

Potencial de enraizamiento en agua y vigor de plántulas de banano obtenidas en cámara térmica

Rooting potential in water and vigor of banana plantlets obtained in thermal chamber

Galo Cedeño García¹, Hugo Soplín Villacorta², Jessica Cargua Chávez³, George Cedeño García⁴

¹ Carrera de Ingeniería Agrícola, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM-MFL). Calceta, Manabí, Ecuador.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

³ Departamento Nacional de Suelos y Aguas del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

⁴ Departamento de Agronomía, Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Manabí, Ecuador.

* **Correspondencia para el autor:** alex.musaespam@gmail.com

Resumen

El uso de material de siembra de calidad es uno de los factores más importantes para la obtención de altos rendimientos en el cultivo de banano. En la granja experimental La Teodomira de la Universidad Técnica de Manabí, se condujo un experimento para evaluar el potencial de enraizamiento en agua y el vigor de dos tipos de plántulas (adventicias y procedentes de tejido calloso) y tres estados fenológicos (EF1, EF2, EF3) de plántulas de banano obtenidas en cámara térmica. Se empleó un diseño completamente al azar con tratamientos en un arreglo factorial 2 x 3 con seis repeticiones. El agua fue un medio eficaz para el enraizamiento, mientras que las plántulas procedentes de tejido calloso mostraron un mayor potencial rizogénico, desarrollo y vigor, independientemente de su estado fenológico. El estado fenológico EF3 (plántula con hoja bandera y más de una hoja normal formada) presentó mayor capacidad rizogénica, desarrollo y vigor, independientemente del tipo de plántula.

Palabras clave: desarrollo vegetal, macro-propagación, planta adventicia, rizogénesis en agua, tejido calloso.

Abstract

The use of quality planting material is one of the most important factors for obtaining high yields in the banana crop. In the experimental farm La Teodomira of the Technical University of Manabí, an experiment was conducted to evaluate the potential of rooting in water and the vigor of two types of plantlets (adventitious and derived from callus tissue) and three phenological stages (EF1, EF2, EF3) of banana plantlets obtained in a thermal chamber. A completely randomized design with treatments in a 2 x 3 factorial arrangement with six replications was used. Water was an effective means for banana plantlets rooting, while plantlets from callus tissue showed greater rhizogenic potential, development and vigor, regardless of their phenological stage. The phenological stage EF3 (seedling with flag leaf and more than one normal leaf formed) had higher rhizogenic capacity, development and vigor, regardless of the type of plantlet.

Key words: plant development, macro-propagation; adventitious plant, rhizogenesis in water, callus tissue.



Recibido: 31 de marzo, 2016
Aceptado: 31 de mayo, 2016

Introducción

En la producción bananera, el material de siembra más utilizado es el procedente de un cultivo de tejidos, porque asegura la sanidad, homogeneidad, precocidad y vigor de las plántulas, atributos deseables para un mayor rendimiento. Sin embargo, un factor que limita el uso masivo de este material por los pequeños productores, es el alto costo de las vitroplantas (Hanumantharaya *et al.*, 2009). El uso de material de siembra obtenido por regeneración natural, no garantiza la calidad sanitaria de la semilla debido a la facilidad de transmisión de plagas y enfermedades que pueden mermar el rendimiento del cultivo y la rentabilidad esperada por el productor (Ngo-Samnack, 2011).

La regeneración natural también limita la cantidad de material de siembra, debido a bajas tasas de multiplicación, puesto que la dominancia apical que ejerce la planta madre sobre los hijuelos, inhibe la activación y brotación de las yemas laterales (Singh, Selvarajan, Uma y Karihaloo, 2011). La macropropagación en cámara térmica es segura desde el punto de vista fitosanitario, puesto que la alta temperatura (termoterapia) y humedad relativa que genera, garantiza una rápida proliferación y limpieza del material de siembra (Álvarez, Pantoja, Gañán y Ceballos, 2013a; Rodríguez, Ceballos, Mejía, Álvarez & Lugo, 2013). El calor se eleva entre 50 y 70 °C eliminando restos biológicos de plagas y patógenos (Rodríguez *et al.*, 2013). Panattoni, Luvisi y Triolo (2013) y Lassois, Lepoivre, Swennen, Van den Houwe y Panis (2013), mencionan que la termoterapia es eficaz en la eliminación de virus, ya que estos se aletargan a temperaturas por debajo del umbral térmico soportado por las plantas.

Con las diversas técnicas de macro-propagación utilizadas en musáceas es posible obtener gran cantidad de plántulas a partir de poco material de siembra inicial, en un corto periodo de tiempo (Dzomeku, Darkey, Wünsche & Bam, 2014). Sin embargo, como en todo proceso de propagación vegetativa las plántulas son incapaces de soportar el trasplante directo al campo, por lo que

es necesario una etapa previa de enraizamiento y aclimatación (Njukwe *et al.*, 2007; Álvarez *et al.*, 2013b).

Da Silva, Pasqual, Scherwinski, Rodrigues y Yuriku (2008) mencionan que sin una etapa previa de enraizamiento, las plántulas experimentan altas tasas de mortalidad durante la aclimatación por lo que es necesaria una adaptación gradual (Martín, Casas & Piqueras, 2009). A pesar de que las plántulas de banano presentan un buen desempeño durante las diferentes fases de propagación, la optimización de un proceso de adaptación mejora la supervivencia y el vigor de las mismas al sufrir menor estrés (Pereira *et al.*, 2005). Un adecuado proceso de aclimatación garantiza plantas de óptimo desarrollo y vigor, debido a que durante esta etapa las plantas desarrollan el sistema radical y pasan de un estado dependiente o heterótrofo a uno más independiente o autótrofo (Costa, Pereira, Pereira, & Oliveira, 2006; Adriano, Lara, Vázquez, Ramos & Salvador, 2013).

Por lo anterior y considerando que en la actualidad no se dispone de información relacionada al enraizamiento y aclimatación de plántulas de banano propagadas en cámara térmica, se planteó como objetivo del presente trabajo, evaluar el potencial de enraizamiento en agua y vigor de plántulas de banano obtenidas con esta técnica de propagación.

Materiales y métodos

Localización

El experimento se desarrolló desde noviembre de 2013 hasta abril de 2014, en la Granja Experimental “La Teodomira” de la Universidad Técnica de Manabí, situada en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana, provincia de Manabí, Ecuador. El área experimental se localizó a 47 msnm, ubicada geográficamente en las coordenadas 01° 12' 25' S y 80° 23' 14' O.

Material vegetal

Se emplearon hijuelos tipo espada del cultivar “Williams” de 1 a 1.5 m de altura, que fueron

obtenidos a partir de parcelas establecidas con plantas indexadas, provenientes de cultivo de tejidos, tal como lo sugieren Álvarez *et al.* (2013b). Posteriormente el cormo de los hijuelos fue sometido a limpieza y decorticación (extracción de vainas corticales que rodean al cormo) hasta quedar completamente blanco, con la finalidad de remover restos biológicos de plagas y patógenos. Seguidamente fue sumergido durante 20 minutos en una solución insecticida/nematicida compuesta por oxamil (metil N'N'-dimetil-N-[(metilcarbamoil)-oxi]-1-tiooxamimidato) de formulación comercial líquida, en una dosis de 13 ml por cada 10 litros de agua, con el objeto de eliminar cualquier resto de plagas o patógenos (Díaz, Rivera & Durán, 2007).

Luego se extrajo el meristemo apical del cormo con la ayuda de un cuchillo desinfectado, con la finalidad de inhibir la dominancia apical e inducir un rápido brotamiento de yemas axilares (Figura 1A). Posteriormente los cormos fueron introducidos a la cámara térmica y colocados en bolsas de polietileno negras de 15 x 18 pulgadas, llenadas con sustrato compuesto por suelo – arena – compost en una relación 4:3:3. Debido al efecto de la temperatura de la cámara térmica (50 – 70 °C), los cormos emitieron brotes de primera generación, los cuales al alcanzar los 25 cm de altura se cortaron a cinco cm por encima del cormo madre, y se decapitaron para inhibir dominancia apical (Figura 1 B) e inducir la formación de tejido calloso y yemas adventicias secundarias (Figura 2A y B).

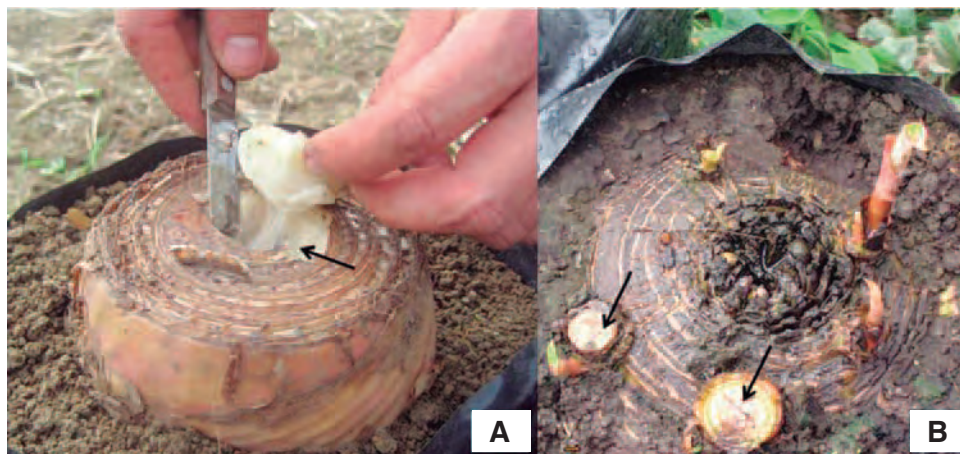


Figura 1. Inhibición de la dominancia apical del cormo principal (A) y de los brotes de primera generación (B).



Figura 2. Plántulas de banano originadas a partir de tejido calloso (A), y de yemas adventicias secundarias (B).

Las plántulas de segunda generación obtenidas en cámara térmica se clasificaron como plántulas de callo (aquellas que se originaron de tejido calloso u organogénesis indirecta) (Figura 2A), y plántulas adventicias (a las que se originaron directamente de yemas axilares primarias u organogénesis directa) (Figura 2B).

En ambos tipos de plántulas (callo y adventicias), se evaluó el potencial de enraizamiento y vigor de tres estados fenológicos: (EF1: plántulas con hoja bandera rudimentaria; EF2: plántulas con hoja bandera y una hoja normal formada, y EF3: plántulas con hoja bandera y más de una

hoja normal formada). En la figura 3 se muestra el esquema general de la macropropagación de banano en cámara térmica.

Enraizamiento

El enraizamiento se realizó sumergiendo en agua contenida en recipientes de plástico, la parte basal de las plántulas extraídas de la cámara térmica (Figura 4). Se evaluó el porcentaje de enraizamiento a los 5, 10 y 15 días, en cada tipo de plántula y estado fenológico. Las plántulas que hasta los 15 días no emitieron raíces fueron consideradas como muertas.

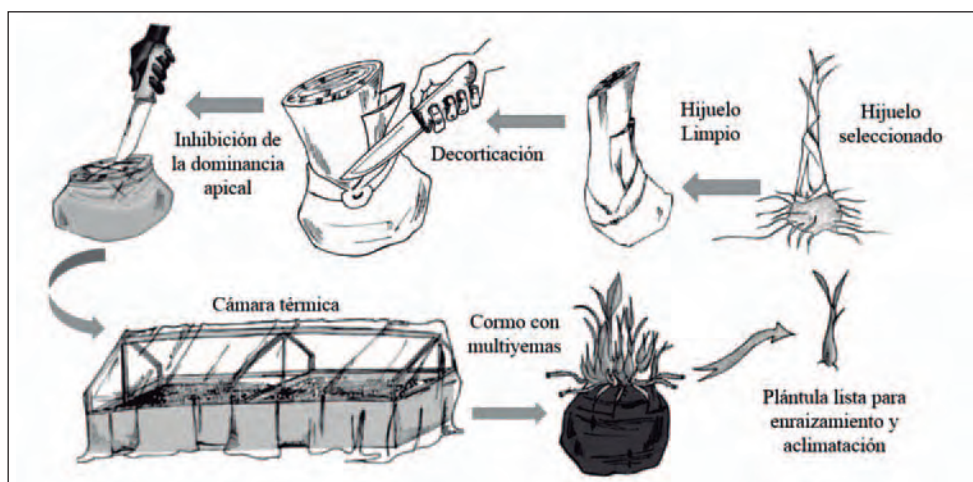


Figura 3. Esquema de la macro-propagación de banano en cámara térmica. Adaptado de Ngo-Samnack, 2011.



Figura 4. Enraizamiento en medio acuoso de plántulas de banano extraídas de cámara térmica.

Atributos morfométricos de desarrollo y vigor

Después del enraizamiento, las plántulas fueron trasplantadas a bolsas plásticas de polietileno de 6 x 9 pulgadas, las cuales fueron previamente llenadas con sustrato compuesto por suelo – arena – compost en una relación 4:3:3, donde se las dejó crecer por 60 días en condiciones de vivero. Cumplido este periodo, se evaluó las siguientes variables:

Altura de planta (AP): en cm a los 60 días después del trasplante, midiendo desde el nivel del suelo hasta el vértice del ángulo formado por las dos últimas hojas.

Diámetro del tallo (DT): se midió en mm a nivel del suelo, a los 60 días después del trasplante.

Número de raíces (NR): se contabilizó a los 60 días después del trasplante, tomando en cuenta las raíces que se formaron directamente del cormo.

Para el desarrollo del experimento se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tratamientos en arreglo factorial A x B, donde el factor A representaba el tipo de plántula (de callo y adventicia) y el factor B, los estados fenológicos (EF1, EF2 y EF3). Se efectuaron 6 tratamientos,

repetidos 6 veces, en un total de 36 unidades experimentales, cada una con 10 plántulas. El análisis de datos se hizo a través del ANOVA con el paquete Statistical Analysis System (**SAS 9.1**) (SAS Institute, 2004), y la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Resultados

El análisis de varianza reportó diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) para el porcentaje de enraizamiento a los 5, 10 y 15 días, solo para los factores principales (tipo de plántula y estados fenológicos), mientras que la interacción entre ambos factores no fue significativa, lo cual indica la independencia de los niveles en cada factor (Tabla 1).

Los datos de la tabla 1 muestran que, de acuerdo al tipo de plántula, las procedentes de callo mostraron mayor potencial de enraizamiento a los 5, 10 y 15 días de sumergidas en agua, alcanzando a los 15 días, un máximo de 86.4 % de enraizado, en contraste a las plántulas adventicias que mostraron menor enraizamiento en el mismo periodo de evaluación, con un máximo de 79.5 %. De acuerdo al test de Tukey_{0.05} las plántulas que proceden de tejido calloso mostraron un potencial significativamente superior para enraizar en agua.

Tabla 1. Potencial de enraizamiento en agua de plántulas de banano obtenidas en cámara térmica.

Tratamientos	Porcentaje de enraizamiento		
	5 días	10 días	15 días
Efecto del tipo de planta			
Planta adventicia	44.8 b*	68.2 b	79.5 b
Planta de callo	52.2 a	75.6 a	86.4 a
Efecto del estado fenológico			
Estado fenológico 1 ^x	38.9 b	61.3 b	70.8 c
Estado fenológico 2 ^y	53.3 a	76.7 a	83.3 b
Estado fenológico 3 ^z	54.9 a	77.8 a	94.7 a
Error estándar	8.129.60	2.67	
Probabilidad (ANOVA)			
Tipo de planta	0.0090	0.0311	0.0004
Estado fenológico	0.0002	0.0003	0.0001
Tipo de planta x Estado fenológico	0.7919	0.4148	0.0805

* Letras diferentes en una misma columna difieren significativamente según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

^x Estado fenológico 1 (plántulas con hoja bandera rudimentaria)

^y Estado fenológico 2 (plántulas con hoja bandera y una hoja normal formada)

^z Estado fenológico 3 (plántulas con hoja bandera y más de una hoja normal formada)

Se observa además que, de acuerdo a los estados fenológicos, el EF3 fue el que mostró mejor respuesta al enraizamiento a los 15 días, en comparación a los estados EF1 y EF2. El EF3 alcanzó a los 15 días un máximo de 94.7 % de enraizamiento, mientras que los estados EF1 y EF2 obtuvieron 70.8 y 83.3 % de enraizamiento en el mismo periodo de evaluación, respectivamente. De acuerdo al test de Tukey_{0.05}, a los 15 días de enraizadas las plántulas de banano extraídas de la cámara térmica en el estado fenológico EF3 mostraron un potencial de enraizado significativamente superior al alcanzado por los EF1 y EF2.

El análisis de varianza aplicado a variables morfométricas mostró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) para los factores principales (tipo de plántula y estados fenológicos), mas no para la interacción de factores que no fue significativa. Este hecho indica la independencia de los niveles en cada factor (Tabla 2).

De acuerdo al tipo de plántula, las procedentes de tejido caloso mostraron mayor desarrollo y

vigor, manifestado en su altura, diámetro de tallo y cantidad de raíces, en comparación con las plántulas adventicias que alcanzaron menores valores (Tabla 2). Por otra parte, las plántulas extraídas de cámara térmica en el estado fenológico EF3 mostraron mayor capacidad de desarrollo y vigor expresado en altura de plántula, diámetro de tallo y cantidad de raíces, en comparación con las plántulas de los estados fenológicos EF1 y EF2 que tuvieron un desarrollo y vigor significativamente menor de acuerdo a la prueba de Tukey_{0.05} (Tabla 2).

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el agua activa diversos procesos fisiológicos relacionados con la inducción y activación de primordios radicales que se encuentran preformados en el corno de las plántulas de banano, lo cual desencadena la formación y crecimiento de raíces adventicias, como consecuencia, quizás, del estrés hipóxico que causa la falta de oxígeno bajo condiciones de inundación. En este experimento las plántulas permanecieron en agua hasta los 15 días.

Tabla 2. Vigor de plántulas de banano a los 60 días de aclimatación.

Tratamientos	Variables morfométricas		
	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Número de raíces
Efecto del tipo de planta			
Planta adventicia	23.3 b*	20.4 b	16.8 b
Planta de callo	25.0 a	22.6 a	20.9 a
Efecto del estado fenológico			
EF1 ^x	20.2 c	18.0 c	15.3 c
EF2 ^y	24.4 b	21.2 b	17.7 b
EF3 ^z	27.9 a	25.2 a	20.7 a
Error estándar	9.22	4.24	0.22
Probabilidad (ANOVA)			
Tipo de planta	0.0346	0.0002	0.0002
Estado fenológico	0.0001	0.0001	0.0018
Tipo de planta x estado fenológico	0.3584	0.0915	0.0928

* Letras diferentes en una misma columna difieren significativamente según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$)

^x Estado fenológico 1 (plántulas con hoja bandera rudimentaria)

^y Estado fenológico 2 (plántulas con hoja bandera y una hoja normal formada)

^z Estado fenológico 3 (plántulas con hoja bandera y más de una hoja normal formada)

Según McNamara & Mitchell (1991), la formación de raíces adventicias en plantas inundadas (hipoxia) ocurre como consecuencia de la acumulación de auxinas en la base de los tallos lo cual estimula la formación de primordios radicales. Esta acumulación de auxinas se ha relacionado al incremento del nivel de etileno en tallos sumergidos, por lo que podría ser un mediador de dicha acumulación (Vidoz, Loreti, Mensuali, Alpi & Perata, 2010). La producción de etileno desencadena una serie de respuestas fisiológicas ante la falta de oxígeno, entre ellas el desarrollo de raíces adventicias que contienen arénquima o tejidos acumuladores de O_2 (Evans, 2003), lo cual es una de las principales respuestas a la inundación, aunque estos eventos varían con la especie vegetal (Jackson, 2002; Bailey-Serres & Voisenek, 2008).

El tipo de planta influyó sobre el enraizamiento, siendo las procedentes de tejido calloso las que presentaron mejor respuesta. La mayor capacidad enraizante de las plántulas provenientes de callo puede deberse a que, al crecer muy juntas, se genera una competencia por espacio, obligando a la plántula a formar tempranamente su propio cormo independiente, a medida que comienzan a crecer sobre la masa de callo (Figura 5A); por lo tanto, al momento de la separación del callo se desprenden fácilmente sin producirse mayor daño (Figura 5B). En contraste, las plántulas adventicias o axilares al formarse directamente del cuerpo del hijuelo de primera generación (Figura 5C) son más susceptibles a ser dañadas debido a que deben desprenderse con la ayuda de un cuchillo y por lo tanto su cormo resulta con una herida de mayor tamaño (Figura 5D).

La mayor herida producida en las plántulas adventicias pudo ser la causa del menor potencial de enraizamiento, dado que el tejido interno del cormo al estar en contacto directo con el medio, sufrió oxidación o fenolización (Figura 5E). En tanto, la plántula procedente de tejido calloso no presentó oxidación, puesto que su cormo no sufrió un daño significativo (Figura 5F). En este sentido Concepción *et al.* (2005) mencionan que la propagación convencional es de baja eficiencia debido a que la elevada fenolización impide un buen

enraizamiento, lo cual coincide con lo expuesto por Latsague y Lara (2003), quienes expresan que los compuestos fenólicos en concentraciones elevadas se comportan como promotores de la oxidación de auxinas, interfiriendo de esta manera con la formación de raíces adventicias.

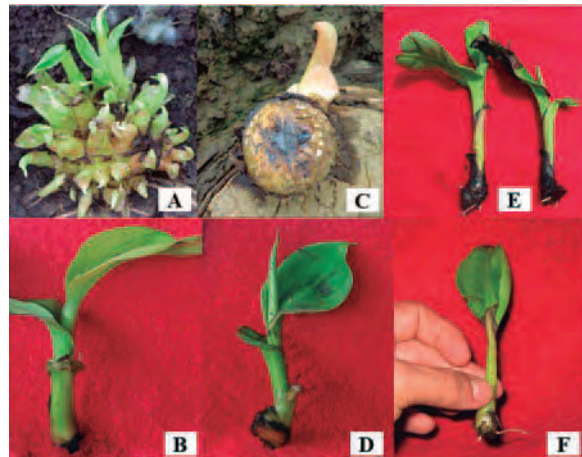


Figura 5. Plántulas formadas a partir del tejido calloso (A), nótase que el cormo de estas sufre menor daño al momento de la separación de la masa calloso (B). Planta adventicia formada directamente del cuerpo de brote de primera generación (C), nótase que el cormo de estas plantas sufre una herida significativa al momento de ser separado del brote de donde se originó (D). Plantas adventicias con cormo fenolizado u oxidado (E). Plántula proveniente de tejido calloso sin presencia de fenolización u oxidación del cormo (F).

La oxidación observada en el cormo de las plántulas adventicias (Figura 3E) quizás se deba a la acción de las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y tirosinasas que según Utino, Fernandes y Chávez (2001) y Anderson y Levinsh (2002) se biosintetizan cuando los tejidos sufren heridas como consecuencia de los cortes realizados para separar los brotes del explante madre. Asimismo, Azofeifa (2009) indica que cuando los tejidos son lesionados las células sintetizan mayor cantidad de enzimas oxidativas, ya que reconocen la herida como un estrés y reaccionan produciendo mayores niveles de especies de oxígeno reactivo (ROS) y especies de nitrógeno reactivo (RNS), que oxidan las membranas celulares (Van Staden, Fennell & Taylor, 2006; Abdelwahd, Hakam, Labhilili & Udupa, 2008).

El tamaño de las plántulas influyó la organogénesis radicular en que el estado EF3 alcanzó mayor potencial de enraizamiento en todos los tiempos evaluados, independientemente del tipo de planta. Este hecho sugiere la posibilidad de que en este estado la plántula presente mayor cantidad de meristemas radiculares diferenciados y activos a nivel del cormo, y por lo tanto, fisiológicamente tienen mayor aptitud para enraizar y sobrevivir. En este sentido Taji, Kumar y Lakshmanan (2002) mencionan que a mayor tamaño del explante mayor será el potencial organogénico y la regeneración directa de órganos.

Estos resultados se aproximan a los obtenidos por Gabriel, Atis, Badar y Pascua (2013) quienes mencionan haber alcanzado 100 % de supervivencia y enraizado en plántulas de banano cv. Lacatan con tamaños en altura de 7-10 cm, en contraste con el 86,67 % obtenido por el mismo autor con tamaños de 3-6 cm. De igual manera, Sosa, Ortiz, Hernández, Armas y Guillen (2009) obtuvieron mayor supervivencia y enraizamiento en explantes de *Heliconia standley* mayores a 3 cm, en comparación a los explantes de menor tamaño. Resultados similares fueron hallados por Goswami y Handique (2013) en tres cultivares de banano.

El mayor crecimiento en altura y diámetro alcanzado por las plántulas de callo, en contraste a las adventicias, puede deberse al mayor número de raíces formadas de manera simultánea durante los 60 días de aclimatación, lo que permitió mayor exploración del substrato contenido en las bolsas y por lo tanto mayor nutrición, desarrollo y vigor. Por otra parte, la mayor cantidad de raíces formadas por las plántulas procedentes de tejido calloso, en comparación a las adventicias, pudo ser consecuencia del mayor porcentaje de enraizamiento logrado durante la fase de enraizado en agua que se dio previo al trasplante a bolsas.

Los resultados de este experimento se asemejan a los obtenidos por Sosa *et al* (2009) quienes obtuvieron mayor altura de tallo en plántulas de *Heliconia standley* que presentaron mayor

número de raíces. Así mismo Hernández (2008) obtuvo mayor altura en plántulas de Heliconias que mostraron mayor masa radical. Por su parte Blomme *et al.* (2008) encontraron que plántulas de plátano derivadas de la macropropagación presentaron mayor altura y diámetro de tallo que las plántulas derivadas de cultivo *in vitro*, lo cual se relaciona con una mayor cantidad de raíces y no al origen del material de siembra.

El mayor desempeño de EF3 durante los 60 días de crecimiento puede estar en función de su mejor capacidad fisiológica para responder a los procesos activos que involucran crecimiento y desarrollo. Otra hipótesis que podría explicar el mayor crecimiento alcanzado por el estado EF3, puede relacionarse a su mayor tamaño y contenido endógeno de reguladores de crecimiento. En este sentido, González, Morejón y Portilla (1998) observaron diferentes respuestas morfogénicas de explantes de café, por lo que indicaron que dicha respuesta se debía a la variación de contenidos endógenos de hormonas del propio explante; esto, a su vez, se relaciona a lo expresado por Taji *et al.* (2002) quienes exponen que el mayor tamaño del explante potencializa su capacidad morfogénica.

Conclusiones

- El enraizamiento de las plántulas de banano en agua, independientemente del tamaño y del tipo de planta (callo y adventicia), fue un método eficiente para la inducción de raíces previo al trasplante en bolsas, lo cual podría mejorarse con la adición de hormonas tipo auxinas disueltas en agua.
- Las plántulas procedentes de tejido calloso mostraron mayor capacidad de enraizamiento, desarrollo y vigor durante la etapa de aclimatación, independientemente del tamaño o estado fenológico de la plántula.
- Las plántulas extraídas de la cámara térmica en EF3 mostraron mejor capacidad de enraizamiento, desarrollo y vigor, independientemente del tipo de plántula (callo y adventicia).

- Se debe incrementar la producción de callos en cámara térmica y extraer las plántulas para su respectivo enraizamiento y aclimatación cuando presenten la hoja bandera y más de una hoja normal formada (EF3).

Referencias Bibliográficas

- Abdelwahd, R., Hakam, N., Labhilili, M., & Udupa, S. (2008). Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics *in vitro* plantlet regeneration of faba bean. *African Journal of Biotechnology*, 7: 997-1002.
- Adriano, M., Lara, Y., Vázquez, A., Ramos, D., & Salvador, M. (2013). Uso de compost durante la etapa de aclimatación de vitroplantas de banano clon "Gran Enano" (*Musa* AAA). *Quehacer Científico en Chiapas* 8(2), 61-68.
- Álvarez, E., Pantoja, A., Gañán, L. & Ceballos, G. (2013a). *Estado del arte y opciones de manejo del Moko y la Sigatoka negra en América Latina y el Caribe*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Descargado de <http://www.fao.org/3/a-as124s.pdf>
- Álvarez, E., Ceballos, G., Cañán, L., Rodríguez, D., González, S. & Pantoja, A. (2013b). Producción de material de siembra limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Publicación CIAT No. 384.
- Anderson, U., & Levinsh, G. (2002). Changes of morphogenic competence in mature *Pinus sylvestris* L. buds *in vitro*. *Annals of Botany*, 90(2), 293-298.
- Azofeifa, A. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 153-175.
- Bailey-Serres, J., & Voeselek, L. 2008. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review Plant Biology*, 59, 313-339.
- Blomme, G., Swennen, R., Tenkouano, A., Turyagyenda, F., Soka, G., & Ortiz, R. (2008). Comparative study of shoot and root development in micropropagated and sucker derived banana and plantain (*Musa* spp.) plants. *Journal of Applied Biosciences*, 8(2): 334 - 342.
- Costa, F., Pereira, J., Pereira, M. y Oliveira, J. 2006. Efeito da interação entre carvão ativado e 6 benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. Grand Naine (AAA). *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2): 280-283.
- Concepción, O., Nápoles, L., Pérez, A., Hernández, M., Peralta, M., & Trujillo, R. 2005. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo *in vitro* de ápices de guayaba (*Psidium guajava* L.). Relación entre el origen del explante y el contenido de compuestos fenólicos. *Cultivos Tropicales*, 26(1): 33 – 39.
- Da Silva, F., Pasqual, M., Scherwinski, J., Rodrigues, F., & Yuriku, L. (2008). Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30, (1), 31-37.
- Díaz, F., Rivera, J., & Duran, L. 2007. Como proteger de las plagas del suelo los cormos-semilla de plátano y banano. La Lima, Cortez, Honduras: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). .
- Dzomeku, D., Darkey, S., Wünsche, J., & Bam, R. (2014). Response of selected local plantain cultivars to PIBS (Plants issus de bourgeons secondaires) technique. *Journal Plant Development*. 21: 117 – 123.
- Evans, E. (2003). Aerenchyma formation. *New Phytologist* 16, 35-49.
- Gabriel, M., Atis, M., Badar, A., & Pascua, M. (2013). Development of low-cost and rapid multiplication techniques of tissue-cultured *Musa acuminata* (AAA Group) cv. 'Lacatan' banana seedlings. *MMSU Science and Technology Journal*, 3(1), 108-124.
- González, M., Morejón, R., & Portilla, M. (1998). Establecimiento de las concentraciones óptimas de hormonas para el cultivo *in vitro* de ápices de *Coffea arabica* L. *Cultivos Tropicales* 19(2): 37 – 40.
- Goswami, N., & Handique, P. (2013). Explants size response to *in vitro* propagation of *Musa* (AAA Group) 'Amritsagar' *Musa* (AAB

- Group) 'Malbhog' and *Musa* (AAB Group) 'Chenichampa' banana. *Indian Journal of Applied Research* 3, (8), 40 – 43.
- Hanumantharaya, M., Kerutagi, M., Patil, B., Kanamadi, V. & Bankar, B. (2009). Comparative economic analysis of tissue culture banana and sucker propagated banana production in Karnataka. *Karnataka Journal Agricultural Science*, 22:810-815.
- Hernández, E. 2008. Regeneración in vitro de *Heliconia* spp. vía organogénesis directa. Tesis de máster. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Jackson, M. (2002). Long-distance signaling from roots to shoots assessed: the flooding story. *Journal of Experimental Botany*, 53: 175–181.
- Lassois, L., Lepoivre, P., Swennen, R., van den Houwe, I., & Panis, B. (2013). Thermotherapy, Chemotherapy, and Meristem Culture in Banana. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 11013419-433. Doi: 10.1007/978-1-62703-074-8_32.
- Latsague, M., & Lara, J. (2003). Fenoles solubles totales y su relación con la inhibición de la rizogénesis en estacas de *Nothofagus pumilio* (Poepp. Et Endl.) Krasser. *Guyana Botánica*, 60(2), 90-93.
- Martín, A., Casas, J., & Piqueras, A. (2009). Nitrogen assimilating enzymes during acclimatization of micropropagated *Musa* spp. plants. *Acta Horticulturae*. (ISHS), 812: 421-426.
- McNamara, S, & Mitchell, C. (1991). Roles of auxin and ethylene in adventitious root formation by a flood-resistant tomato genotype. *HortScience*, 26(1):57-58.
- Ngo-Samnack, E. (2011). *Improved Plantain production. The Pro-Agro collection. Engineers without Borders*. Douala-Bassa, Cameroon: Cameroon (ISF Cameroun) and the Technical Centre for Agricultural and Rural Co-operation (CTA). Descargado de http://www.anancy.net/documents/file_en/livret.pdf
- Njukwe, E., Tenkouano, A., Amah, D., Sadik, K., Perez, M., Nyine, M., & Dubois, T. (2007). Training Manual. Macro-propagation of Banana and Plantain. Kampala, Uganda: USAID/IITA/CRS, Descargado from <http://www.ina.or.id/knoma-hpsp/fruit/HPSP-09-Bahandang-Macropropagation-Banana-Manual.pdf>
- Panattoni, A., Luvisi, A., & Triolo, E. 2013. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11: 173-188.
- Pereira, M., Nietsche, S., Cabral, A., Ferreira, C., De Lima, C., Dias, V., Panicalle, V., Rodríguez, D., Ceballos, G., Mejía, J., Álvarez, E. & Lugo, L. (2013). *Construcción, implementación y estandarización de cámara térmica para producción de semilla de plátano libre enfermedades*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1 User's Guide. Cary, NC.
- Singh, H., Selvarajan, R., Uma, S., & Karihaloo, J. (2011). *Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific*. New Delhi, India: Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB),. Descargado from http://www.apcoab.org/uploads/files/1298295339pub_banana.pdf.
- Sosa, F., Ortiz, R., Hernández, R., Armas, P., & Guillen, D. (2009). Propagación in vitro de *Heliconia standley* Macbride en Cuba. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(2): 17-23.
- Taji, A., Kumar, P., & Lakshmanan, P. (2002). *In vitro Plant Breeding*. New York, USA: Food Products Press.
- Utino, S., Fernandes, I., & Cháves, L. (2001). Crescimento e oxidação de explantes de bananeira-prata (*Musa* AAB) in vitro. I. Concentrações de sais de ferro, cobre e zinco. *Revista Brasileira de Fruticultura* 23(2), 225 – 229.
- Van Staden, J.; Fennell, C. & Taylor, N. (2006). Plant stress in vitro: the role of phytohormones. *Acta Horticulturae*, 7(25): 55-62.
- Vidoz, M., Loreti, E., Mensuali, A., Alpi, A., & Perata, P. (2010). Hormonal interplay during adventitious root formation in flooded tomato plants. *The Plant Journal*, 63: 551–562.