



UNIVERSIDAD DE CIENFUEGOS

Carlos Rafael Rodríguez

Tesis presentada en opción al título de Ingeniero Agrónomo

Título: Efecto del Vitazyme y el humus lixiviado en la fase de aclimatación del híbrido de banano FHIA 18 (AAB)

Autor: Griselda Reyes Rosell.

Tutor: Ing. Yarledis Betancourt Medina.

Consultante: Dra. Rafaela Soto Ortiz.

Cienfuegos

2013

“Bueno es aquel que su máxima virtud sea la modestia”

José Martí.

"Dedico este trabajo a mi Familia con todo amor, afecto de corazón, hermanos, mis sobrinos que me dieron la fuerza y la razón la fe de que iba a triunfar a mi esposo, a todos los que me ayudaron y me apoyaron en todos los momentos."

“Al culminar este trabajo, quiero expresar mis más profundos agradecimientos y en especial a:

Mi tutores Ing. Yarledis Betancourt Medina.

La consultante Dra. Rafaela Soto Ortiz.

Pero también quisiera agradecer a todos que de una forma u otra me apoyaran, me guiaron y estuvieron presentes en los momentos difíciles de mi carrera. Muchos agradecimientos para todos mis compañeros de trabajo que no faltó nunca su apoyo y en especial a

Marlene Pérez López por su dedicación y esfuerzo y también a una amiga en especial que es como mi madre Evangelina Rossell.”

A todos en general muchas gracias.

RESUMEN

En Cuba desde la primera mitad de la década del 80 se iniciaron las investigaciones para establecer la propagación *in vitro* actualmente existen en el país 13 Biofábrica destinadas a la propagación masiva de plátanos, bananos y otras especies. La fase de Aclimatación es trascendental para la propagación comercial pues esta tiene como objetivo lograr plantas con mayor estabilidad genética, pues del resultado de esta dependerá en gran medida la calidad final de las plantas y la eficiencia total del proceso. La producción Vitroplanta de híbrido de banano FHIA-18 en la provincia de Cienfuegos se caracteriza por una baja calidad de las mismas en la fase .Evaluar el efecto del Vitazyme y el humus de lombriz lixiviado permitirá un mayor desarrollo de las vitroplantas. El experimento se desarrolló en la fase de aclimatación de la Biofabrica de Cienfuegos con el clon FHIA- 18(AAAB) entre los meses de Noviembre a Enero del 2012. Se estudiaron dos tratamientos de productos para estimular el desarrollo de las plántulas en esta fase IV, el bioestimulante Vitazyme y el Humus lixiviado. Se compararon con el tratamiento convencional con aplicación de urea empleándose en todos los casos el compost como sustrato. El Vitazyme resultó ser el de mejores resultados en altura, número de hojas y porcentaje de plantas aptas para su comercialización. El humus lixiviado puede resultar una opción aceptable y sustituir la aplicación de urea. El Vitazyme resultó el de mejores resultados económicos al permitir un incremento en la rotación de las plántulas en esta fase con un valor de \$312 854.00 MN. Se valora el costo de la vitroplantas por cada tratamiento. Se dan Recomendaciones.

S U M M A R Y

In Cuba from the first half of the decade of the 80 the investigations began to establish the propagation at the moment in vitro 13 Biofábrica they exist in the country dedicated to the massive propagation of bananas, banana trees and other species. The phase of Acclimatization is momentous for the commercial propagation because this he/she has as objective to achieve plants with more genetic stability, because of the result of this it will depend in great measure the final quality of the plants and the total efficiency of the process. The production Vitroplanta of hybrid of banana tree FHIA -18 in the county of Cienfuegos is characterized by a low quality of the same ones in the phase. to Evaluate the effect of the Vitazyme and the leached worm humus will allow a bigger development of the vitroplantas. The experiment was developed in the phase of acclimatization of the Biofabrica of Cienfuegos with the clone FHIA - 18(AAAB) among the months of May to August of the 2012. Two treatments of products were studied to stimulate the development of the plántulas in this phase IV, the bioestimulante Vitazyme and the leached Humus. They were compared with the conventional treatment with application of urea being used in all the cases the compost like sustrato. The Vitazyme turned out to be that of better results in height, number of leaves and percentage of capable plants for its commercialization. The leached humus can be an acceptable option and to substitute the application of urea. The Vitazyme was the one from better economic results when allowing an increment in the rotation of the plántulas in this phase with a value of \$312 854.00 M N. The cost of the vitroplantas is valued by each treatment. Recommendations are given.

Índice	Página.
1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	3
2.1 Origen y características botánicas de los plátanos y bananos	3
2.1.1 Características botánicas del cultivar híbrido FHIA-18 (AAAB)	3
2.2 Importancia de Plátanos y Bananos.	4
2.3 Situación actual de la producción de plátanos y bananos	4
2.4 Cultivo de tejidos	5
2.4.1 Regeneración por organogénesis en plátanos y bananos	6
2.4.2. Fase 0	6
2.4.2.1. Desinfección del explante inicial	7
2.4.2.2. Estado fitosanitario de los ápices	7
2.4.3. Fase I	8
2.4.3.1. Tamaño y seccionado del ápice implantado	8
2.4.3.2. Incubación de los explantes	9
2.4.3.3. Medios de cultivos de establecimiento	9
2.4.4. Fase II	10
2.4.4.1. Influencia de los reguladores del crecimiento en la fase de Regeneración de los explantes "in vitro"	10
2.4.4.2. Número de subcultivos	11
2.4.4.3. Proliferación y manejo de los vástagos o brotes	11
2.4.5. Fase III	12
2.4.5.1. Tipos de explantes	12
2.4.5.2. Empleo del vitrofural en la esterilización de los medios de Cultivos	12
2.4.6. Fase IV	13
2.5. Sustancias que pueden utilizarse para aumentar el crecimiento de las vitroplántulas	13
2.5.1. Nitrógeno.	13
2.5.2. Importancia de los elementos minerales por su papel fisiológico	15

2.5.3. Clasificación de los elementos minerales sobre los fundamentos de su movilidad en la planta y la tendencia a translocarse durante deficiencias...	16
2.6. Urea...	20
2.7. Humus de lombriz...	21
2.7.1. El humus lixiviado...	23
2.8. Vitazyme...	24
2.8.1. Cómo trabaja Vitazyme...	24
3. Materiales y métodos...	27
4. Resultados y discusión...	29
4.1. Altura de las plantas...	29
4.2. Número de hojas...	30
4.3. Porcentaje de plantas óptimas...	31
4.4. Análisis económico...	32
5. Conclusiones...	33
6. Recomendaciones...	34

1. INTRODUCCION

Los plátanos y bananos (*Musa sp*) son plantas herbáceas que se cultivan en los Trópicos y subtrópicos. Están entre los cultivos más importantes en los países de estas regiones y juntos constituyen el cuarto lugar más importante a escala mundial como alimento básico después del arroz, trigo y maíz (Afza et al, 2008).

El banano se cultiva en más de 120 países en casi 10 millones de hectáreas, con una producción anual de 95 millones de toneladas métricas. En el mundo en vías de desarrollo los bananos representan el cuarto cultivo en importancia después del arroz. (MusaDoc, 2002)

La multiplicación vegetativa de esta especie por los métodos tradicionales tiene varios inconvenientes, según López (2008) se obtiene baja tasa de multiplicación (4-7 hijos en dependencia del clon). Algunos investigadores han intentado solucionar este problema mediante el fraccionamiento de cormos (Rodríguez et al., 1981).

Una de las vías para dar respuesta a esta situación la constituye la micro propagación *in vitro*, la cual se puede definir como una forma de propagación vegetativa empleando las técnicas de cultivo de tejidos desarrollándose bajo condiciones asépticas controladas.

En Cuba desde la primera mitad de la década del 80 se iniciaron las investigaciones para establecer la propagación *in vitro* de esta especie la cual es publicada por Pérez et al., (1989). En 1987 esta tecnología cubana había sido escalada industrialmente con la construcción de una Biofábrica en Villa Clara (Pérez et al., 2000). Actualmente existen en el país 13 Biofábricas destinadas a la propagación masiva de plátanos, bananos y otras especies, con una capacidad de producción de 60 000 000 de vitroplantas (Pérez et al; 2000).

La fase de Aclimatación es trascendental para la propagación comercial pues esta tiene como objetivo lograr plantas con mayor estabilidad genética, pues del resultado de esta dependerá en gran medida la calidad final de las plantas y la eficiencia total del proceso. No obstante de las numerosas ventajas del mismo tiene como inconveniente la posible disminución del desarrollo y en la calidad de las vitroplantas

Para esta fase la tecnología ha indicado el uso de la urea foliar que a pesar de las numerosas ventajas tiene varios inconvenientes como deficiencias en la calidad en la vitroplantas.

Se conoce además el empleo de Bioestimulante tales como Vitazyme y humus lixiviado favorecen el crecimiento y desarrollo de las plantas además pueden reducir el tiempo en esta fase. Por otro lado el ministerio de la agricultura ha posibilitado la adquisición de bioestimulante (Vitazyme) los que nos permitirá estudiar esto al igual que la acción de humus lixiviado.

Problema Científico:

La producción de vitroplantas del híbrido banano FHIA 18 en la provincia de Cienfuegos se caracteriza por la baja calidad de las mismas en la fase de aclimatación dado poco desarrollo que alcanza en esta fase.

Hipótesis

La aplicación de Vitazyme y humus lixiviado en la fase de Aclimatación de híbrido de banano FHIA-18 permitirá conocer el desarrollo de las vitroplantas en la fase.

Dada la problemática anteriormente expuesta el presente trabajo tiene como objetivo general:

Evaluar el efecto del Vitazyme y el humus de lixiviado en la fase de aclimatación del híbrido de banano FHIA 18 (AAAB) .

Objetivos específicos:

Evaluar el efecto del Humus lixiviado y el Vitazyme como bioestimulante en la fase de Aclimatación en el híbrido de banano FHIA 18 (AAAB).

Realizar una valoración económica de los empleo de los bioestimulantes en la fase de Aclimatación .

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origen y características botánicas de los plátanos y bananos.

Banano, nombre común de las especies de un género tropical de plantas herbáceas de porte arbóreo que producen un fruto llamado banana o plátano. Las especies de este género son originarias del Sureste asiático, pero ahora se cultivan mucho en todos los países tropicales por sus frutos, fibras y hojas. El banano es una planta herbácea de gran tamaño, provista de una raíz perenne o rizoma, a partir de la cual se perpetúa por medio de brotes. En el trópico, el tallo es anual: muere cuando madura el fruto y brota de nuevo a partir de las yemas del rizoma. Estos tallos o yemas son el medio normal de propagación y creación de nuevas plantaciones; el desarrollo es tan rápido que el fruto suele estar maduro diez meses después de la plantación de los brotes según el genotipo. El tallo adulto mide entre 3 y 12 m de altura y está rematado por una copa de grandes hojas ovales de hasta 3 m de longitud caracterizadas por un pecíolo y un nervio central fuerte y carnoso. Las flores se disponen en espiral a lo largo de grandes espigas que brotan del centro de la copa foliar; las femeninas ocupan la base de la espiga y las masculinas el ápice. La longitud del fruto oscila entre 10 y 30 cm.; un racimo pesa 11 Kg. por término medio, pero no es raro que algunos superen los 18 Kg. Cada tallo fructifica una vez, muere y da lugar a varios brotes, de los que fructifican dos o tres. (INIBAP, 2004)

La parte comestible del plátano contiene por término medio un 75 % de agua, un 21 % de hidratos de carbono y un 1% de grasas, proteínas, fibra y cenizas.

La mitad de la producción bananera mundial se concentra en África, y gran parte de ella se consume localmente. Las principales regiones exportadoras son América Central y América del Sur.

2.1.1 Características botánicas del cultivar híbrido FHIA-18 (AAAB).

El clon híbrido FHIA-18 (AAAB) procedente de la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas es un tetraploide obtenido a partir del cruzamiento de un biploide (Prata enano) con un triploide (SH 3142), el cual se caracteriza por producir frutos de sabor dulce ácido parecido al manzano, teniendo en el mundo y sobre todo en Australia una gran demanda, entre sus características fitosanitarias encontramos que presenta una alta resistencia a la sigatoka negra, mal de Panamá, tolerante al nematodo barrenador, así como a la sequía. Este clon es una selección hermana del

FHIA-01 siendo muy similar en sus características fenotípicas, entre ellas su fortaleza como planta, soportando grandes racimos sin tutor con un buen comportamiento post-cosecha ya que demora su maduración y sus dedos no se desgranar del racimo al madurarse, momento en el cual adquiere un color característico amarillo muy uniforme, su ciclo es precoz, presentando la emisión del racimo entre 6 y 7 meses y madura entre 115 y 130 días después de la emisión del racimo. (Pérez, 1994)

2.2 Importancia de Plátanos y Bananos.

Los plátanos y bananos poseen frutos altamente energéticos, sus carbohidratos son fácilmente asimilables por el organismo. En general estos frutos se componen principalmente de agua, carbohidratos, conteniendo cantidades insignificantes de proteínas y grasas, sin embargo son ricos en vitamina A, B, C, E y minerales, de ahí su alta demanda en la alimentación mundial. (López, 1989). Además los diferentes órganos del banano poseen mundialmente diferentes usos entre los que podemos citar: medicinal, producción de alcohol y fuente de fibra. (INIBAP, 2001).

Los agricultores mundialmente suministran a los mercados locales bananos de diversos tipos (bananos para postres, cocción, molturación y plátanos) no soliendo hacer tratamientos químicos para su conservación, por lo que necesitan clones resistentes y en muchos casos no poseen los recursos financieros para poder pagar otro tipo de tecnología que aumente los rendimientos y la resistencia a enfermedades. La biotecnología pudiera ofrecer nuevas oportunidades para la seguridad alimentaria, donde el banano es la fuente de mayor importancia como alimento fundamentalmente en países en vía de desarrollo, como pudiera ser regulando la maduración, esto podría prolongar la campaña, lo que permitiría poner a disposición del consumo local más frutos y por periodos más largos. (INIBAP, 2004).

2.3 Situación actual de la producción de plátanos y bananos.

La producción actual de plátanos y bananos se estima alrededor de 88 millones de toneladas, según la FAO (1999), lo cual lo coloca en uno de los alimentos de mayor producción mundial, después del arroz, maíz y trigo (Gómez et al., 2000).

Hasta diciembre de 1999 se habían plantado en el país más de 10000 ha de los clones híbridos producidos en la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA) resistente a la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis* Morellet), ello representan el 10.58 % del área nacional sembrada con estos clones híbridos, lográndose este objetivo con el empleo de la micropropagación "in vitro" en Biofábricas lo cual cambió

la estructura clonal en el país, fundamentalmente basada en los bananos de cocción Burro CEMSA. (Pérez et al., 2000)

La producción actual del plátano en Cuba es afectada por dos fenómenos importantes, la sequía y los huracanes, aunque existen otros factores que afectan la producción, como son las plagas y enfermedades, entre las cuales podemos enumerar hongos como la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis* Morelent), los virus como el CMV y BCV y otras bacterianas como *Erwinia* sp que afectan el cormo y el pseudotallo. Con los clones híbridos FHIA-18 (AAAB), FHIA-01 Var 1 (AAAB), FHIA-20 (AAAB), FHIA-21 (AAAB) y FHIA-22 (AAAB), se atenúa esta situación, excepto la de procedencia viral. Existen otros factores que afectan la producción platanera en el país, motivado por el desconocimiento, mal manejo del hombre entre las cuales se puede citar la selección del hijo seguidor, etc. Estos factores provocan que se tenga plátano sembrado en todo el país con el objetivo de obtener altas producciones en grandes extensiones, sin embargo en la actualidad se trabaja en todos los territorios del país por la electrificación de las áreas existentes entre un 20 - 25 % y establecer una tecnología de futuro como nueva concepción en la producción de plátano fruta y vianda, basada en el uso de altas densidades de siembras con un solo ciclo de cultivo, la cual incrementa los rendimientos dos o tres veces por encima de lo tradicionalmente utilizado hasta el momento, las cuales cumplirían el objetivo de entregar 5 libras mensuales de frutos por habitantes urbanos (Álvarez, 2003).

2.4 Cultivo de tejidos.

Las técnicas del cultivo de tejidos constituyen una de las aplicaciones prácticas más importante de las ciencias biotecnológicas para la rápida propagación de las plantas (George y Sherrington, 1984). La obtención de material de propagación libre de enfermedades fungosas y bacterianas, así como la conservación e intercambio de germoplasmas constituyen importantes aplicaciones de estas técnicas, (Vuylsteke y De Langhe, 1985)

Los primeros reportes sobre la aplicación de las técnicas del cultivo "in vitro" en banano se remontan a la década de los años 70 en Taiwan y China. (Ma y Shii, 1972)

El empleo del cultivo de tejidos en el mejoramiento genético se inicia con la inducción de mutaciones por irradiación de yemas que se desarrollaba "in vitro". (De Guzman et al., 1982)

En Cuba a partir de la primera mitad de la década del 80 se iniciaron los trabajos para la micropropagación "in vitro" de plátanos y bananos, lográndose desarrollar esta tecnología y escalarla industrialmente en 1987. (Pérez et al., 1989)

La mayor parte de la producción de vitroplantas en el mundo está basada en plantas de flores, árboles frutales y en baja proporción en plantas agrícolas, dentro de los cuales los plátanos y bananos constituyen la especie más propagada seguidas por la papa. (Orellanas et al., 1991)

Las principales especies micropropagadas en las Biofábricas lo constituyen la papa, caña, fresa, ornamentales y plátanos y bananos que constituyen la principal especie micropropagada en estos centros.

2.4.1 Regeneración por organogénesis en plátanos y bananos.

Las fases de la micropropagación "in vitro" de plantas son las siguientes:

La fase 0 (fase preparativa) es importante y necesaria para la micropropagación pues se selecciona el material de partida en base a sus características genéticas y fitosanitarias. (Debergh y Maene, 1981).

En la fase I (establecimiento) el ápice caulinar es manipulado mediante la composición del medio de cultivo, con el propósito de establecer un renuevo viable.

La fase II (multiplicación, proliferación o ahijamiento) tiene como objetivo la multiplicación de vástagos.

La fase III (elongación, inducción de raíces y crecimientos) debe garantizar la formación completa de la vitroplanta.

La fase IV (endurecimiento, adaptación o aclimatación de las vitroplantas)

2.4.2. Fase 0

Esta fase persigue garantizar material de partida de alta calidad genética y fitosanitaria, vías que aceleran el desarrollo y eficiencia de la fase I.

La selección y crecimiento de la planta madre en condiciones asépticas influye directamente en la disminución de las contaminaciones principalmente bacterias (Martínez et al., 1992, 1995; Orellana, 1994).

Una problemática que se presenta en la micropropagación "in vitro" de esta especie lo constituye las contaminaciones y la oxidación fenólica que se producen en la fase I, pues generalmente la selección del material se hace en campo y bancos de germoplasma y se introducen directamente "in vitro". (Damasco et al., 1984; Sandoval, 1985; Zamora et al., 1989; Pérez et al., 1989)

Se reporta que cuando los ápices provienen directamente de campo, la duración de la fase I se prolonga 24 – 25 días después de la implantación con índices de contaminación superiores al 20 %. (Martínez et al., 1992; Orellana et al., 1994)

Esta problemática pudiera ser resuelta si los explantes iniciales provinieran de plántulas donantes cultivadas en condiciones de mayor asepsia. Empleando plantas que se desarrollaban en estas condiciones como donantes del explante inicial, se produjo una respuesta más rápida a la proliferación que en los de campo. (Cronauer y Krikorian, 1983; Orellana, 1994)

2.4.2.1. Desinfección del explante inicial.

Para la desinfección del explante inicial se han empleado comúnmente soluciones de hipoclorito de sodio (NaOCL) en concentraciones entre 0.5 y 5 % (Krikorian y Cronauer, 1984; Jarret et al., 1985, citado por Martínez (1995); Sandoval, 1985). Las soluciones de hipoclorito de calcio (CaOCL) son tan efectivas como las de sodio (Vuylsteke y De Langhe, 1985; Benerjee et al., 1985). Los tiempos de duración de las desinfecciones oscilan entre 5 y 45 minutos. (Cronauer y Krikorian, 1983; Damasco et al., 1984)

En el anteproyecto de norma técnica, que rige el funcionamiento de las Biofábricas de plátanos en Cuba se plantea la desinfección con hipoclorito de sodio al 3 % durante 20 minutos. (Aragón, 1991)

2.4.2.2 Estado fitosanitario de los ápices.

Uno de los objetivos de la fase es lograr la implantación "in vitro" de ápices libres de enfermedades bacterianas y fungosas.

Los hongos y bacterias con el proceso de desinfección y eliminando los tejidos externos del cormo y el pseudotallo son liberados de los ápices y meristemos (Arias y Valverde, 1987).

El cultivo de meristemos ha sido utilizado para obtener plantas de bananos libre de virus. Combinando tratamientos térmicos con cultivos de meristemos se ha obtenido plantas libres de virus del mosaico amarillo del pepino (CMV) (Gupta, 1986).

Los meristemos de mayor tamaño aumenta la posibilidad de regeneración de plántulas, pero también es mayor la posibilidad de que las plantas regeneradas estén infectadas con virus (Beelen, 1965), citado por Martínez (1995).

2.4.3. Fase I

El objetivo fundamental de esta fase es lograr un cultivo aséptico de ápices de plantas de buenas características genéticas y fitosanitarias, previamente diagnosticadas para lograr confiabilidad durante el proceso tecnológico. La desinfección, el corte y la incubación de los explantes juegan un papel fundamental para lograr este objetivo.

Los explantes en la mayoría de los casos proceden de yemas, brotes jóvenes con hojas rudimentarias, hijos o brotes con hojas uniformes (Vuylsteke, 1989), citado por Martínez (1995).

La micropropagación a partir de ápices caulinares y meristemas ha sido reportada en plátanos y bananos por numerosos autores. (Ma y Shii, 1972; Krikorian y Cronauer, 1984; Vuylsteke y De Langhe, 1985; Arias y Valverde, 1987; Pérez et al., 1989). También se ha reportado el empleo de ápices meristemáticos florales como explante inicial. (Krikorian y Cronauer, 1984; Rao et al., 1993)

Los ápices caulinares pueden ser obtenidos de todas las partes de la planta que contengan meristemas. La respuesta al crecimiento y la sobrevivencia del explante no difiere entre los ápices caulinares obtenidos a partir del pseudotallo madre, sus hijos, yemas laterales o hasta brotes muy pequeños (Jarret et al, 1985, citado por Martínez (1995); Vuylsteke y De Langhe, 1985). Existen pocos trabajos sobre el efecto en el comportamiento del cultivo en la etapa en que se obtienen los explantes. Sin embargo, las yemas, brotes pequeños con hijos rudimentarios y pequeños hijos en espada, son preferidos como fuente de explantes por su fácil manipulación y menos daños se le causan a la planta madre (Jarret et al., 1985), citado por Martínez (1995).

Las yemas de ojos o botones que se encuentran alrededor de la yema apical han sido empleadas como fuente donadora del explante inicial (Damasco et al., 1984; Vuylsteke y De Langhe, 1985).

La implantación de ápices de plátanos y bananos a partir de plantas seleccionadas que crecen in situ, cultivadas en invernaderos y canteros tecnificado constituyen una vía para aumentar la eficiencia de los métodos "in vitro" (Orellana, 1994; Martínez, 1995).

2.4.3.1. Tamaño y seccionado del ápice implantado.

El tamaño final de ápice de plátano y banano a implantar depende de si es necesario o no el saneamiento a virus, si se quiere sanear a virosis el tamaño final del ápice meristemático queda reducido entre 0.1 y 1.3 mm, lo cual se puede combinar con

tratamientos químicos y térmicos (Pérez et al., 1989). Otros autores recomiendan tamaño entre 3-8 mm con varias hojas primordiales (Damasco et al., 1984; Sandoval, 1985). Estos últimos encontraron como tamaño óptimo del ápice 5 mm, así como que a menor tamaño del explante menor sobrevivencia y menor incremento de la oxidación fenólica.

El anteproyecto de norma técnica para las Biofábricas cubanas orienta dejar el cormo en forma de base cuadrada de 0.5 cm y 0.5 cm de alto del pseudotallo. El explante inicial tiene gran importancia para la fase II, pues de su seccionado depende el número de brotes en el primer subcultivo. (Aragón, 1991; Martínez et al., 1992; Orellana, 1994; Martínez, 1995)

2.4.3.2.. Incubación de los explantes.

Las temperaturas e iluminación constituyen las condiciones ambientales más estudiadas y necesarias para la incubación de los ápices durante la iniciación.

Para el normal desarrollo de los ápices o meristemas de plátanos y bananos son normales las fluctuaciones entre las temperaturas diurnas y nocturnas en rangos de 26-32 °C. Los valores próximos a los 30 °C resultan óptimos (Dore Swamy et al., 1983; Krikorian y Cronawer, 1984; Benerjee et al., 1985).

En la iniciación de los ápices, la intensidad y calidad de la luz, así como el fotoperiodo son de vital importancia. Son reportado fotoperíodos en rangos de 8-16 horas de luz (Damasco et al., 1984; Vuylsteke y De Langhe, 1985), sin embargo es ampliamente utilizado para el crecimiento proliferativo y la regeneración de plantas de plátanos y bananos fotoperíodos de 12 hasta 16 horas de luz.

2.4.3..3. Medios de cultivos de establecimiento.

La formulación reportada por Murashige-Skoog, (1962), conocida como medio MS o medio basal son las más empleadas en la fase I.

Los medios son suplementados con pequeñas dosis de auxinas y citoquininas (Benerjee et al., 1985; Novak et al., 1988).

El uso de auxinas exógenas no siempre es necesaria para la fase de iniciación, pero si estimulan el crecimiento, constituyendo el AIA y el AIB las auxinas más empleadas. Las dosis de AIA oscilan entre 0.1 y 1 mg/l en esta fase (Benerjee et al., 1985), mientras que el AIB se utiliza en dosis desde 0.05-0.15 mg/l (Pérez et al., 1989).

Como fuente de carbono en el suplemento de los medios se emplean la sacarosa, las concentraciones más empleadas en esta fase son 2.0 % de sacarosa (Rao et al., 1993; Dore Swamy et al., 1983; Damasco et al., 1984) y 3 % (Pérez et al., 1989).

Durante la fase de iniciación se han utilizado medios sólidos, semi-sólidos y líquidos. Los medios en estado sólidos han sido empleados por numerosos autores (Ma y Shii, 1972; Damasco et al., 1984; Rao et al., 1993) y los semi-sólidos (Dore Swamy et al., 1983; Krikorian y Cronauer, 1984; Bernerjee et al., 1985). Más reciente resulta el empleo de medios líquidos con un soporte de papel filtro, los que han mostrado ser más adecuados para evitar la fenolización y acelerar el crecimiento de los ápices (Orellana et al., 1991). Este último estado es el normado en el anteproyecto de norma técnica de las Biofábricas cubanas. (Aragón, 1991). El estado líquido del medio durante la iniciación proporcionó un alto porcentaje de brotes por explantes (Krikorian y Cronauer, 1984).

El agua de coco ha sido empleada en los medios de iniciación como suplemento inorgánico en concentraciones entre 1 y 15 % (De Guzmán et al., 1982; Dore Swamy et al., 1983; Damasco et al., 1984).

La mayoría de los medios de iniciación reportados coinciden en que el PH óptimo para esta fase es 5.8.

2.4.4. Fase II

La producción de grandes volúmenes de propágulos de alta estabilidad genética constituye el objetivo de esta fase. Estos objetivos se pueden obtener por tres vías: Propagación por yemas axilares, por yemas adventicias y embriogénesis somáticas. La propagación por yemas adventicias se ha usado con frecuencia en plátanos y bananos (Ma y Shii, 1972; Dore Swamy et al., 1983; Damasco et al., 1984). La embriogénesis somática de plátanos y bananos aún no está muy difundida en esta especie pues con la inestabilidad genética se corre el riesgo de aumentar las variaciones, aunque esta ofrece alta eficiencia. Es por ello que se hace referencia a las dos primeras por ser las más empleadas a escala comercial.

2.4.4.1 Influencia de los reguladores del crecimiento en la fase de regeneración de los explantes "in vitro".

Las auxinas en la fase de proliferación estimulan el crecimiento de los brotes. Dentro de las auxinas las más empleadas en el cultivo "in vitro" de plátanos y bananos lo constituye el ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y el ácido

indolbutírico (IBA) en la fase II. Entre las auxinas más usadas está el AIA, la que se ha empleado en bajas concentraciones entre 0.1 y 1 mg/l, también se ha reportado el ANA en concentraciones que oscilan entre 0.1 y 1 mg/l. Esta ha sido usada como suplemento auxínico en esta fase. (Krikorian y Cronauer, 1984)

Las citoquininas constituyen el regulador de crecimiento esencial para vencer el efecto de dominancia apical y fortalecer la formación de vástagos desde las axilas de las hojas. Existen muy pocos medios de cultivos que entre sus componentes no posean una citoquinina (Hu y Wang, 1984).

El (6-Benzilaminopurina) 6-BAP es la citoquinina preferida para inducción de brotes a partir de yemas axilares. El 6-BAP se ha utilizado en diferentes concentraciones siendo reportado entre 5-10 mg/l (Krikorian y Cronauer, 1984; Damasco et al., 1984).

2.4.4.2 Número de subcultivos.

Para la fase de multiplicación el número de subcultivo se realiza con una periodicidad de 21-30 días (Dore Swamy et al., 1983; Aragón, 1991; Orellana, 1994). La edad de los cultivos "in vitro" está asociada a la variación somaclonal. El número de subcultivo está en dependencia del número de plantas a obtener a partir de un ápice original (Orellana, 1994). Algunos autores recomiendan obtener rangos de 1000-2000 vitroplantas por cada ápice. En Cuba se recomienda obtener 10000 vitroplantas a partir de un ápice.

2.4.4.3 Proliferación y manejo de los vástagos o brotes.

Los medios utilizados para la proliferación de los explantes contienen citoquininas los cuales estimulan el desarrollo precoz de las yemas axilares al inhibir la dominancia apical (Hu y Wang, 1984) con esto se estimula la proliferación de vástagos, posibilitándose en un corto período la realización de un nuevo subcultivo.

Los subcultivos normalmente se realizan cada 21 días, período en el cual el número de renuevos disponibles para ser subcultivados se multiplicarán como resultado de la activación de las yemas axilares de 2 a 12 veces (Giles, 1985)

En plátanos y bananos se reportan diferentes rangos de multiplicación en dependencia del genotipo, del tipo de explante, de la composición del medio nutritivo y del manejo empleado, utilizando explantes de un ápice meristemático decapitado de un hijo, se obtuvieron de 5-10 brotes adventicios a partir de cada explante después de 6-8 semanas. Hwang et al. (1984); Krikorian y Cronauer (1984) lograron en el clon Pelipita un promedio de 9 renuevos en 3 semanas por cada mitad de un renuevo original dividido longitudinalmente. En Colombia se reporta la producción masiva de plántulas

donde a partir de un brote proveniente de meristemo se inducen en un tubo de ensayo hasta 50 brotes en menos de 15 días (Angarita, 1984).

2.4.5. Fase III

El propósito final en la formación de plantas completas es la regeneración de raíces adventicias en los brotes obtenidos en la fase II. Existen especies en que la elongación de los brotes es inhibida por la influencia de la citoquinina durante la fase de proliferación que ejerce un efecto residual, por lo que un período de inducción radicular es necesario antes del enraizamiento (Hu y Wang, 1984). Este efecto residual puede ser disminuido mediante el empleo de medios líquidos en movimiento estático, reduciendo los niveles de citoquininas.

2.4.5.1. Tipos de explantes.

Vuylsteke (1989), citado por Martínez (1995) señala que los propágulos en el subcultivo deben ser brotes individuales, yemas o un pequeño grupo de 2-5 brotes o yemas. Este mismo autor sugiere que si se emplean recipientes de cultivo grandes explantar hasta 15 renuevos o yemas por cada uno.

Existen otros autores que recomiendan brotes individuales de 1-1.5 cm preferiblemente con uno o más hojas primordiales (Vuylsteke y De Langhe, 1985; Sandoval et al., 1991). Además señalan que pequeños brotes forman raíces aisladamente y que si los brotes están diferenciados y presentan de 2 a 3 hojas completamente desarrolladas, es recomendable eliminar dicho follaje. Martínez, (1995) obtuvo excelentes resultados utilizando en el último subcultivo de multiplicación un medio de multiplicación-enraizamiento en los clones Gran enano (AAA) y FHIA-03 (AABB), eliminando el subcultivo de enraizamiento.

2.4.5.2. Empleo del vitrofural en la esterilización de los medios de cultivos.

El vitrofural es un esterilizante químico que como aditivo a los medios de cultivo para la producción masiva de vitroplantas sustituyen el proceso convencional de autoclaveo. Posee acción bactericida y fungicida de amplio espectro, se emplea en concentraciones de 35 mg/l de medio de cultivo. En su composición por cada 100 g de sustancia activa posee 30 g de furvina y 70 g de polietilenglicol 600. Su formulación es sólida, debe protegerse de la luz y mantenerse a temperatura ambiente (25 °C). No es tóxico a los humanos y su estabilidad es de 7 meses, aunque existen estudios que amplían su estabilidad por 2 años. (Castañeda, 2000)

2.4.6. Fase IV

Esta fase es trascendental para la propagación comercial ya que influye directamente en la calidad final de las plantas y la calidad final del proceso. En esta fase se garantiza un retorno gradual de las plantas a sus características morfológicas normales (Agramonte, Jiménez y Dita, 1998).

Las técnicas más eficaces en la aclimatación son las que van encaminadas a lograr gradualmente menos humedad relativa, más luz, crecimiento autotrófico y un medio séptico. La eficiencia de la aclimatación es trascendental para la propagación comercial, pues de los resultados de esta dependerá en gran medida, la eficiencia total del proceso y la tecnología. Su eficiencia está dada por el grado de supervivencia de las plantas durante el tiempo de aclimatación.

Plantea esta misma autora que en el proceso normal de micropropagación los brotes y plantas son cultivados en medios de cultivo con azúcares, vitaminas y otras sustancias orgánicas, lo que determina el desarrollo heterótrofo de los mismos (nula o baja capacidad fotosintética). Sin embargo, durante la fase de adaptación estas plantas están forzadas a ser completamente autótrofas y sintetizar los compuestos orgánicos necesarios a partir de minerales, agua, CO_2 y luz. Este cambio en las plantas así como en la morfología de las mismas determina la susceptibilidad durante las etapas iniciales del proceso de aclimatación.

Teniendo en cuenta las características in Vitro en un inicio deben cultivarse las plantas en condiciones que se acerquen a este ambiente, es decir, alta humedad relativa y baja intensidad luminosa; posteriormente debe reducirse la humedad relativa y aumentarse la intensidad luminosa para que las plantas se desarrollen en un ambiente parecido al de campo abierto con hojas, tallos y raíces adaptados a estas condiciones completamente funcionales (Isaza, 2004)

2.5. Sustancias que pueden utilizarse para aumentar el crecimiento de las vitroplántulas

2.5.1. Nitrógeno.

Las investigaciones actuales en el área de la nutrición mineral es central para la agricultura moderna y la protección ambiental. Por una parte la agricultura de elevado rendimiento depende fuertemente de la fertilización mineral y de hecho para la mayoría de los cultivos los rendimientos crecen linealmente con la cantidad de elementos minerales que absorben (Loomes y Corner, 1992 citado por Torres, 2001); y de otra

parte los fertilizantes contaminan las aguas subterráneas, incrementan los niveles de fijación de nutrientes al suelo y contribuyen a la contaminación atmosférica (Taiz y Ziegler 1998 citados por Torres, 2001)).

El paradigma inequívoco de que la fertilización mineral incrementa notablemente los rendimientos, pero lesiona seriamente el ambiente (agua, suelo, atmósfera); y por otra parte la humanidad tiene necesidades crecientes de alimentos vegetales; constituye un desafío apremiante a resolver por los hombres de ciencia.

Las plantas absorben y acumulan en sus tejidos muchos elementos minerales; sin embargo no todos los nutrientes resultan imprescindibles al metabolismo y al funcionamiento de las plantas. Hasta el momento se ha demostrado que al menos 16 elementos minerales absorbidos por las plantas son imprescindibles para que las mismas puedan completar su ciclo de crecimiento y desarrollo; dado que estos elementos forman parte de moléculas o constituyente obligados de la planta. Precisamente un elemento es clasificado como esencial cuando la planta lo requiere en determinada concentración para completar su ciclo de vida y porque forma parte de constituyente esencial al vegetal.

Los elementos minerales esenciales suelen clasificarse en macroelementos cuando son requeridos por el tejido vegetal en concentración superior de $30 \text{ mmol.g}^{-1} \text{ ms}$ y por debajo de este nivel clasifican los llamados microelementos o elementos trazas; esta es la clasificación más utilizada en la literatura especializada. También los elementos minerales esenciales suelen clasificarse por sus propiedades físico-químicas en metales (K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Mo y Ni) y no metales (N, S, P, B y Cl). Estas clasificaciones de los elementos minerales han sido cuestionadas en los últimos años y han sido consideradas inadecuadas dado que cualquier elemento mineral esencial puede ejecutar una variedad de funciones y algunas de estas funciones pueden estar cerradamente correlacionadas con la cantidad en que es requerido o con las propiedades físico-químicas. Al parecer estas clasificaciones resultan difíciles para justificar fisiológicamente y en los últimos años se va alcanzando consenso en que los elementos minerales esenciales deben ser clasificados por el rol bioquímico y la función fisiológica. (Guardiola y Amparo García 1991; Marschner 1995 y Taiz y Ziegler 1998 citados por Torres, 2001)

Se consideran macroelementos, macronutrientes o elementos mayores; como indistintamente son conocidos en la literatura, a los elementos minerales nitrógeno,

potasio, calcio, magnesio, fósforo, azufre y silicio. Estos elementos en el tejido vegetal están presentes en cantidades superiores al 0,1% de la materia seca. Los estimados de concentración de los macroelementos esenciales están en valores adecuados para un desarrollo óptimo de las plantas en un rango que va desde 30 m moles.g⁻¹ de masa seca de tejido vegetal para el azufre, hasta 1000 M moles g⁻¹ de tejido vegetal para el Nitrógeno

2.5.2. Importancia de los elementos minerales por su papel fisiológico.

Función Estructural.

Como constituyentes de estructuras orgánicas. Tiene este tipo de función (función estructural) el nitrógeno, fósforo y azufre como constituyentes de proteínas y ácidos nucleicos. Esto lo confirma también López (1989) quien plantea que el nitrógeno es fundamental para el desarrollo de la planta ya que participa en la estructura de las moléculas proteicas, además se encuentra en las moléculas de ácido nucleico, ADN y ARN esenciales para la proteína, en el anillo de la porfirina de la clorofila y todo el protoplasma. Este elemento lo absorbe la planta en forma de nitrato o de amonio

Una clasificación más amplia y acabada de los elementos esenciales en correspondencia al rol metabólico y funciones fisiológicas en que los mismos resultan imprescindibles, nos la presenta Taiz y Zieger (1998), citados por Torres(2001) basándose en los avances científicos ocurridos entre 1970 y 1990. La misma establece cuatro grupos y para cada elemento mineral define las funciones. En esta clasificación el primer grupo comprende los elementos que forman los compuestos orgánicos de las plantas y que después de ser absorbidos, sus formas iónicas (NO_3^- , NH_4^+ y SO_4^{2-}) deben ser oxidados y reducidos en el proceso de asimilación.

Tabla: 1_Nutrientes que forman compuestos orgánicos

ELEMENTO	F U N C I O N E S
NITROGENO	Constituyente de aminoácidos, amidas, proteínas, ácidos nucleicos, nucleótidos, coenzimas, hexoaminas, etc.
AZUFRE	Componente de cisteína, cistina, metionina y proteínas. Constituyente

	de ácido lipoico, coenzim aa, tiamina, pirofosfato, glutatiòn, biotina, adenosina-5-fosfo-sulfato y 3-fosfoadenosin.
--	--

2.5.3. Clasificación de los elementos minerales sobre los fundamentos de su movilidad en la planta y la tendencia a translocarse durante deficiencias. (Taiz y Zieger 1998 citados por Torres, 2001)).

En el suelo el oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno forman la fase gaseosa de ellos y aunque están disueltos en la solución del suelo las raíces los absorben predominantemente de las burbujas de aire localizadas entre las partículas.

Este fenómeno de adsorción iónica que se da en las partículas de la fase sólida es un factor importante de la fertilidad de los suelos.

Los nutrientes minerales adsorbidos en las partículas pueden ser reemplazado por otros cationes mediante el proceso de intercambio catiónico. El grado en que un suelo puede adsorber e intercambiar iones es denominado como su capacidad de intercambio catiónico, la cual, es altamente dependiente del tipo de suelo.

Las cargas negativas de las superficies de las partículas inorgánicas y orgánicas de los suelos tienden a repeler a los aniones minerales tales como NO_3^{-1} y Cl^{-1} , por lo que tienden a permanecer disueltos en la solución del suelo.

Por las razones anteriores los aniones requeridos por las plantas, entre ellos, el NO_3^{-} se encuentra móvil en la solución del suelo, siendo factible su lixiviación por el agua

Dentro de la nutrición mineral vegetal se estudia la asimilación de los nutrientes minerales esenciales para el ciclo de vida de la planta. Por asimilación mineral debe entenderse la incorporación de nutrientes minerales en la estructura de sustancias orgánicas, entre las que podemos citar: pigmentos, cofactores enzimáticos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, y aminoácidos.

Entre los procesos de asimilación de los nutrientes se destacan los del nitrógeno y azufre que se realizan en series complejas de reacciones metabólicas con grandes requerimientos energéticos. Así en el proceso de reducción del nitrógeno (NO_3^{-} donde N:+5) hasta NH_4^{+} (N:-3) y finalmente su incorporación a la amida glutamina se

consumen el equivalente a 12 ATP por mol NO_3^- según Bloom et al (1992) citados por Torres(2001) y de hasta 17 ATP según Waste (1995) citado por el mismo autor; quien señala que la importancia de la reducción y asimilación del NO_3^- para la vida de la planta es similar a la que tiene el proceso de reducción del CO_2 en la fotosíntesis.

Las plantas absorben el nitrógeno fundamentalmente en forma de ión nitrato (NO_3^-) o como ión amonio (NH_4^+). Las especies vegetales poseen diferencias acentuadas en la preferencia y/o tolerancia hacia las formas de nitrógeno. También está demostrado la capacidad vegetal para absorber alguno de los compuestos orgánicos del nitrógeno disueltos en agua: entre los que pueden señalarse: urea, aminoácidos, bases orgánicas, asparragina, arginina. Algunos de estos compuestos son absorbidos por las raíces incluso con mayor velocidad que el nitrógeno nítrico y amoniacal de acuerdo a Rubin (1984) citado por Torres(2001) pero su contribución a los requerimientos de nitrógeno de las plantas es pobre.

Según López (1989) este elemento lo absorbe la planta en forma de nitrato o de amonio y es rápidamente reducido a amonio. Muchas especies silvestres así como las plantas cultivadas absorben las mayores cantidades de N en forma de (NO_3^-). Por el contrario las coníferas y los pastos absorben casi todo el N que requieren en forma de NH_4^+ . Las leguminosas (casi 20 000 especies) fijan y asimilan el nitrógeno molecular a través de la asociación simbiótica con diferentes especies de bacterias. También otras especies de plantas (árboles y arbustos) tienen la capacidad de fijar N_2 al formar asociación simbiótica con cianobacterias y actinomicetos.

Las plantas asimilan la mayoría del nitrato absorbido por sus raíces en compuestos orgánicos nitrogenados. El primer proceso que ocurre en la asimilación del nitrógeno es la reducción del Nitrato seguido por la asimilación del Amonio.

La absorción de nitrato y su reducción en las raíces y hojas están reguladas directa o indirectamente por diferentes factores, entre los que podemos citar: la luz, la concentración del NO_3^- en el medio y en el interior celular, la presencia en el medio de formas reducidas de nitrógeno, la especie de planta y el estadio de crecimiento y desarrollo entre otros.

La presencia de NH_4^+ en el medio suele originar un descenso en la velocidad de absorción del NO_3^- ; así mismo la velocidad de absorción está también regulada por su concentración tisular.

En la mayoría de las especies las raíces y hojas son capaces de reducir el nitrato; y las raíces pueden reducir entre el 5 y 95% del nitrato. La proporción de reducción que ocurre entre las raíces y las hojas depende del suministro de nitrato, la especie de vegetal, la edad de la planta y su estado nutricional. En general, cuando el suministro externo de NO_3^- es bajo, la mayor proporción de la reducción ocurre en las raíces.

El proceso de reducción del NO_3^- y la asimilación del NH_4^+ , ya hemos señalado que constituye un proceso que consume gran cantidad de los equivalentes de reducción (NADPH) y ATP formados en la fotosíntesis; por lo que es lo lógico que la síntesis de NR y NiR se estimule por la luz, ya que es cuando mayor disponibilidad energética posee la planta. Últimamente se ha descrito un mecanismo de inactivación/activación de la NR por fosforilación/desfosforilación en respuesta a los cambios oscuridad/luz (Maldonado, 1993 citado por Torres, 2001).

Dado que la fotosíntesis (fase lumínica) aporta los requerimientos energéticos del metabolismo de reducción del CO_2 y del NO_3^- ; se ha sugerido que en condiciones de baja iluminación o en plantas fructificando ello puede conducir a una competencia entre la reducción del CO_2 y del nitrato. De otra manera en condiciones de elevada intensidad luminosa y excesiva absorción lumínica (fotoinhibición, fotooxidación) la reducción del nitrato no solo puede usar la energía de reserva, sino que puede aliviar el estrés por alta intensidad lumínica (Waste, 1995 citado por Torres, 2001).

En las plantas superiores el NH_4^+ no sólo se genera en la reducción del NO_3^- ; sino que en los procesos metabólicos de la fotorespiración, el catabolismo de las proteínas y en la fijación del N_2 se origina también el ión NH_4^+ . El ión amonio es extremadamente tóxico para las plantas al actuar inhibiendo la formación de ATP en los procesos fotosintéticos y respiratorios.

La formación de aminoácidos, amidas y compuestos relativos es la principal vía de destoxificación del NH_4^+ generando en la reducción del NO_3^- , la fotorespiración y la catálisis de proteínas.

El N es el elemento mineral esencial que las plantas requieren en mayor cantidad. En dependencia de la especie, fase de desarrollo y órgano; el contenido de N requerido para el crecimiento óptimo varía entre 2 y 5% del peso seco de la planta; aunque

Epnstein (1994) citado por Torres(2001) señala un 1,5% como el nivel tisular adecuado requerido por las plantas.

Según López (1989) el plátano responde a cantidades relativamente grandes de nitrógeno del suelo.

Este mismo autor señala que la influencia de las diversas condiciones climáticas sobre la absorción por la planta ha sido demostrada, ya que esta influye de forma significativa cuando se aplica a temperaturas superiores a 20 ° C en la época de lluvia.

Cuando el suministro de N es inferior al óptimo, el crecimiento se retarda y en la planta el N es movilizado desde las hojas maduras y translocado a las zonas de crecimiento. El incremento del abastecimiento de N mejora el crecimiento, demora la senescencia foliar y cambia en positivo la morfología de la planta. En condiciones de adecuado suministro de N se mejora la tasa fotosintética y se reduce la proporción de transpiración y se incrementa la longitud, ancho y el área foliar de la planta. En general, en las plantas anuales y perennes, con abastecimiento elevado de N se incrementa la proporción de la masa aérea /masa radical. El nitrógeno aumenta el tamaño de las células y ocasiona que las hojas sean más delgadas, más succulentas y menos ásperas (López, 1989)

La función metabólica más importante del nitrógeno es su carácter de componente estructural en proteínas, ácidos nucleicos, hormonas vegetales, vitaminas y muchas enzimas.

Como componente de estos y otros compuestos, el nitrógeno participa en la mayoría de los procesos bioquímicos y fisiológicos del organismo vegetal. También compuestos nitrogenados de bajo peso molecular participan en el transporte a largas distancias de microelementos como manganeso y cobre, que se encuentran en el xilema formando quelatos con aquellos. Otra función del nitrógeno es la contribución que hace el ión nitrato acumulado en las vacuolas al equilibrio entre cationes y aniones. En condiciones de stress hídrico, osmótico o térmico se acumulan sustancias nitrogenadas como betalainas y prolinas, las que pueden contribuir a la osmoregulación celular.

En cantidades excesivas provoca la formación de hojas muy grandes y de paredes tan finas que pueden ser más susceptibles al ataque de insectos y hongos. El suministro excesivo de nitrógeno origina el color verde oscuro de la hoja, susceptibilidad de la planta a los vientos, la apertura normal de las manos, el aumento de las dimensiones

de los pedicelos, que favorece el desgrane y el desequilibrio entre el nitrógeno y el potasio (López, 1989)

La carencia de este elemento según refiere López (1989) consiste en que varios elementos pueden actuar en diferentes puntos de una misma cadena de transformaciones en la planta. Por lo tanto la carencia de dicho elemento se manifiesta en la planta por un amarillamiento, ya sea debido a la destrucción de la clorofila o al bloqueo de su formación. La deficiencia del N provoca serias anomalías en el crecimiento y el desarrollo de la planta lo que implica una merma en la producción

Algunos de los efectos mas importantes del nitrógeno sobre el plátano se relacionan a continuación (López, 1989):

- 1- Favorece el crecimiento vegetativo en general
- 2- Beneficia la producción de brotes y el crecimiento de estos
- 3- Favorece la capacidad de producir flores y frutos

Igualmente este autor nos señala los aspectos en que influye el exceso de este elemento. Ellos son:

- 1-Reduce la aptitud del racimo a ser transpo.
- 2-Reduce la estabilidad de pseudotallo.
- 3-Alarga el período de la floración,.
- 4-Aumenta el espacio de las manos del racimo.

2.6. Urea

Se considera la urea como un compuesto orgánico sintético no proteico. Contiene el 46 % de nitrógeno. Se considera que la urea comercial es idéntica a la encontrada en la orina animal.

Este fertilizante absorbe fácilmente la humedad atmosférica, lo cual debe tenerse muy en cuenta para su manejo. La urea es completamente soluble en la solución del suelo, pero en su forma pura no parece ser muy utilizada por las plantas. En las condiciones reales de los cultivos la urea se convierte en amoníaco o en amoníaco y nitratos y en estas formas la aprovechan las plantas (Collings, 1968). Por otra parte López(1989) plantea que la urea puede ser aplicada convenientemente en soluciones con las

aplicaciones de riego, también se emplea en soluciones desde 1-2% en combinación con las aplicaciones de productos sanitarios.

Además de esto Freiberg y Payne, citados por López (1989) han reportado que alrededor del 65% de la urea aplicada a las hojas puede ser absorbida en los primeros 25 minutos con una alta humedad relativa y que después de 24 horas de haberse aplicado, el 96% de la urea puede haber sido absorbido por el envés de la hoja. Para condiciones de seca el 62% puede ser absorbido en 24 horas.

2.7. Humus de lombriz (Dirección Provincial de Suelos, s/a)

Dentro de sus características más importantes están:

1- Posee una elevada carga biológica.

2- Aporta cantidades importantes de microelementos.

Para producir el humus es importante el uso de los sustratos para la descomposición de los mismos por las lombrices. Ellos pueden ser:

Sustratos Convencionales:

1- Estiércol Vacuno.

2- Estiércol Equino.

3- Estiércol Ovino.

4- Estiércol Porcino.

5- Cachaza.

6- Pulpa de Café.

Sustratos no Convencionales:

1- Gallinaza.

2- Residuos cítricos.

3- Residuos urbanos.

4- Residuos plátano.

5- Polvo de coco.

Las mezclas son más recomendables que el uso de un solo sustrato.

La calidad del pié de cría es fundamental para los resultados del proceso. (2 kg de lombrices a 5 000 lombrices por m²).

Descripción.

Es un fertilizante bio-orgánico producido por la digestión de sustancias orgánicas en la descomposición por la lombriz.

Posee óptima actividad fitohormonal que en condiciones favorables coadyuva a obtener indicadores productivos elevados y eficientes. Su estructura granular, composición química y microbiológica lo convierte en un fertilizante orgánico de alto poder nutritivo.

Tabla 2: Composición química.

Elemento	Rango de valores(%)
Nitrógeno	1.5 - 2.3
Fósforo	0.5 - 1.5
Potasio	0.3 - 0.7
Materia orgánica	50 - 60
Relación C/N	12 - 14
Ac. Húmicos	4.8 - 5.7
Humedad	40 - 50

Estos valores reflejados anteriormente constituyen los valores promedios que pueden tener los distintos componentes pues según Martínez (2003) esta es muy variable, dependiendo del tipo de residual utilizado como alimento para las lombrices. Por ejemplo este autor refiere, tomando como fuente el Instituto de Suelos que los contenidos de materia orgánica varía de la siguiente forma:

Estiércol vacuno (49-64%); estiércol porcino de lecho (42-64%); estiércol porcino (54-59%); cachaza (50-60%), residuos de café (74-80%) y hojarasca (46-68%)

BONDAD E S

- 1- Aumento del % de germinación de la semilla.
- 2- Mayor velocidad de crecimiento de las plantas.
- 3- Mejoría del estado vegetativo y sanitario de los cultivos.
- 4- Rico en aporte de elementos nutritivos y minerales.
- 5- Buen contenido de nitrógeno, fósforo y potasio.

2.7.1. EL HUMUS LIXIVIADO

Se puede aplicar en forma líquida en la fertirrigación de suelos o sustratos, e incluso en fertilización foliar. En ambos casos hay que tener en cuenta la concentración de elementos en la solución, ya que está demostrado que, a concentraciones elevadas puede tener un efecto inhibitorio de los cultivos (Martínez, 2003).

Según lo planteado en Humus (2004) con la aplicación foliar del humus líquido, hay mejoras en la absorción de nutrientes y favorece otros aspectos fisiológicos.

El humus líquido también aporta y mantiene una multitud de microorganismos que viven en él, contribuyen a su transformación y actúa contra enfermedades foliares que afectan al cultivo, como la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis* Morelent) del plátano.

Un análisis de los contenidos medios que se encuentran en el humus líquido se refleja a continuación: (Humus, 2004)

Potasio soluble	3.06 %
Fósforo asimilable	1.89 %
Nitrógeno total	4.72 %
Compuestos de ácidos	
Fúlvico y húmico	12.52 %
Agua	80.00 %
Otros elementos menores (ppm)	
Calcio	173.00
Magnesio	93.00
Sodio	48.24
Hierro	4.20
Cobre	0.05
Cobalto	0.07
Zinc	0.14
Manganeso	3.00

Además de los contenidos minerales reflejados el humus líquido contiene un alto contenido bacteriano que está en un millón de unidades formadoras de colonias por ml, entre las cuales existen algunas que inhiben el desarrollo de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis* Morelent).

2.8. Vitazyme (Vitazyme, 2004)

UN ENFOQUE SOSTENIBLE Vitazyme, usado dentro del contexto de manejo con sentido común, ayudará al agricultor a resolver muchos de sus problemas de producción. Si bien es cierto no constituye "un milagro", sí ayuda a que el sistema entero funcione mejor, lubricando las partes de su sistema de cultivo. Además, el producto no es tóxico y es ambientalmente seguro. Vitazyme permite que el agricultor:

- 1- Incremente los rendimientos de sus cultivos y las ganancias.
- 2- Mejore la calidad del cultivo.
- 3- Reduzca los insumos de fertilizantes nitrogenados.
- 4- Incremente la germinación y maduración.
- 5- Mejore la estructura del suelo e infiltración.

La agricultura del futuro debe dar énfasis al uso de sistemas biológicos — no enfoques estrictamente químicos — para alcanzar la productividad del suelo a largo plazo.

2.8.1 CÓMO TRABAJA VITAZYME

Una simbiosis mejorada:

El secreto de la acción de Vitazyme

Todas las plantas que se desarrollan en los suelos consiguen una relación que se íntima entre sus raíces y los organismos encuentran en la zona de las raíces. La cantidad innumerable de bacterias, hongos, algas, cyanobacterias, protozoarios, y otros organismos que crecen a lo largo de la superficie de las raíces — la rizósfera — es mayor que en el resto del suelo que rodea a la planta. Esto es así debido a que las raíces alimentan a los organismos con células epidérmicas de raíces muertas como con exudados compuestos de las raíces mismas. La planta puede inyectar hasta un 25% o más de su energía, fijada en las hojas como carbohidratos, aminoácidos, y otros compuestos, en la zona radicular para alimentar estos organismos, lo cual es un buen propósito.

Los microorganismos, que se alimentan de estos exudados compuestos de carbono a lo largo de la superficie radicular, benefician a la planta en muchas formas, una hermosa relación simbiótica. La planta alimenta a las bacterias, hongos, algas y otras especies microbianas en la rizósfera, las cuales a su vez secretan enzimas, ácidos orgánicos, antibióticos, reguladores de crecimiento, hormonas y otras sustancias que son absorbidas por las raíces y transportadas a las hojas. Los ácidos ayudan a disolver minerales esenciales, y el hierro reducido libera elementos aniónicos. Un grupo importante de microbios sigue a continuación.

Actinomicetos generan una variedad de antibióticos que combaten a los patógenos.

Cyanobacterias fijan el carbono (ellas fotosintetizan), y también fijan el nitrógeno del aire para que lo use la planta.

Micorrizas, especialmente del tipo vesicular-arbuscular (VAM), forman árbusculos dentro de las células corticales de la raíz y extienden hifas al suelo, aumentando la

superficie de alimentación de la raíz en un múltiplo de 10 o más. Son un medio para la absorción del fósforo, cobre, zinc, y otros elementos menos móviles. También ayudan a extraer el agua bajo condiciones más secas que lo que las raíces pudieran en otra situación.

Bacterias disolventes de fosfato excretan ácidos que disuelven minerales y liberan el fósforo que no está disponible

Azotobacterias viven en exudados y otras fuentes de carbono al mismo tiempo que fijan nitrógeno.

Vitazyme estimula la simbiosis de la rizósfera

Vitazyme estimula a la planta para que fotosintetice mejor, fijando mayor energía radiante en la forma de compuestos de carbono para aumentar la transferencia de carbohidratos, proteínas, y otras sustancias de crecimiento en la zona radicular. Estos agentes activos pueden ingresar a la planta a través de las hojas o las raíces.

El crecimiento radicular y la exudación aumentan. Este aumento activa el metabolismo de la innumerable población de organismos en la rizósfera a un mayor nivel, acelerando una mejorada síntesis de compuestos que benefician el crecimiento y una más rápida liberación de minerales para que la planta los absorba. La simbiosis planta-microbios es estimulada.

Se necesitan pequeñas cantidades de estos "aceleradores metabólicos" en Vitazyme para mejorar enormemente la respuesta planta-microbios en la rizósfera. Esto es debido al efecto cascada de las enzimas. Por esto las enzimas son activadas en los tejidos de las plantas y microbios para inducir una gran respuesta fisiológica a partir de una pequeña aplicación del activador.

En resumen, Vitazyme permite que la planta exprese mejor su potencial genético al reducir el estrés que reprime su expresión.

El suelo se beneficia también

Además de mejorar el crecimiento de las plantas, Vitazyme también beneficia las propiedades del suelo. La estructura del suelo puede mejorar sustancialmente en el tiempo debido a:

1-Mayor crecimiento radicular, y de esta forma mayores canales de las raíces.

2-Mayor producción de polisacáridos por parte de los microbios para fijar las arcillas; apenas 0.2% más de polisacáridos pueden mejorar ostensiblemente la estructura.

3-Mejorada actividad de micorrizas creando estructuras nodulares.

Las mejoras en la estructura implican un mejor intercambio de aire y agua en diferentes planos del suelo. Aumenta la infiltración del agua. Se reduce la compactación y las raíces pueden explorar el suelo en búsqueda de nutrientes y agua libremente.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo fue realizado en la Biofábrica de Cienfuegos en el periodo comprendido entre Noviembre y Enero del 2012 con el objetivo de evaluar el efecto del vitazyme y del humus lixiviado en la fase de Aclimatación en el híbrido de bananos FHIA 18 (AAAB).

La Aclimatación de las vitroplantas se realizó en condiciones ambientales con la luminosidad reducida al 70 % mediante una malla (Zaran). Las vitroplantas se plantaron en cajas de polieturano de 70 orificios de forma cuadrada de 144 cm^3 cada uno. Se realizó un experimento con diferentes aplicaciones de productos de estimulación del crecimiento.

En el mismo se tomaron plantas enraizadas procedentes de la fase III extraídas 24 horas antes de la plantación, las cuales fueron clasificadas según los parámetros de calidad descritos por Aragón (1991): tamaños mayores a 5 cm., de 4-5 hojas, un diámetro de pseudotallo entre 0.4-0.8 cm., adecuado vigor y coloración de la planta y un sistema radicular sin presencia de daño físico. Las plantas fueron lavadas con agua común para la eliminación de restos de agar. Se realizaron aplicaciones en las dosis que se exponen a continuación de forma manual con mochila de 16 litros.

Se utilizó como sustrato común a todas las variables el compost. En ellas se ejecutó una aplicación de fertilizantes de fórmula completa (8 -13 - 21) a dosis de 2.5 kg/m^3 en combinación con el sustrato.

El riego se efectuó mediante la técnica de riego localizado por micro aspersores aéreos con una frecuencia de tres riegos diarios en los primeros 15 días y dos en los restantes con una duración de 5 minutos.

A partir de los 21 días se procedió al deshije tal como indica el Instructivo Técnico, además del escarde acorde con la aparición o no de las hierbas infectantes. Para lograr un control de las enfermedades fungosas en el sustrato se realizó una aplicación de Trichoderma con dosis de 100 g por m^3 al sustrato.

Las aplicaciones de productos fueron: En el bioestimulante (Vitazyme) se realizaron tres aplicaciones en el momento de la siembra a los 7 días y a los 20 días de plantadas. En el humus lixiviado a partir del 7mo. día con un intervalo de cuatro días hasta la culminación del ciclo a los 45 días. La urea se inició a los 15 días con un intervalo de 4 días hasta finalizar el ciclo y sirvió de testigo.

Tabla No3. Los productos estudiados se pueden apreciar en la tabla siguiente:

Tratamiento	Dosis
1. Humus lixiviado	4 L. l2 ⁻¹ de agua (Mochila)
2. Urea (T)	4 L. l2 ⁻¹ de agua (Mochila)
3. Vitazyme	5 mL.L ⁻¹ de agua

Durante el período de adaptación fueron evaluados los siguientes parámetros:

1-Altura de la planta

2-Número de hojas

3- Porcentaje de planta optimo.

La altura y el número de hojas se evaluaron en el momento de la siembra y a partir de los siete días semanalmente exceptuando el Momento 6 el cual se realizó a los 10 días para concluir a los 45 días para un total de seis Momentos. La altura se media con regla graduada desde la base del tallo hasta la intersección de la última hoja y el número de hojas por conteo físico tomando como índice la última hoja abierta y el porcentaje de plantas optima a partir que las plantas obtengan los 15 cm de altura y de 6 a 7 hojas abiertas.

Se empleó en el montaje del experimento un diseño completamente al azar evaluándose 100 plántulas por Tratamiento.

Los resultados fueron procesados estadísticamente mediante el paquete estadístico Statgraphics Versión 5.

Se realizó un Análisis económico para dicho experimento teniendo para ellos los gastos incurridos para cada uno de los tratamientos donde se incluye gastos materiales, salarios y otros, tomando como base la unidad de medida de 100 bandejas (7000 plántulas) y el valor de la producción obtenida teniendo en cuenta las vitroplántulas que se adelantan en fecha. Los datos utilizados para el cálculo económico fueron:

Costo para 7000 plantas

Vitazyme: \$0.24

Urea: \$0.02

Humus lixiviado: \$1.02

Compost: \$0.34

Trichoderma: \$0.34

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Altura de las plantas

Los resultados de los análisis estadísticos (Tabla 1) en los diferentes momentos se reflejan a continuación:

Tabla 4 Altura por Momentos

Tratamiento	Momento 1	Momento 2	Momento 3	Momento 4	Momento 5	Momento 6
Humus	4.6 A	5.7 B	8.9 B	13.5 B	17.89 B	23.1
Urea	3.9 B	4.2 C	6.7 C	10.2 C	14.8 C	19.8
Vitazyme	4.6 A	14.07 A	18.78 A	23.2 A	27.36 A	31.24
X General	44.36	8.0	11.4	15.5	20.0	24.11
ES X	0.104			0.12	0.69	0.63
C.V (%)	18.31			31.58	247.22	19.98

Letras distintas dentro de cada columna difieren estadísticamente para p menor 0.005.

De forma general para esta variable el tratamiento Vitazyme fue superior en todos los momentos al resto de los tratamientos. En segundo lugar el tratamiento Humus lixiviado quién se mantuvo en esta posición a partir del Momento 2. La urea (T) sólo alcanzó una segunda posición en el Momento 1, pero a partir del Momento 2 se mantuvo hasta el final en el tercer lugar.

Tabla No. 5 La influencia que tiene el Vitazyme en esta variable, en primer lugar está dada por contenido de aporte que admite el sustrato reflejados a continuación según Informe a (Instructivo 2004):

Ph H ₂ O	C.E	% N	% P	% K	% M.O	Relac.C/N
7.70	2.1	1.91	1.80	0.37	36.84	11.19

Además de ello está el aporte que brinda la aplicación de abono complejo realizada y en mezcla con el sustrato, que a la dosis explicada aportaría como componente de este suelo (sustrato) lo siguiente:

N - 0.52 %

P₂O₅ 0.85 %

K₂O 1.38 %

En este caso los resultados tan favorables se considera que están dados por las innumerables acciones que tiene el Vitazyme, tales como:

1-Estimulación en la simbiosis de la Rizosfera.

2-Mejora de la fotosíntesis.

3-Aumento del crecimiento radical.

4-Fuerte activación de las enzimas.

5-Beneficio (Mejora) de las propiedades del suelo (Sustrato) (Vitazyme, 2004).

Tabla No. 6 Los Resultados que alcanza el humus lixiviado, según el aporte de la aplicación realizada en el experimento son los siguientes. Informe b (Instructivo 2004):

% N	% P	% K	M.O	R /C N	p.H	C.E
1.72	0.44	0.06	44.39	14.97	7.29	1.0

R/CN: relación Carbono Nitrógeno

C.E.: Conductividad eléctrica

Además de ello se sumarían los mismos componentes planteados que aportan el sustrato y el NPK adicionado ya expuestos anteriormente.

Estos aportes del producto se ven reforzados con los beneficios que presenta el mismo, siendo los principales el aumento de la absorción de nitrógeno y fósforo, de la actividad respiratoria y el crecimiento radical y aporte de multitud de microorganismos según refleja Humus (2004) así como la solubilidad de los elementos nutritivos (Martínez, 2003).

4.2 Número de hojas

Los resultados de los análisis estadísticos realizados para esta variable se muestran a continuación (Tabla 2)

Tabla 7 Número de hojas por Momento

Tratamiento	Momento 1	Momento 2	Momento 3	Momento 4	Momento 5	Momento 6
Humus	3.7	4.4 B	5.4 B	5.7 B	5.9 C	6.5 C
Urea	43.9	4.4 B	5.1 B	65.8 B	6.2 B	6.8 B
Vitazyme	3.8	6.7 A	7.8 A	8.5 A	8.8 A	8.8 A
X General	3.8	5.2	6.1	6.6	7.0	7.3
ES X	0.09	0.16	0.17	0.18	0.17	0.14
C.V (%)	18.18	24.69	22.24	21.23	19.51	15.00

De forma general los resultados nos indican que el tratamiento Vitazyme mantiene la primera posición con diferencias sobre el resto a partir del Momento 2. Le sigue el tratamiento Urea (T) que igualmente a partir del Momento 2 mantiene la segunda posición hasta el último Momento. El tratamiento Humus lixiviado alcanza la segunda posición en los momentos 1 al 3 y a partir del Momento 4 pasa al tercer lugar hasta el final.

Para esta variable tenemos que el tratamiento Vitazyme difiere estadísticamente del resto teniendo en cuenta los mismos aspectos planteados para la altura, o sea, toda esa acción reflejada como "aceleradores metabólicos" (Vitazyme, 2008) que logran una relación sustrato-planta muy adecuada. En segundo lugar, el tratamiento Urea (T) pues el nitrógeno además de tener una influencia general en el crecimiento de la planta, es referido por López (2009) que hay una influencia negativa en la emisión de hojas con deficiencias de este elemento, o sea, nos destaca el papel preponderante de este elemento en esta acción de la planta.

En segundo lugar se encuentran las variables Humus lixiviado. Como se observa en la Tabla ambos presentan valores que no difieren entre sí y aún cuando son superados por el tratamiento del Urea (T) la diferencia relativa es inferior sólo en menos de dos hojas.

4.3 Porcentaje de plantas óptimas

En el análisis realizado para los diferentes tratamientos se encuentra la información del porcentaje de plantas óptimas (Tabla 8) que permitirá su extracción y poder ser vendidas comercialmente

Tabla 8 Porcentaje de plantas óptimas por momento

UM : % Acumulado

Momentos	Humus	Urea (T1)	Vitazyme
Momento 3 (21 días)	0	0	38
Momento 4 (28 días)	0	0	100
Momento 5 (35 días)	0	0	
Momento 6 (45 días)	100	59	

En este sentido si debemos plantear que el Vitazyme constituye un gran resultado por el adelanto tan grande que hace cuyas repercusiones económicas analizaremos

posteriormente. El tratamiento de Humus lixiviado al alcanzar el 100% de sus plantas en el período establecido lo convierte en un arma muy eficaz que nos permitiría sustituir la urea, disminuye la carga de nitratos en la planta y suelo ya que la aplicación de abonos orgánicos reduce los contenidos medios de nitratos con relación a la fertilización mineral (Hernández y col., 2008) y tiene las ventajas de ser un producto natural y que al proceder del humus de lombriz permite una utilización eficaz de residuales contribuyendo al mejoramiento del medio ambiente (Martínez, 2008)

4.4 Análisis económico

El análisis realizado para determinar los gastos totales se refleja en la Tabla 4 No se refleja la ganancia obtenida para la unidad de cálculo utilizada (7000 plántulas) la cual tiene un valor de \$3570.00 MN.

Tabla 9 Análisis de gastos y costo unitario de las plántulas U M : \$

	Gasto Materiales	Salario	Gasto Total	Diferencia	Costo unitario (Vitroplántula)
Humus	1294.33	33.15	1327.48	8.78	0.185
Urea (T)	1285.71	32.99	1318.70	0.00	0.185
Vitazyme	1286.35	32.37	1318.70	0.02	0.185

En los valores reflejados en la Tabla se observa que es muy poca la diferencia entre los tratamientos para la unidad de medida estudiada las que llevadas al total de plantas que se pueden trabajar en esta fase al mismo tiempo tendríamos para el Humus \$31.70; para la Urea \$9.85 y para el Vitazyme \$8.76 lo cual representa un gasto ínfimo. Debemos aclarar que la ganancia no la hemos expresado por Tratamiento sino se dio el valor total de la producción objeto de experimento. Esto se considera así ya que todas las plántulas llegaron a ser óptimas y vendidas comercialmente con la única diferencia del tiempo y este aspecto lo abordaremos posteriormente.

También en cuanto al adelanto en tiempo debemos considerar lo siguiente. El tratamiento Vitazyme al lograr el 100% de las plántulas óptimas en el Momento 4 (28 días) presenta un adelanto de 17 días a lo expresado en Instructivo (2004). De acuerdo a la capacidad que se tiene en esta Fase en la Biofábrica de Cienfuegos (153 360 plántulas) para una rotación nos daría una posibilidad de producción anual de 1 073 500 vitroplantas con siete ciclos de 50 días cada uno. Si tenemos en cuenta este

adelanto expuesto anteriormente nos permitiría una rotación anual de 11 ciclos lo que representa una posibilidad de aumento en producción de la Biofábrica de 613 440 vitroplantas con un valor de \$312 854 después de su comercialización como plántulas. Respecto a este producto (Vitazyme) debemos tener en cuenta -si lo consideramos como posible de utilización en la práctica productiva- que aún cuando en el aspecto económico general no tiene diferencias apreciables con el resto, el mismo se comercializa en el exterior en MLC con las posibles dificultades de aseguramiento y desde el punto de vista de su costo dentro del experimento ello significó un gasto de \$0.24 MLC por cada 7000 plántulas.

CONCLUSIONES

- 1- El tratamiento Vitazyme supera estadísticamente al humus lixiviado y al testigo (Urea) tanto en altura como en el número de hojas.
- 2- El adelanto en la calidad de las plántulas en 17 días respecto a lo establecido permite aumentar la rotación de la Fase con una ganancia de \$312 854.00 MN para el tratamiento Vitazyme.
- 3- El tratamiento Humus lixiviado puede utilizarse con éxito sustituyendo la aplicación de urea.

RECOMENDACIONES

- 1- Repetir el experimento en condiciones de verano e invierno.
- 2- Llevar los resultados del Vitazyme y Humus lixiviado a una prueba con escalamiento productivo.
- 3- Proponer la repetición de esta experiencia en las condiciones de otras Biofábricas del país.

Bibliografía

Alvarado, Y ; Sarri, Z ; Portal, N ; Martines, Y . (1998). Control de la contaminación bacteriana en el cultivo in vitro de platas por la aplicación de métodos de detección temprana .III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. REDBIO /98). Habana, CUBA .

Alvarado, Y; Suárez, M; Triana, R; Pérez, Z ; Agramante, D. (1998) Control de la contaminación en la propagación masiva de plantas .III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. La Habana, Cuba..

Álvarez J M y Hernández PR , (2000). Afectas tecnológicas de bananos y plátano para Latinoamérica y el Caribe contribución de MUSALAC a la Investigación y desarrollo de las Musaceas. Edts: Franklin Rosales y Luís Pocasangre, INIBAP. P 80-81.

Alvarado, Y. (2003). Influencia, Incidencia, Identificación y Estrategia para prevención y control de contaminantes bacteriano en el cultivo in vitro de la caña de azúcar (Sacharum sp .Hibrido) Tesis de doctorado UCLV. 98 P.

Arias, O (1998) Tendencias actuales a la utilización de vitroplantads. En : RES Lv Coloquio de Biotecnología de las platas. Santa Clara . Cuba , Junio 20-22 de 1996.

Cultivo da banana para o Estado do Amazonas .ISSN 1678- 8796 Versión electrónica Jan/2003 Pag. Wed:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaAmazonas/index.htm>

Debergh. PL y Zimmerman RH (1991) En : Debergh P y Zimmerman RH (Eds) Micropropagation: Technology and Application, pp. 473. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Debergh, PL (1995) Evolution and automation in Micropropagation and Artificial seed production .En : Terzi, M, Cella A y Falavigna A (EDS) Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biotechnology, p. 95-105. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Aportes a la tecnología para propagación in vitro del híbrido de banano FHIA 18 (AAAB) en la fase de multiplicación y Enraizamiento. Tesis presentada en opción de título de maestría en Ciencias Agrícolas, 57 pag

Hernández . (1997) Simposio Internacional Sanidad Vegetal. Cienfuegos. Ministerio de la Agricultura

Hernández PR. Y Bernal F. (2000) Saneamiento al virus del enrollamiento de la hoja de la papa (*Solanum tuberosum* L.) Revista CENIC Ciencias Biológicas, 31, 3, 153- 158,

Hernández .PR, Bertrán H Lepoivre P, González. JE, Rojas X, Pairó A, González, Y , González G y Cortes C (2002) Diagnostico y saneamiento de la Banana Streak Virus (BSV) en *Musa* spp . Centro Agrícola 2: 42-47.

Hernández PR, Lugo Y, González J, Gózales Y Rojas X y Herrera L. (2005). Detección de microorganismos contaminantes del cultivo in vitro de la malanga. Centro Agrícola, 32:1, 41-44.

Helliot, B, B. Panis y Hernandez .PR, Swennen R, Lepoivre L. Frison E. (2004). Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations. Cap Development of in vitro Techniques for the elimination of CMV from banana. (*Musa* spp). Edts: Mohan S J y Swennen R INIBAP Yoia. Science Publishers, Inc Enfield, USA and UK . 183-191.

Herman , EB (1987) .Toward control of micropropagation contamination. Aricell Report 9:33-35.

Jiménez, E.(1995). Propagación in vitro de la caña (*Saccharum* spp híbrido). Tesis en opción del grado científico de doctor en Ciencias Agrícolas Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba. 40-52.

Kitto,SL(1997) Comercial Micropropagation. Hort Sciencie. 32 (6) :1 :3.

Leifert, C, Waites W y Nicolas JR (1989a) Bacterial contaminants of micropropagation plant cultures, *Journal of Applied Bacteriology* 67 : 359-361.

Leifert, C, Waites WM, Camotta Hy Nicholas JR (1989b) *Lactobacillus plantanum*; a deteriorus contaminant of plant tissue. *J. App. Bacteriology* 67:363-370.

Leifert, C, Morris CE y Waites WM (1994a) Ecology of microvial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants reason for contamination problems in vitro. *Critical Reviews in plant Sciences* 13: 139-183.

Leifert, C; Morris, E. C. and Waites, M. WILL. (1994). Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue and field grown plant: Reasons for contaminations problem in vitro. *Critical Reviews in plant Sciences*. 13(2):139-183

Leifert, C y Woodward S (1998) Laboratory contamination management the requirement for microbiological quality assurance. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 52:83-88.

Martínez, S; C. González; M. Fontes; O. Pérez (1992). Evaluación de diferentes métodos de introducción de donantes en Biofabrica. Ponencia al 7 Forum de Ciencia y Técnica. MINAGRI. Mecanografiado 20p.

Martines, S. (1995). Evaluación de poblaciones obtenidas por cultivo in vitro e inducción de mutaciones en plátano (*Musa* sp). *Centro Agrícola* 19(2-3):93-96.

Martines, S; J. Pérez; M. Ruiz; M. Fontes; O. Pérez. (2008). Perfeccionamiento de la tecnología para la micropropagación in vitro de los clones de banano y plátano Gran enano (AAA) y FHIA-03 (AAAB) libres de CMV mediante la contra inmuno electrophoresis. Ponencia al XIII Forum Nacional de Ciencia y Técnica. MINAGRI. Cienfuegos. 80 p.

Meyner, V. And Arnould, M. (1989) Compared effectiveness of Antibiotic treatments and Shoot Tip Culture on Bacterial Decontamination of an in vitro. Propagated clone of hybrid. Walnut (*Juglans nigra* x *J. REGIA*). *Bio logia Plantarum*. (PRAHA). 31(4):269-275.

Ministerio de la agricultura (2004). Instructivo técnico para la micropropagación de plátanos y bananas. Grupo Empresarial de Cultivos Varios. Mecanografiado 23p L-MAIL: impresoracenal. Inf.cu.

Sandoval, (1985). Determinación del tamaño del explante para la propagación in vitro en medios de cultivos de Musa spp. Turrialba. Universidad de Costa Rica.50p. Tesis de Licenciatura en Agronomía.

Skirvin, S; S, Mutoike ;M. Ozgur, K, A. Juboary and O, Mc Means (1999). Workshop. On Micropropagation establishment of contaminant free perennial plants in vitro cell. Bio-Plant 35: 278-280. Biotecnología Vegetal.vol.2. No Pp.73-76.

Orellana, P (2006). Tecnología para la micropropagación in vitro de clones de Musa sp . Tesis para optar por le grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Biotecnología de las Plantas .UCLV. 104 p.

Ortiz R (1993). Plantain and Bananaresearch at the Internacional Institute of Tropical Agriculture. Hort Science 28 (9):874-970.

Ramírez PT . (2003) Obtención de híbridos de bananas en el Programa de mejoramiento Genético de Musa spp. Tesis en Opción grado académico de Master en Agricultura Sostenible. pp. 100.

Rendenbaugh, K(1991) Applications of micropropagation to Agronomic Crops. En :Debergh PC y Zimmerman RH (Eds) Micropropagation: technology and application Kluwer Academic Publishers, pp. 285-310 Zimmerman , RH y Jones, B (1991) Commercial Micropropagation in the North American. En : Debergh, PC y Zimmerman RH (Eds).Micropropagation: technology and application, pp. 173-179. Kluwer Academic Publisher.11.

