fase 0: Preparativa

Se desarrolló como se describe en el capítulo anterior que corresponde, evaluándose veinte plantas, diez con aplicación de Silvacur (fungicida) y diez sin tratar, para evaluar este resultado en la Fase I o de Establecimiento.

4.3 Fase I: Establecimiento

4.3.1 Porcentaje de contaminación en el establecimiento de explantes tratados y no tratados previo a Fase I con fungicida

Al tratar los explantes previamente a su establecimiento, aunque procedan de un área con las atenciones culturales adecuadas, los resultados que se obtienen en esta fase son mejores, como se observa en la Tabla 4, tanto para el porcentaje de contaminación, como de supervivencia, donde el 100 % de los explantes que no fueron tratados se contaminaron una vez establecidos, sin embargo al ser tratados se observó un 60% de supervivencia, coincidiendo con lo planteado por (Orellana, 1994) en plátanos y bananos, (Jiménez *et al.*, 1998) al tratar yemas de caña de azúcar con agua caliente y (Pérez *et al.*, 1998). Marulanda *et al.* (2004) con el uso de Agrodine (fungicida y bactericida de uso agrícola) obtuvo resultados positivos en algunas de sus evaluaciones.

Tabla 4. Efecto sobre la concentración en los explantes no tratados y tratados con fungicida sobre *Heliconia wagneriana* Petersen (%).

Tratamientos	Explantes contaminados	Supervivencia
1 (Explantes tratados)	30	60
2 (Explantes no tratados)	100	0
P	**	***

Valores en columnas difieren para * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Mann Whitney)

4.3.2 El Hipoclorito de Sodio en la desinfección superficial del material

A medida que se fue incrementado la concentración de NaOCl y el tiempo de exposición de los explantes sobre la contaminación (Tabla 5) esta fue disminuyendo, aunque no se observaron diferencias entre los tratamientos II y III. Los valores más elevados de

contaminación fueron en el tratamiento I, que de un 25.0%, el 18.8% se contaminó. Todo lo contrario del tratamiento IV donde no hubo contaminación. Resultados similares fueron obtenidos por (Marulanda *et al.*, 2004), (Sosa *et al.*, 2008, 2009), al emplear diversos métodos de desinfección en el establecimiento *in vitro* de otras especies del género.

Tabla 5. Efecto de la concentración y el tiempo de exposición al Hipoclorito de Sodio sobre la contaminación de los explantes de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Tabla de contingencia combinaciones de tratamientos * Presencia contaminación

			Presencia contaminación		Total
			NO	SI	
combinaciones de tratamientos	3 % y 15 min	Recuento	2	6	8
		% del total	6,3%	18,8%	25,0%
	3 % y 25 min	Recuento	4	4	8
		% del total	12,5%	12,5%	25,0%
	5 % y 15 min	Recuento	4	4	8
		% del total	12,5%	12,5%	25,0%
	5 y 25 min	Recuento	8	0	8
		% del total	25,0%	,0%	25,0%
Total	Recuento	18	14	32	
	% del total	56,3%	43,8%	100,0%	

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	9,651 ^a	3	,022	,025
Estadístico exacto de Fisher	10,125			,020
N de casos válidos	32			

a. 8 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,50.

Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada	Sig. exacta
Nominal por	Phi	,549	,022	,025
nominal	V de Cramer	,549	,022	,025
N de casos válidos		32		

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Al evaluar la concentración y el tiempo de exposición sobre la necrosis de los tejidos (Tabla 6) se aprecia que en la medida que ambas (tiempo y exposición) fueron incrementándose, los tejidos necróticos aumentaron; en la combinación de tratamientos IV del 25%, el 15.6% se necroso, obteniéndose los mejores resultados en el tratamiento III, efectos similares fueron obtenidos en otras especies del género por (Marulanda *et al.*, 2004), (Sosa *et al.*, 2008, 2009).

Tabla 6. Efecto de la concentración y el tiempo de exposición al Hipoclorito de Sodio sobre la necrosis de los explantes de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Tabla de contingencia combinaciones de tratamientos * Presencia necrosis

			Presencia necrosis		Total
			NO	SI	
combinaciones de tratamientos	3 % y 15 min	Recuento	6	2	8
		% del total	18,8%	6,3%	25,0%
	3 % y 25 min	Recuento	5	3	8
		% del total	15,6%	9,4%	25,0%
	5 % y 15 min	Recuento	4	4	8
		% del total	12,5%	12,5%	25,0%
	5 y 25 min	Recuento	3	5	8
		% del total	9,4%	15,6%	25,0%
Total		Recuento	18	14	32
		% del total	56,3%	43,8%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,540 ^a	3	,468	,640
Estadístico exacto de Fisher	2,520			,640
N de casos válidos	32			

a. 8 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,50.

Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada	Sig. exacta
Nominal por nominal	Phi	,282	,468	,640
	V de Cramer	,282	,468	,640
N de casos válidos		32		

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Cuando se evaluó la concentración y el tiempo de exposición de NaOCl sobre la brotación de los explantes *H. wagneriana*, el mejor resultado fue en la combinación II (Tabla 7), con un 15.6% de brotación, seguido del III y IV, los cuales no difieren entre sí, estudios similares fueron efectuados por (Marulanda *et al.*, 2004, Sosa *et al.*, 2008, 2009) en otras especies del género *Heliconia*.

Tabla 7. Efecto de la concentración y el tiempo de exposición al Hipoclorito de Sodio sobre la brotación de los explantes de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Tabla de contingencia combinaciones de tratamientos * Brotación

			Brotación		Total
			NO	SI	
combinaciones de tratamientos	3 % y 15 min	Recuento	6	2	8
		% del total	18,8%	6,3%	25,0%
	3 % y 25 min	Recuento	3	5	8
		% del total	9,4%	15,6%	25,0%
	5 % y 15 min	Recuento	5	3	8
		% del total	15,6%	9,4%	25,0%
	5 y 25 min	Recuento	5	3	8
		% del total	15,6%	9,4%	25,0%
Total		Recuento	19	13	32
		% del total	59,4%	40,6%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,462 ^a	3	,482	,593
Razón de verosimilitudes	2,477			
Estadístico exacto de Fisher	2,416			,593
N de casos válidos	32			

a. 8 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,25.

Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada	Sig. exacta
Nominal por nominal	Phi	,277	,482	,593
	V de Cramer	,277	,482	,593
N de casos válidos		32		

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

4.3.3 Brotación (%) de explantes en medio líquido (Cloranfenicol) y en medio semisólido (Vitrofur)

Al comparar el porcentaje de brotación entre el medio que contenía cloranfenicol y el G-1 (Tabla 8), en el primer caso la brotación fue del 40% y el segundo de 30%, para un 70% de explantes brotados y 30 que no brotaron. Marulanda *et al.* (2004) al emplear el antibiótico Rocefin para controlar el efecto de las bacterias logró en algunos tratamientos

disminuir la contaminación, de la misma forma (Viegas, 2005) aplicó Cloranfenicol al medio de *Heliconia rauliniana*, disminuyendo la contaminación y Dias (2002) verificó que *Heliconiabihai* presentó una conducta similar a *H. rauliniana*.

Tabla de contingencia Desinfestantes * brotación

			brotación		Total
			no	sí	
Desinfestantes	cloranfenicol	Recuento	2	8	10
		% del total	10,0%	40,0%	50,0%
G-1		Recuento	4	6	10
		% del total	20,0%	30,0%	50,0%
Total		Recuento	6	14	20
		% del total	30,0%	70,0%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,952	1	,329	,628	,314
Estadístico exacto de Fisher				,628	,314
N de casos válidos	20				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada	Sig. exacta
Nominal por nominal	Phi	-,218	,329	,628
	V de Cramer	,218	,329	,628
N de casos válidos		20		

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

5. Conclusiones

1- La especie *Heliconia wagneriana* Petersen tiene entre 9 y 12 brácteas por inflorescencia, de 3 y 5 metros de altura y el periodo de floración es de enero a julio.

2- Con la aplicación previa de Silvacur Combi CE 30 se incrementó la supervivencia en un 60%.

3- Para la desinfección inicial del material en la fase de establecimiento se recomienda una dosis de 3% de NaOCl y 25 minutos de exposición.

4-Con el uso de Cloranfenicol la brotación fue un 10% superior al G 1.

6. Recomendaciones

1- Probar otras combinaciones en la desinfección inicial del material de partida.

2-Continuar la investigación hasta completar la metodología de micropropagación para la especie *Heliconia wagneriana* Petersen.

7. Bibliografía

- Abalo, J., & Morales, L. (1982). Veinticinco Heliconias nuevas de Colombia. *Phytología*, 51(1), 1-61.
- Agramonte, D., Pérez, M., & Pérez, A. (n.d.). Empleo del hipoclorito de sodio NaOCl en sustitución del flameo en el cultivo de tejidos. *Centro Agrícola*, 88-89.
- Agrotropical. Heliconias y otras flores tropicales. (2009). Retrieved from <http://www.heliconias.net/heliconiasinformaciongeneral.html>
- Álvarez Pinto, M., Nueva Rielo, L., & Figueroa Cañizares, A. (1984). *Propagación de Plantas Ornamentales*. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.
- Análisis de desarrollo empresarial para la producción de Heliconias y follajes tropicales en las veredas Canaan y La Palmera ubicadas en el municipio de Salento. (2003). Instituto Alexander von Humboldt.
- Assis, A. (n.d.). Doenças e pragas das helicônias, diseases and pests of heliconias. Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- Aterhortúa, L., & Valencia, C. I. (2002). Bioconversión de embriones somáticos de *Heliconia stricta* Huber utilizando los sistemas de inmersión temporal. "RITA". *Actualidades Biológicas*, 24(76), 23-29.
- Berry, F., & Kress, W. J. (1991). *Heliconia: an identification guide*. Washington: SmithsonianInstitutePress.
- Betancur, J., & Kress, W. J. (1993). Distribución natural de las Heliconias de Colombia (pp. 33-50). Presented at the Memorias del Primer Seminario Nacional de Heliconias y Plantas Afines, Manizales.

- Betancur, J., & Kress, W. J. (1994). Distribución de las Heliconias Colombianas (p. 25). Presented at the Resúmenes del Simposio Nacional "Diversidad Biológica, Conservación y Manejo de los Ecosistemas de Montaña en Colombia," Bogotá.
- Bittencourt, L., & Oliveira, S. (1995). Estudo de doses de NPK nas variáveis de crescimento e produtividade de inflorescencias de Heliconiasp. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 9(2), 121-127.
- Dias, M. (2002). Determinacao de fontes de explantes em Heliconia (*Heliconia bihai*, Angiospermae, Heliconiaceae), isolamento, identificacao e controle de microrganismos envolvidos nas dificuldades de cultivo in vitro. Natal: UFRN.
- Díaz, J. A. (2006). *Biocomercio Sostenible. Diagnóstico de la cadena productiva de Heliconias y follajes en los departamentos del eje cafetero y Valle del Cauca*. Colombia: United Nations.
- Edgar. (2001). Jardinería y Paisajismo. Retrieved from <http://www.grancanariaweb.com/edgar/botanica/heliconia/index.htm>.
- Establecimiento in vitro de Heliconias con fines de producción masiva. Grupo de Biodiversidad y Biotecnología. (2004). Presented at the Facultad de Ciencias Ambientales U.T.P., Colombia: Ciencia y Técnica.
- Federación ecuatoriana de exportadores. (2003, de enero de). Ecuador. Retrieved from http://www.ecuador.fedexpor.com/prod_flores_tropicales.htm.
- Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. (1995). *Introducción a ornamentales tropicales*. Honduras: FHIA.
- Grupo de Prospección de Demandas Tecnológicas de Plantas Ornamentales y Flores de Corte. (2000). Nivel de satisfacción en flores y plantas ornamentales.

- Henao, E., & Ospina, A. (2008). Insectos benéficos asociados a cultivos de Heliconias en el eje cafetalero colombiano. *Museo de Historia Natural*, 12, 157-166.
- Hernández, L. (2004). El cultivo del Anthurium. *Cultivos Tropicales*, 25(4), 41-51.
- Isaza, L. (2004). Establecimiento "in vitro" con fines de producción masiva, 10(26), 193-198.
- Jerez, E. (2007). El cultivo de las Heliconias. *Cultivos Tropicales*, 28(1), 29-35.
- Jiménez, E. (n.d.). Generalidades del cultivo "in vitro." *Propagación y mejora de plantas por Biotecnología de las Plantas* (pp. 13-22). Santa Clara: Universidad Central de las Villas.
- Krees, W., Betancur, J., & Echeverri, B. (1999). *Heliconias llamas de la selva Colombiana*. Bogotá: Ed. Cristina Uribe.
- Kress, W. J., Prince, L. M., Hahn, W. J., & Zimmer, E. A. (2001). Unraveling the evolutionary radiation of the families of the Zingiberales using morphological and molecular evidence. *Syst. Biol.*, (50), 926-944.
- León, H. (1945). *Flora de Cuba*. La Habana: Instituto Cubano del Libro.
- Madriz, R., Gunta Smits, B., & Noguera, R. (1991). Principales hongos patógenos que afectan algunas especies ornamentales del género. *Heliconia. Agronomía Tropical*, (41), 5-6.
- Marulanda, M. L., & Isaza, L. (2004). *Establecimiento in vitro de Heliconias con fines de propagación masiva*. Grupo de Biodiversidad y Biotecnología.
- Maza, V., & Builes, J. (2000). *Heliconias de Antioquia guía de identificación y cultivo*. Medellín: Ed. Gráficas Ltda.

- Murashige, T., & Skoog, F. (1992). *A revised médium for rapid growth and biossays with tabaco tissue cultura*, (15), 473-479.
- Orellana, P. (1994). *Micropropagación "in vitro" de Plátanos y Bananos* (Tesis de doctorado). Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas.
- Osorio, J. (1993). Propagación clonal de heliconias a través de meristemos (pp. 1-3). Presented at the Memorias del Congreso de Heliconias y Afines. Manizales.
- Otzoy Rosales, M. R., España Miranda, E., Sosof Vásquez, J. R., & Moreno Camey. (2003). Búsqueda, recolección, preservación y establecimiento de un sistema productivo de cultivares de flores tropicales, de la familia Heliconiaceae, en el sur occidente de Guatemala. Presented at the Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Pérez, P. J., Jiménez, E., & Agramonte, D. (1998). Propagación masiva en Biofábrica. *Propagación y mejora de plantas por biotecnología*. Santa Clara: Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- PROEXPORT. (2002). Exportaciones de Colombia.
- PROEXPORT. (2003). Estudio de Mercado, Heliconias y follajes en el Estado de Florida. Presented at the Convenio específico No. 197.1/2003 Proexport Colombia – Instituto von Humboldt, Bogotá.
- Santos, A., Lombera, B. R., & Benitez-Malvido, J. (2009). New records of Heliconia (Heliconiaceae) for the region of Chajul, Southern Mexico, and their potential use in biodiversity-friendly cropping systems. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80, 857-860.

- Seifert, R. P. (1982). Neotropical Heliconia insect communities, (57), 1-28.
- Soroa, R. M. (2000). *Producción alternativa de Gerberajamesonii para una floricultura orgánica* (Tesis de Maestría). UNAH.
- Sosa, F., Ortiz, R. S., Hernández, R. P., & Armas, P. M. (2008, March). Propagación in vitro de Heliconia standley Macbride. *Revista Biotecnología Vegetal* 2008, 8(1), 43 - 50.
- Sosa Flora, M., Ortiz, R. S., Hernández, R. P., & Armas, P. M. (2009). Propagación in vitro de Heliconia standley Macbride en Cuba. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 15(2), 17-23.
- Vargas, W. (2002). *Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los Andes Centrales*. Manizales: Universidad de Caldas, Centro editorial.
- Velayos, M. (2001). *Heliconias, colibríes y murciélagos*. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC.
- Viegas Rodrigues, P. H., & Pereira Lima, A. M. (2005, June). Acclimatization of micropropagated Heliconia bihai. *Plants. 4Sci. Agric*, 62(2), 299-301.

ANEXOS



A. 1. Rizomas de *Heliconia wagneriana* Petersen.



A. 2. *Heliconia wagneriana* Petersen



A.3. Cabina de Flujo Laminar Horizontal



A. 4. Autoclave



A.5. Explantes de *H. wagneriana* en tubos de ensayo



A.6. Cámaras



A.7. Elaboración del Herbario



A. 8. Desinfección del material