

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DIFERENCIAL A
LA ACLIMATACIÓN DE VITROPLANTAS DE ÑAMPI
(*Dioscorea trifida* L.), PLÁTANO (*Musa balbisiana*) Y
BANANO (*Musa acuminata*) CON LA UTILIZACIÓN DE
TRES TIPOS DE SUSTRATOS**

BELKYS PRINCESA BATISTA MIRANDA
8-902-1124

DAVID, CHIRIQUÍ

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2019

ACTA DE APROBACIÓN

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DIFERENCIAL A LA
ACLIMATACIÓN DE VITROPLANTAS DE ÑAMPI (*Dioscorea trifida* L.),
PLÁTANO (*Musa balbisiana*) Y BANANO (*Musa acuminata*) CON LA
UTILIZACIÓN DE TRES TIPOS DE SUSTRATOS**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDO PARA OPTAR POR EL
TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO EN CULTIVOS TROPICALES.**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O
PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

APROBADO:

PROF. Mgter. SIMÓN VÁSQUEZ _____
DIRECTOR

PROF. PhD. JOSÉ BINNS _____
ASESOR

PROF. Mgter. RICARDO BLAS _____
ASESOR

**DAVID, CHIRIQUÍ
REPÚBLICA DE PANAMÁ
2019**

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios Todopoderoso por proveerme de salud, paciencia y sabiduría en el transcurso de mis estudios.

A mis padres Noris Miranda y Alcides Batista quienes son mi mayor orgullo e inspiración, mil gracias por sus consejos y apoyo incondicional para que lograra ser una profesional; los amo.

A mis hermanos Keisy, Noris Yinelly y Domy, a quienes agradezco por brindarme su ejemplo y valioso apoyo a lo largo de mi vida. Asimismo, a mi abuela, mis primos y tíos por darme su apoyo siempre.

Igualmente hago una mención especial a mis amigos y compañeros: Aldy, Ashley, Mileidis, Kirian, Tecilia, Brenda, Jennifer, Carlos, Isidro, Adrián, Manuel, José Manuel, Héctor, Elvin, Jesús, con quienes compartí gratas experiencias y me brindaron su ayuda en todo momento. Así mismo agradezco al director de mi tesis el profesor Simón Vásquez por su guía y colaboración para el desarrollo de esta investigación; también al resto del comité evaluador, profesores José Binns y Ricardo Blas, quienes me brindaron su asesoría en la parte estadística y agrícola. Igualmente, al profesor Reynaldo Vargas por su apoyo en el desarrollo de esta tesis.

Un agradecimiento especial para la Ing. Belma Soto y la Lic. Rosemarie Serrano a quienes considero como mis segundas madres, tienen mi admiración y cariño inmenso, gracias por apoyarme siempre.

Hago extensivo un agradecimiento especial al Club de Plantas y Flores de Panamá, por brindarme su apoyo económico a lo largo de mi carrera universitaria.

Finalmente agradezco a todas las personas que de una u otra manera aportaron su granito de arena para llevar a cabo con éxito este trabajo.

Gracias.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por sus infinitas bendiciones y permitirme culminar esta anhelada meta.

A mis padres y hermanos les dedico este trabajo con mucho cariño y amor.

En memoria de mis queridos abuelos Teresa Santamaría (Q.E.P.D.) y Domiciano Batista (Q.E.P.D.) a quienes agradezco sus enseñanzas y consejos brindados.

Batista, B., 2019. Evaluación de la respuesta diferencial a la aclimatación de vitroplantas de Ñampí (*Dioscorea trifida* L.), Plátano (*Musa balbisiana*) y Banano (*Musa acuminata*) con la utilización de tres tipos de sustratos. Tesis Lic. Ing. Agr. Panamá, FCA. 84p.

RESUMEN

Palabras claves: Aclimatación, vitroplantas, sustrato, suelo, arena, cascarilla de arroz, turba.

Se planteó esta investigación con el objetivo de evaluar la respuesta diferencial del efecto de tres tipos de sustratos en la etapa de aclimatación de vitroplantas de interés agrícola provenientes del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá. Esta abarcó los meses de abril a julio del 2019. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo bifactorial de doce tratamientos y 98 repeticiones (cada plántula representó una repetición). Los factores evaluados fueron: el sustrato, conformado por: el sustrato uno suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1), el sustrato dos, cascarilla de arroz + arena (3:1).y el sustrato tres, a base de turba; y como segundo factor, la especie, este estuvo representado por cuatro especies: Nampí (*Dioscorea trifida* L.), clones Blanco y Morado, Plátano (*Musa balbisiana*) variedad Curare Enano y Banano (*Musa acuminata*) clon Pelipita. Las variables de respuesta evaluadas fueron: altura de la planta, número de hojas, largo de raíces y número de ramificaciones de las raíces. Los resultados obtenidos en esta investigación fueron los siguientes: para la variable altura de plantas a los 60 después del trasplante (ddt) no hubo significancia en la interacción entre los sustratos y especies; sin embargo, el sustrato como efecto simple mostró una alta significancia, revelando claramente que el sustrato tres tuvo el mejor efecto sobre las aturas promedios en las especies evaluadas. Con respecto a la variable número de hojas a los 60ddt se encontró que no hubo significancia en la interacción (especie x sustrato), mientras que los efectos simples presentaron una alta significancia. El sustrato tres, mostró los valores promedios más altos para el número de hojas en comparación a los demás sustratos. Por otra parte, para la variable longitud de las raíces, se observaron diferencias altamente significativas en la fuente de variación sustrato donde las plantas sembradas en el sustrato tres presentaron promedios más altos para esta variable. Finalmente, en la variable número de ramificaciones, se encontraron diferencias altamente significativas para los efectos simples (sustrato y especie), en donde se observó que las plantas cultivadas en el sustrato tres muestran los valores promedios más altos para esta variable de respuesta. En base a los resultados obtenidos, el mayor crecimiento y desarrollo de las vitroplantas se obtuvo con la utilización del sustrato tres.

Batista, B., 2019. Evaluation of the differential response to the acclimatization of vitroplants of Yam (*Dioscorea trifida* L.), Plantain (*Musa balbisiana*) and Banana (*Musa acuminata*) with the utilization of three types of substrate. Lic. Ing. Agr. Panama, FCA. 84p.

ABSTRACT

Keywords: Acclimatization, vitroplant, substrate, soil, sand, rice husk, sphagnum moss.

The objective of this research was to evaluate the differential response to the effect of three types of substrate in the acclimatization stage of vitroplants of agricultural interest vitroplants coming from Plant Biotechnology Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Panama. The research went from April to July of 2019. It was used a completely randomized design with a bifactorial of 12 treatments and 98 repetitions (each seedling was a repetition). The factors evaluated were: substrate one soil + sand+ rice husk (1:1:1), substrate two (rice husk + sand (3:1) and substrate three with only sphagnum moss and as a second factor the species which were: yam (*Dioscorea trifida* L.), white and purple clones; plantain (*Musa balbisiana*), Curare Enano variety; Banana (*Musa acuminata*), Pelipita clone. The variables evaluated were: plant height, number of leafs, root lenght and number of roots ramifications. The results obtained were: no significance for interaction with plant height at 60 days after transplant (ddt) and substrate and species but, substrate as an effect resulted with significance and revealing that substrate three had the best effect in plant height. With number of leafs at 60ddt, was found no significance with interaction (species x substrate), while the effect as simple were significance substrate three had the highest medium values for number of leafs in comparison to the other substrates. For root lenght was observed that high differential significance in the variable source of the substrate of the plants in substrate three. Finally, in the variable of number of roots ramifications, was found that were high differential significance for simple effects (substrate and species), in which was observed that the plants cultivated in substrate three had higher medium values for this variable. Based on the results obtained, the greatest growth and development of the vitroplants was obtained with the use of substrate three.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ACTA DE APROBACIÓN	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE CUADRO	xiii
INDICE DE ANEXO	xvi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2. ANTECEDENTES	4
1.3. JUSTIFICACIÓN	5
1.4. OBJETIVOS	6
1.5. HIPÓTESIS	7
1.6. ALCANCES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	8
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.1. Técnica de Cultivo de tejidos vegetales <i>in vitro</i>	9

2.2.	Ventajas y Desventajas de la Propagación <i>in vitro</i>	9
2.3.	Fases de Micropropagación	10
2.4.	Aclimatación de plantas <i>in vitro</i>	11
2.4.1.	Características de las plantas <i>ex vitro</i>	11
2.5.	Sustrato, clasificación y sus propiedades.....	13
2.5.1.	Propiedades de los sustratos	14
2.5.2.	Características de un buen sustrato.....	19
2.5.3.	Elección del material para un sustrato	20
3.	MATERIALES Y METODOLOGÍA	25
3.1.	Materiales.....	25
3.2.	Metodología.....	26
3.2.1.	Ubicación del estudio.....	26
3.2.2.	Diseño Experimental.....	27
3.2.3.	Modelo lineal aditivo	29
3.2.4.	Variables de respuesta evaluadas	29
3.2.5.	Establecimiento del estudio	31
a)	Selección del material vegetal.....	31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35

4.1. Etapa de Aclimatación.....	35
4.1.1. Altura de las plantas 15 días después del trasplante (ddt).....	35
4.1.1.1. Número de hojas 15 días después del trasplante (ddt)	38
4.1.2. Altura de las plantas 30 días después del trasplante (ddt)	40
4.1.3. Número de hojas 30 días después del trasplante (ddt).....	43
2.1.1. Altura de las plantas 45 días después del trasplante (ddt)	46
4.1.4. Número de hojas 45 días después del trasplante (ddt).....	49
4.1.5. Altura de las plantas 60 días después del trasplante (ddt)	52
4.1.6. Número de hojas 60 días después del trasplante (ddt).....	55
4.1.7. Longitud de raíces a los 60 días después del trasplante (ddt)	59
4.1.8. Número de ramificaciones de las raíces 60 días después del trasplante (ddt)	62
4.1.9. Porcentaje de sobrevivencia	66
5. CONCLUSIONES	68
6. RECOMENDACIONES	70
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Casa de aclimatación de vitroplantas del Laboratorio de Biotecnología Vegetal.	26
Figura 2. A) S1: suelo, arena y cascarilla de arroz. B) S2: cascarilla de arroz y arena. C) Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.	31
Figura 3. Tratamientos en estudio ubicados dentro de la cámara húmeda.	32
Figura 4. Aplicación de la solución nutritiva.	33
Figura 5. Trasplante de vitroplantas aclimatadas a bolsas de polietileno.	34
Figura 6. Promedios de alturas (en cm) de las especies evaluadas vs sustratos utilizados 15ddt.	37
Figura 7. Promedios del número de hojas en las especies evaluadas 60ddt.	57
Figura 8. Promedios del número de hojas de las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.	58
Figura 9. Promedios de los largos promedios de raíces (en cm) de las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.	61
Figura 10. Promedios del número de ramificaciones de las raíces en las especies evaluadas 60ddt.	64
Figura 11. Promedios del número de ramificaciones de las raíces en las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.	65

Figura 12. Porcentaje de sobrevivencia de las plantas en cada una de las especies evaluadas.	67
---	----

ÍNDICE DE CUADRO

CUADRO I. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUSTRATO A BASE DE TURBA.....	24
CUADRO II. DESCRIPCIÓN DE LOS DOCE TRATAMIENTOS FACTORIALES.	28
CUADRO III. COMPOSICIÓN DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA DE CONCENTRACIÓN 1X.....	33
CUADRO IV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 15DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).	35
CUADRO V. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 15DDT.....	37
CUADRO VIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 30DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).	41
CUADRO VII. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 30DDT.....	42
CUADRO VIII. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 45DDT.....	48

CUADRO IX. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 45DDT.....	50
CUADRO X. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 45DDT.....	52
CUADRO XI. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 60DDT.....	54
CUADRO XII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).	55
CUADRO XIII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 60DDT.....	56
CUADRO XIV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).....	59
CUADRO XVI. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60DDT.	61
CUADRO XVI. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).	62
CUADRO XVII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT....	63

CUADRO XVIII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA
VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT.

..... 65

INDICE DE ANEXO

Anexo 1. Medición y conteo de las raíces.	80
Anexo 2. Medición de la altura de las plantas.	80
Anexo 3. Supervivencia de plantas 60ddt de la especie Plátano Curare Enano en los tres tipos de sustratos.	81
Anexo 4. Supervivencia de plantas 60ddt de la especie Banano Pelipita en los tres tipos de sustratos.....	82
Anexo 5. Supervivencia de plantas 60ddt de la especie Ñampí blanco en los tres tipos de sustratos.	83
Anexo 6. Supervivencia de plantas 60ddt de la especie Ñampí Morado en los tres tipos de sustratos.....	84

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, ante la falta de material de plantación sano de diversos rubros de importancia agrícola, se propone el uso de técnicas de propagación *in vitro*, que permitan multiplicar en forma masiva y rápida diferentes especies de plantas, libres de plagas y patógenos, que permita así el aumento en la productividad.

Cabe aclarar que quizás una de las etapas más delicadas de este proceso radica en lograr una eficiente aclimatación de las vitroplantas a las condiciones ambientales. Este cambio debe ser de forma progresiva para evitar que las mismas sufran algún tipo de estrés que les ocasione daños o incluso su muerte.

Según Brainerd y Fuchigami, (1981) las plantas producidas *in vitro* presentan un comportamiento diferente en condiciones de invernadero o de campo, ya que sufren cambios morfológicos y fisiológicos, tales como: sensibilidad marcada, no desarrolla cutícula, la pared celular no presenta rigidez; sus estomas no operan eficientemente, las hojas son delgadas y suaves, fotosintéticamente inactivas, lo que ocasionan una pérdida importante de plantas en el momento del trasplante.

Por otro lado, Bonilla y Hernández, (2012), manifiestan que la etapa *ex vitro* exige el control de la humedad, temperatura, luminosidad, suministro de nutrientes y

además el uso de un adecuado sustrato para así asegurar la aclimatación de las plantas y su posterior salida al campo.

Cabe mencionar que un sustrato es todo material sólido distinto del suelo que puede ser natural o sintético, mineral u orgánico y que, colocado en un contenedor, de forma pura o mezclado, permite el anclaje de las plantas a través de su sistema radicular. Este puede intervenir o no en el proceso de nutrición de la planta allí ubicada. (Burés, 1997). Los sustratos pueden ser orgánicos e inorgánicos y entre algunas de sus propiedades deseables tenemos: retención de agua fácilmente disponible, drenaje rápido, buena aireación, distribución del tamaño de partícula, etc. (Aguilar y Baixauli, 2002). Existen muchos materiales que se pueden escoger como componentes de un sustrato, algunos de ellos son: turba, perlita, arena, fibra de coco, cascarilla de arroz, aserrín, etc. y sus combinaciones.

En nuestro medio existe muy poca información relacionada con el efecto del uso de diferentes tipos de sustratos frente a especies de interés agrícola durante la etapa *ex vitro*. Es por ello que la investigación se enfocó en la evaluación de distintos tipos de sustratos para la aclimatación de vitroplantas de ñampí, banano y plátano a fin de determinar en cual se logra obtener el mayor porcentaje de sobrevivencia.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los mayores obstáculos para el establecimiento de las plántulas que se obtienen por métodos *in vitro*, usualmente ocurre cuando culmina la etapa de enraizamiento e inicia la fase de aclimatación. Durante esta fase se requiere que las vitroplantas desarrollen sus estructuras vegetales (raíz y hoja) lo suficientemente fuertes y funcionales para que las mismas soporten las condiciones de campo abierto, esto se logra principalmente con la utilización de sustratos con propiedades físicas favorables que permitan la disponibilidad de oxígeno, movilidad del agua y fácil penetración de la raíz por parte de las vitroplantas.

Hasta el momento no se han publicado en nuestro país estudios relacionados con el uso de sustratos para la aclimatación de especies propagadas *in vitro*. Es por ello, que el objetivo de esta investigación consistió en determinar la respuesta de las vitroplantas de ñampí, plátano y banano en la fase de aclimatación utilizando tres tipos de sustratos.

1.2. ANTECEDENTES

En la región existen publicaciones de trabajos de investigación relacionados con la aclimatación de raíces, musáceas, dioscoreáceas y entre otras especies, que destacan la importancia de valorar los resultados en la fase *ex vitro*, tal es el caso de Chacón *et al.*, (2006), quienes reportaron un estudio sobre la aclimatación de plántulas de ñampí (*Dioscorea trifida*) y ñame (*D. alata*) utilizando un sustrato compuesto de fibra de coco y suelo; en este se revela que la edad al trasplante y la regulación de la humedad durante la etapa *ex vitro* son factores importantes en la sobrevivencia de las plántulas.

Así mismo en Colombia, se reporta un estudio realizado por Morales *et al.*, (2015), relacionado con la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de yuca (*Manihot esculenta*), donde se evaluó tres tipos de sustratos orgánicos compuestos de humus sólido, cascarilla de arroz, viruta y bocashi. Tras analizar los resultados, se reveló que el sustrato compuesto por humus sólido y cascarilla de arroz permitió la sobrevivencia y adaptación del 80% de las vitroplantas. Concluyéndose que este sustrato fue el adecuado tanto a nivel nutricional como componente estructural del suelo al tener una porosidad adecuada para el crecimiento de las plantas.

En el caso de Ecuador, Medina, (2018) realizó investigaciones vinculada con la aclimatación y evaluación del crecimiento inicial en campo de vitroplantas de banano (*Musa acuminata*), en donde se utilizaron tres tipos de sustratos: turba, turba y tierra y turba, tierra y arena. Resultando ser la turba al 100% como el mejor tratamiento.

Finalmente, en Panamá, existen pocos reportes relativos sobre este tema. Una de ellos fue hecho por Guerra, (2002), en la casa de aclimatación de vitroplantas del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Panamá relacionada con la aclimatación de vitroplantas de plátano (*Musa AAB*) utilizando un sustrato a base de turba y vermiculita con el cual se registraron altos porcentajes de supervivencia, sin embargo, no se utilizó un modelo formal para establecer significancias en las fuentes de variación.

1.3. JUSTIFICACIÓN

En Panamá, la carencia de semillas vegetativas sanas provenientes de lotes libres de plagas y enfermedades está afectando la productividad de rubros de importancia agrícola en nuestro país. En tal sentido, Ammirato, (1984), indica que la aplicación de las técnicas de propagación *in vitro* se presenta como una alternativa viable para resolver estos problemas, ya que permite obtener altos

volúmenes de plantas, empleando escaso material de partida y a la vez garantizando su sanidad.

Cabe resaltar que el mayor porcentaje de pérdidas de plantas producidas in vitro ocurre durante la etapa de aclimatación, esto se atribuye a que las vitroplantas presentan alta demanda de agua, siendo entonces necesario la elección de un sustrato adecuado que cumpla con los requerimientos de las mismas. (Valenzuela *et al.*, 2001).

Por esto, surge la necesidad de realizar evaluaciones del comportamiento de las especies versus diferentes sustratos, para determinar en cual logramos obtener una mayor sobrevivencia de plantas.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. GENERAL

- Evaluar la respuesta diferencial del crecimiento y desarrollo de vitroplantas de importancia agrícola durante la etapa de aclimatación mediante el uso de tres tipos de sustratos.

1.4.2. ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del uso de tres tipos de sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de las estructuras aéreas de vitroplantas de ñampí (*Dioscorea trifida* L.), plátano (*Musa balbisiana*) y banano (*Musa acuminata*) en la fase de aclimatación.
- Evaluar el efecto del uso de tres tipos de sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de las raíces de vitroplantas de ñampí (*Dioscorea trifida* L.), plátano (*Musa balbisiana*) y banano (*Musa acuminata*) en la fase de aclimatación.

1.5. HIPÓTESIS

- Ho: “No existen diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo del ñampí (*Dioscorea trifida* L.), plátano (*Musa balbisiana*) y banano (*Musa acuminata*) durante la etapa de aclimatación mediante la utilización de tres tipos diferentes de sustratos”.
- Ha: “Existen diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo del ñampí (*Dioscorea trifida* L.), plátano (*Musa balbisiana*) y banano (*Musa acuminata*) durante la etapa de aclimatación mediante la utilización de tres tipos diferentes de sustratos”.

1.6. ALCANCES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La información recabada en este trabajo de investigación permitirá obtener información bajo condiciones locales para la implementación de protocolos de aclimatación de vitroplantas de musáceas y dioscoreáceas, igualmente servir de modelo para el desarrollo de investigaciones similares utilizando otras especies y sustratos y además ayudar a la mejora en la productividad de los procesos de micropropagación en especies de musáceas y dioscoreáceas

Las limitaciones presentadas estuvieron relacionadas con contar con el número suficiente de vitroplantas y la disponibilidad del sustrato comercial a base de turba Lambert® LM-GPS en el mercado local, igualmente de los componentes básicos para realizar las mezclas de los demás sustratos.

.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Técnica de Cultivo de tejidos vegetales *in vitro*

Roca y Mroginski (1991), define el Cultivo de Tejidos como una técnica que consiste en aislar una porción de planta (explante) y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido.

La técnica de cultivo *in vitro* se clasifica en: cultivo de meristemas, micro injerto, ápices de tallos, cultivo de tejidos o células (callos, protoplastos, etc.), cultivo de anteras, polen, óvulos, embriones, semillas y esporas. (Hartmann *et al.*, 1995).

2.2. Ventajas y Desventajas de la Propagación *in vitro*

De acuerdo a Girgebv, (1994), las ventajas de las técnicas de propagación *in vitro* de especies vegetales, son las siguientes:

a) Ventajas

- Acelera el proceso de propagación y posibilita el rescate de especies en peligro de extinción.
- Permite la eliminación de patógenos, hongos, bacterias, virus, etc.

- Las plantas son de crecimiento y desarrollo vigoroso resultando más resistentes a enfermedades.
- Se puede realizar la propagación de plantas en corto tiempo y espacio, lo que hace posible establecer bancos de germoplasma *in vitro*.

b) Desventajas

- Los costos de instalación de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales son bastantes elevados.
- Se debe contar con personal calificado y disponibilidad de reactivos.
- La aclimatación de las plántulas producidas *in vitro* puede ocasionar porcentajes altos de pérdidas de plántulas en esta fase.

2.3. Fases de Micropropagación

Según Pérez, (1998), señala que el proceso de micropropagación consta de 4 fases fundamentales, éstas son:

Fase 1: Establecimiento de los cultivos.

Fase 2: Multiplicación o propagación *in vitro*.

Fase 3: Enraizamiento de las vitroplantas.

Fase 4: Trasplante- Aclimatación de las vitroplantas enraizadas.

2.4. Aclimatación de plantas *in vitro*

Sandoval *et al.*, (1991); Grattapaglia *et al.*, (1998), indican que la aclimatación se considera una de las etapas de mayor importancia dentro de la micropropagación, donde las plantas producidas en condiciones controladas son transferidas de forma progresiva a un ambiente con condiciones climáticas naturales. Los principales cambios en estas condiciones son: disminución de la humedad, incremento de la intensidad luminosa, baja disponibilidad de nutrientes y la presencia de patógenos. (Martin *et al.*, 1997). Por esto, es necesario contemplar los niveles de humedad relativa, temperatura, luminosidad y además el uso de un adecuado sustrato que permita un buen drenaje y mantener los niveles de humedad requeridos por las vitroplantas durante la etapa *ex vitro*. (Bonilla *et al.*, 2015).

2.4.1. Características de las plantas *ex vitro*

La supervivencia de las vitroplantas regeneradas durante la etapa *ex vitro* depende fundamentalmente de los cambios morfológicos y fisiológicos que las plántulas presentan producto del desarrollo *in vitro*. Estos cambios, influyen en la regulación de los mecanismos de tolerancia al estrés de las vitroplantas frente a nuevas condiciones ambientales produciendo un alto porcentaje de mortalidad en su transferencia al invernadero. (Ritchie *et al.*, 1991).

Algunas de las características morfológicas que se alteran son: la composición química de la capa epicuticular (Preece *et al.*, 1990), la forma y distribución de los estomas (Ziv, 1990), y la estructura de las hojas y los tallos (Pierik, 1987). Igualmente afecta características fisiológicas, como: la actividad estomática y la funcionalidad de las raíces y las hojas. (Díaz *et al.*, 1995, Huylenbroeck *et al.*, 1996, Chacón *et al.* 2000).

George *et al.*, (1984), tomado de Ruiz, (2003), menciona que la alta humedad y baja luminancia que prevalecen durante el cultivo *in vitro* provocan que la cutícula de las hojas sea delgada, Brainerd *et al.*, (1981) observaron que debido a ello las hojas presentan células empalizadas con grandes espacios intercelulares y baja frecuencia de estomas; esto hace que las plántulas producidas sean susceptibles a la desecación cuando se trasladan a condiciones externas (*ex vitro*). Los estomas de las plántulas *in vitro* son menos operativos y permanecen abiertos; por ello las plántulas al pasar a aclimatarse pueden presentar un importante estrés hídrico durante las primeras horas de la adaptación. (George *et al.*, 1984, tomado de Ruiz, 2003). Como consecuencia cuando se transfiere una planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja; las hojas producidas de una planta *in vitro*, son frecuentemente finas, blandas, fotosintéticamente poco activas, los estomas no son lo suficientemente operativos, la conducción entre vástagos y raíces que se

han originado *in vitro* no se establece adecuadamente, no tienen o tienen pocos pelos radicales, por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces. (Pierik, 1990, tomado de Ruíz 2003).

Por otra parte, Hurtado *et al.*, (1994), indica que no es necesaria la actividad fotosintética durante las primeras etapas de la planta en condiciones *in vitro*, puesto que a la planta se le suministran los elementos básicos para su desarrollo mediante un medio nutritivo, encontrándose así en un estado heterotrófico y pasándose a un estado autotrófico al ser trasplantado al suelo. (Hurtado *et al.*, 1994). Igualmente, Grout *et al.*, (1978), tomada de Ruiz, (2003), menciona que existen alteraciones en la anatomía de las plántulas *in vitro*, mostrando baja actividad fotosintética, incluso si la clorofila está presente en las hojas y es probable que las enzimas responsables de esta actividad están inactivas o ausentes

2.5. Sustrato, clasificación y sus propiedades

Un sustrato es todo material sólido, que incluye al suelo y a otros que pueden ser natural o sintético, mineral u orgánico y que, colocado en un contenedor, de forma pura o mezclado, permite el anclaje de las plantas a través de su sistema radicular. El sustrato puede intervenir o no en el proceso de nutrición de la planta allí ubicada. (Burés, 1997).

Según, Cahiers, (1999) los sustratos pueden clasificarse en orgánicos (de origen natural, de síntesis, de subproductos o de residuos agrícolas, industriales y urbanos) e inorgánicos o minerales (de origen natural, transformado o tratados, y residuos o subproductos industriales). Algunos de los materiales orgánicos más populares son: turba (peat moss), cascarilla de arroz, productos de madera compostados (corteza, aserrín, virutas), composta de materia orgánica, estiércol, paja, etc. Por otro lado, los componentes inorgánicos comunes incluyen arena, vermiculita, perlita, arcilla calcinada, piedra pómez y otros subproductos minerales. (Grupo Latino, 2006).

2.5.1. Propiedades de los sustratos

Las propiedades de los sustratos se dividen básicamente en tres categorías: químicas, físicas y biológicas.

2.5.1.1. Propiedades físicas

Las propiedades físicas de los sustratos son de gran importancia para el normal desarrollo de la planta, pues determinan la disponibilidad de oxígeno, la movilidad del agua y la facilidad para la penetración de la raíz. (Quiroz *et al.*, 2009). Cabe resaltar que éstas tienen una característica importante a considerar, debido a que, una vez colocado el sustrato en el contenedor, dichas propiedades resultan prácticamente imposible modificarla. Entre las propiedades físicas que puede

presentar un sustrato son las siguientes: porosidad, capacidad de retención de agua, textura, densidad aparente, estabilidad estructural, entre otras. (Pastor, 1999).

a) Porosidad

De acuerdo a Landis *et al*, (1990) es necesario que el sustrato tenga buena porosidad para permitir que la raíz de la plántula tenga suficiente oxígeno.

Por otra parte, Ansonera, (1994), señala que una mezcla con una elevada porosidad, posee ventajas potenciales de buena aireación y retención de agua; sin embargo, en la práctica estas condiciones dependen de la distribución del tamaño de poros, pues si estos son muy pequeños existe una excesiva retención de agua y, si por lo contrario son muy grandes, la porosidad estará ocupada principalmente por aire. El desequilibrio en el tamaño de los poros puede significar asfixia de las raíces por la deficiente disponibilidad de aire y el exceso de agua dentro de la mezcla del sustrato; en el caso, que exista muy poca retención de agua y elevada cantidad de aire dentro del medio, de igual manera, puede representar problemas en la normal actividad fisiológica de la planta.

b) Capacidad de Retención de Agua

La capacidad de retención de agua se define como la diferencia entre la cantidad de agua retenida por el sustrato, después que la fuerza de gravedad ha actuado sobre un suelo saturado por 24 horas. (Ansonera, 1994).

La capacidad de retención y almacenamiento de agua son distintas en los diferentes suelos. Un déficit o un exceso del agua en el suelo, por tiempo prolongado, puede ocasionar la muerte de la planta por falta de oxígeno o por marchitamiento; el primer caso es más frecuente en suelos de textura arcillosa y el segundo caso en suelos arenosos. (Tineo, 1993).

La disponibilidad del agua para las plantas depende de la tensión con la cual esta es retenida por las partículas del suelo. A medida que el contenido de agua en el suelo disminuye, ya sea por evaporación o por la absorción de las plantas, éstas requerirán mayor energía para poder absorber agua. (Tineo, 1993).

Según Atkins, (1983), aquellos sustratos formados con materiales orgánicos y suelo poseen una mayor capacidad de retención de agua permitiendo un mejor aprovechamiento de los fertilizantes adicionados.

2.5.1.2. Propiedades químicas

Las propiedades químicas son importantes porque influyen en la disponibilidad de nutrientes, humedad u otros compuestos para la plántula (Quiroz *et al.*, 2009). Entre las características químicas de los sustratos se destacan: Fertilidad, Capacidad de Intercambio Catiónico, pH, capacidad tampón, Relación C/N.

a) Acidez

Una de las propiedades a considerar para un sustrato es el pH, debido a su importancia en la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Para la producción de plántulas en viveros y en contenedores se recomienda mantener un pH dentro del intervalo de 5.5, ligeramente ácido, a 6.5 (Landis *et al.*, 1990); Cuando el sustrato es muy ácido ($\text{pH} < 5,0$) o alcalino ($\text{pH} > 7,5$) suelen aparecer síntomas de deficiencia de nutrientes, no debidos a su escasez en el medio de crecimiento sino por hallarse en formas químicas no disponibles para la planta (Valenzuela y Gallardo, 2005).

b) Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC), es uno de los atributos más importantes relacionados con la fertilidad del medio de crecimiento, y se define como la capacidad del medio o sustrato para adsorber o intercambiar iones cargados positivamente o cationes (Quiroz *et al.*, 2009). Dentro de las reacciones

de intercambio de iones, los componentes inorgánicos y la materia orgánica cumplen una función importante. En algunos sustratos los componentes inorgánicos son principalmente arcillas. Estas arcillas se caracterizan por tener cargas negativas y positivas, lo que da lugar a reacciones de intercambio de iones; por ello, aunque se considera que muchos sustratos inorgánicos son inertes, realmente no lo son en su totalidad. Algunos de los cationes atraídos por estas cargas negativas son: Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , H_3O^+ y Al^{3+} ; mientras que las cargas positivas atraen a los siguientes aniones: SiO_4^{4-} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} y NO_3^- . (Burés, 1997).

2.5.1.3. Propiedades biológicas

De acuerdo a Terés, (2001), las propiedades biológicas se refieren a las propiedades dadas por los materiales orgánicos. Estas propiedades evalúan la estabilidad biológica del material, así como la presencia de componentes que pueden actuar como estimuladores o inhibidores del crecimiento vegetal. Uno de las características biológicas a considerar es la velocidad de descomposición del material, dado a que son susceptibles a la degradación biológica, siendo la población microbiana la responsable de dicho proceso.

2.5.2. Características de un buen sustrato

Según Castellón, (2000) y Jiménez, (1999); citado por Plaza, (2002), mencionan las características que debe tener un sustrato para obtener buenos resultados son las siguientes:

- Ser inerte química y biológicamente.
- No contener elementos tóxicos o microorganismos patógenos para las plantas.
- Tener un tamaño uniforme.
- Que posea una buena capacidad de retención de humedad, a la vez que posea buena aireación.
- Mojabilidad, si se seca el sustrato debe ser capaz de volverse a mojar con facilidad.
- Debe tener una uniformidad química y física del medio.
- Tener estabilidad cuando es expuesto a tratamientos tanto químicos como térmicos.
- Estabilidad física, dirigida a evitar la compactación.
- Acidez, el pH óptimo debe estar situado entre 5,5 y 6,5.
- Peso adecuado para tener buena porosidad.
- Drenaje, por lo menos el 20% de espacio poroso.
- Sanidad, desinfección previa de los materiales.
- Capacidad de retención de nutrientes, CIC debe estar 15 y 50 meq/100 cm.
- Debe ser de bajo costo.

2.5.3. Elección del material para un sustrato

Existen muchos materiales que se pueden escoger como componentes de un sustrato. Al respecto, Grupo Latino (2006), menciona que la elección de un material u otro está determinada por varios factores: la disponibilidad del mismo, la finalidad de la producción, su costo, las propiedades físico-químicas y las experiencias previas en su utilización. A continuación, se menciona algunos de los materiales más empleados, entre ellos tenemos:

2.5.3.1. Suelo

El suelo es, por naturaleza, el principal medio de crecimiento de las plantas, su utilización es muy común debido a su disponibilidad e inclusive sin costo, aunque no siempre cumplen con condiciones óptimas para su utilización. González, (2002), menciona que el suelo común presenta problemas como: la degradación del suelo superficial por el llenado de bolsa, es hospedero de plagas y enfermedades de la raíz, no presenta homogeneidad en su textura, pobre compactación que perjudica al momento de hacer el trasplante al campo definitivo, la calidad de la parte física y química no es constante. Por lo tanto, es necesario tratar a cada suelo de modo específico, con el fin de conseguir que las altas exigencias de este tipo de cultivos sean satisfechas. Este objetivo se alcanza con mayor facilidad en terrenos con contenidos de 50-60% de arena, 12-20% de limo, 10-15% de arcilla y 6-8% de materia orgánica (FAO, 2002).

Los suelos franco arenosos o francos son ingredientes buenos para la preparación de mezclas con suelo. Los francos tienen las características físicas deseables de las arcillas y las arenas sin mostrar las propiedades indeseables de soltura extrema, baja fertilidad, y baja retención de humedad, por un lado, y adherencia, compactación, drenaje y movimiento lento del aire por el otro. Puesto que los problemas que envuelven el drenaje y la aireación son acentuados cuando el suelo es colocado en un recipiente, los francos o franco arenosos son preferidos al franco limoso o arcilloso. (Alvarado y Solano, 2002).

2.5.3.2. Arena

La arena es uno de los materiales más utilizados debido a su fácil obtención, disponibilidad y bajo costo. Landis *et al.*, (1990), menciona que la granulometría más adecuada de este material, oscila entre 0,5 y 2 mm de diámetro; su capacidad de retención del agua es media (20 % del peso y más del 35 % del volumen), su porosidad es alrededor del 40% del volumen aparente y su capacidad de aireación disminuye con el tiempo a causa de la compactación. Además, FAO, (2003), indica que la arena presenta una CIC de 5 a 10 meq/l, su pH varía entre 4 y 8, no contiene nutrientes y se emplea en combinación con materiales orgánicos para enraizamiento y cultivo en contenedores.

2.5.3.3. Cascarilla de Arroz

De acuerdo a FAO, (2003), la carilla de arroz es un sustrato orgánico inerte, antes de sembrar o trasplantar sobre ella, es necesario lavarla o dejarla fermentando bien humedecida durante 8-20 días según el clima de la región. Con esto se eliminan semillas de arroz y de malezas que podrán germinar cuando ya se haya establecido el cultivo. Además, con el lavado se elimina almidón procedente de granos de arroz, que al fermentarse puede afectar la asimilación de los nutrientes o quemar las raíces.

Por otra parte, OIRSA, (2002), menciona que el tamaño de la partícula de cascarilla de arroz es ligeramente mayor al del aserrín, su peso es ligero y no introduce plagas, pero se recomienda la desinfección del sustrato porque contiene muchas semillas de malezas. Además, Marulanda (1997); citado por Plaza (2002), indica que este material posee una baja densidad aparente de 110 a 160 kg/m, baja capacidad de retención de humedad y distribución homogénea en el medio, por lo que se debe mezclar con otros materiales, tales como: cenizas de carbón y arena de río.

2.5.3.4. Aserrín

Calderón, (2002) y FAO, (2003), indican que las propiedades físicas de aserrín dependen del tamaño de sus partículas, y se recomienda que el 20-40 % de dichas

partículas sean con un tamaño inferior a los 0,8 mm constituyendo un sustrato ligero, con una densidad aparente de 0,1 a 0,45 g/cm^3 . La capacidad de retención de agua es de baja a media y su porosidad total es superior al 80 a 85% permitiendo el intercambio gaseoso, así como el flujo, el almacenamiento y drenaje de agua. El pH varía de medianamente ácido a neutro. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es de 55 meq/100 gramos.

2.5.3.5. Lombricompost

El compostaje consiste en la descomposición física y química de materiales que liberan nutrientes disponibles para las plantas, en donde agentes microorganismos, tales como: hongos y bacterias digieren los materiales durante el proceso de descomposición. En el caso del lombricompost es un producto natural obtenido a través de la acción digestiva de la Lombriz Roja Californiana sobre sustancias orgánicas de animales, previamente seleccionados y acondicionados. Este se utiliza como fertilizante orgánico, enmienda orgánica y sustratos para plantas. No es recomendable emplear como único componente para la formulación de un sustrato debido a la menor capacidad de retención de agua y espacio poroso total, se sugiere la mezcla con otros materiales para mejorar estos parámetros físicos (Ej.; turba, perlita, entre otros) (Valenzuela, 2001).

2.5.3.6. Turba

La turba es un material natural que se utiliza como enmienda orgánica o como sustrato de cultivo. Consiste en una masa esponjosa enriquecida en carbono proveniente de la descomposición de masas vegetales fundamentalmente herbáceas (musgo del género *Sphagnum*, lirios de agua, juncos, etc.). La descomposición de estos restos vegetales es parcial pues ocurre en zonas pantanosas bajo condiciones anaeróbicas. Por sus grandes cualidades es el material base para cualquier sustrato, ya que los materiales que le dan origen, fundamentalmente los musgos del género *Sphagnum*, tienen la propiedad de ser muy higroscópicos aun después de muertos. (FAO, 2014).

Pérez, (1998), indica que la turba presenta varias características físicas y químicas (cuadro I), que son:

CUADRO I. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUSTRATO A BASE DE TURBA.

Características físicas			Características químicas	
Tamaño de la fibra	Drenaje	Retención del agua	Rango de pH	Conductividad eléctrica
Fina	Medio	Media	5.4-6.3	0.8-1.5 mmhos/cm

Fuente: (Pérez, 1998).

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. Materiales

- Vitroplantas de ñampí, banano y plátano
- Bandejas germinadoras (98 alveolos)
- Cámara húmeda
- Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS
- Suelo
- Arena
- Cascarilla de arroz
- Tamiz
- Tijeras/Bisturí
- Etiquetas
- Regla milimetrada
- Recipientes
- Aspersor manual
- Bolsas de polietileno

3.2. Metodología

3.2.1. Ubicación del estudio

Este trabajo de investigación fue realizado entre los meses de abril y julio del año 2019 en la casa de aclimatación de vitroplantas del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias ubicado en el corregimiento de Chiriquí, distrito de David, provincia de Chiriquí, entre las siguientes coordenadas 8°23'39.1"N 82°19'46.9"W.

Las condiciones climáticas del área son: temperatura máxima promedio de 36 °C y mínima promedio de 23 °C, y humedad relativa de 85%.



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 1. Casa de aclimatación de vitroplantas del Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

3.2.2. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con un arreglo bifactorial de 12 tratamientos (cuadro II) y 98 plántulas por tratamiento (cada plántula representó una repetición). Los factores evaluados fueron los siguientes:

Factor E: Especies

- E_1 =Ñampí Blanco.
- E_2 =Ñampí Morado.
- E_3 =Banano Pelipita.
- E_4 =Plátano Curare Enano.

Factor S: Sustratos

- S_1 =suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).
- S_2 =cascarilla de arroz + arena (3:1).
- S_3 = sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

CUADRO II. DESCRIPCIÓN DE LOS DOCE TRATAMIENTOS FACTORIALES.²⁸

Fuente: (Autor, 2019).

N°	Factor E (Especies)		Factor S (Sustratos)	Interacción Factor E x S
1	Ñampí blanco	x	Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).	$T_1=E_1 S_1$
2	Ñampí blanco	x	Cascarilla de arroz + arena (3:1).	$T_2=E_1 S_2$
3	Ñampí blanco	x	Sustrato a base de turba Lambert ® LM- GPS.	$T_3=E_1 S_3$
4	Ñampí Morado	x	Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).	$T_4=E_2 S_1$
5	Ñampí Morado	x	Cascarilla de arroz + arena (3:1).	$T_5=E_2 S_2$
6	Ñampí Morado	x	Sustrato a base de turba Lambert ® LM- GPS.	$T_6=E_2 S_3$
7	Banano Pelipita	x	Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).	$T_7=E_3 S_1$
8	Banano Pelipita	x	Cascarilla de arroz + arena (3:1).	$T_8=E_3 S_2$
9	Banano Pelipita	x	Sustrato a base de turba Lambert ® LM- GPS.	$T_9=E_3 S_3$
10	Plátano Curare Enano	x	Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).	$T_{10}=E_4 S_1$
11	Plátano Curare Enano	x	Cascarilla de arroz + arena (3:1).	$T_{11}=E_4 S_2$
12	Plátano Curare Enano	x	Sustrato a base de turba Lambert ® LM- GPS.	$T_{12}=E_4 S_3$

3.2.3. Modelo lineal aditivo

El modelo lineal aditivo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + S_j + (E.S)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable de respuesta medida.

μ = Media poblacional

E_i = Efecto de la i – ésima especie.

S_j = Efecto del j – ésimo sustrato.

$(E.S)_{ij}$ = Interacción de la i – ésima especie con el j – ésimo sustrato.

E_{ijk} = Error experimental

Para el análisis de varianza de los datos, se utilizó el programa de Sistema de Análisis Estadístico (SAS Institute, 1998). Se aplicó para los casos necesarios, la prueba de amplitud de medias mínimas significativas (LSD) y prueba de rangos múltiples de Tukey a fin de comparar medias de los tratamientos.

3.2.4. Variables de respuesta evaluadas

a) Altura de la planta (cm): Esta variable fue evaluada con la ayuda de una regla tomando la lectura en cm desde la base del cuello del tallo hasta la parte

apical de la planta. El registro de datos se realizó a los 15, 30, 45 y 60 después del trasplante.

- b) Número de hojas:** Los datos de esta variable se registraron luego del conteo del número de hojas por plántulas. Las lecturas se realizaron a los 15, 30, 45 y 60 después del trasplante.
- c) Largo de raíces (cm):** Para esta variable, se midió se midió con una regla la longitud de las raíces de las plántulas. Esto se realizó a los 60 días después del trasplante.
- d) Número de ramificaciones:** Para recopilar los datos en esta variable, se realizó un conteo del número de ramificaciones en las raíces de las plántulas. Esto datos se registraron a los 60 días después del trasplante.
- e) Porcentaje de sobrevivencia:** Esta variable se determinó a partir de la división del número de plantas muertas entre el número de plantas trasplantadas multiplicado por 100. Esto se realizó al culminar la etapa *ex vitro* a los 60 días.

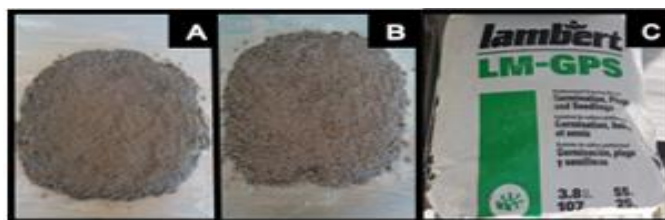
3.2.5. Establecimiento del estudio

a) Selección del material vegetal.

Se seleccionaron vitroplantas de Ñampí (*Dioscorea trifida* L.), clones Blanco y Morado; Plátano (*Musa balbisiana*) variedad Curare Enano y Banano (*Musa acuminata*) clon Pelipita provenientes del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

b) Preparación de sustratos.

Se utilizaron tres tipos de sustratos S1: compuesto de suelo+ arena y cascarilla de arroz en proporciones de 1:1:1 (Fig. 2.A), S2: compuesto de cascarilla de arroz + arena en proporciones de 3:1 (Fig.2.B) y S3: sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS (Fig.2.C). Cabe destacar que antes de realizar el llenado de las bandejas cada sustrato fue humedecido con agua, buscando mejorar su consistencia y facilitar el trasplante.



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 2. A) S1: suelo, arena y cascarilla de arroz. B) S2: cascarilla de arroz y arena. C) Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

c) Trasplante del material vegetal seleccionado.

Las vitroplantas fueron extraídas de los frascos y lavadas con agua para eliminar los restos del medio de cultivo. Seguidamente, para facilitar el trasplante de las mismas, se recortó sus raíces con la ayuda de un bisturí. Una vez recortadas, se trasplantaron a las bandejas previamente llenas con los sustratos, colocando una planta por alveolo. Finalmente éstas se ubicaron dentro una cámara húmeda por un periodo de 4 semanas (Fig. 3) y diariamente se regaron con agua.



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 3. Tratamientos en estudio ubicados dentro de la cámara húmeda.

d) Preparación y aplicación de la solución nutritiva.

Una vez las plantas superaron las primeras dos semanas en etapa *ex vitro*, fue necesario suministrarle nutrientes a través de un fertilizante foliar. Para su elaboración, primero se prepararon las soluciones madres con alta

concentración de sales (cuadro III), y luego éstas fueron mezcladas obteniendo una solución final con una concentración de 1x Las aplicaciones de fertilizante iniciaron a partir de los 15 días después del trasplante a una frecuencia de 3 veces por semana hasta culminar los 60 días de la etapa *ex vitro*. (Fig. 4).

CUADRO III. COMPOSICIÓN DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA DE CONCENTRACIÓN 1X.

Soluciones madres	Cantidad
Macro 20x MS	50 ml
Micro 20x MS	50 ml
Micro 400x MS	2.5 ml
FeEDTA 20x MS	50 ml
Vitaminas 1000x MS	1 ml

Fuente: (Autor, 2019).



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 4. Aplicación de la solución nutritiva.

a) Fase de invernadero.

Una vez efectuada la aclimatación de las plántulas de ñampí clones Blanco y Morado; plátano variedad Curare Enano y banano clon Pelipita fueron trasplantadas a bolsas negras de polietileno (Fig. 5). Se utilizó como sustrato una mezcla de suelo y arena en proporción 1:1.



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 5. Trasplante de vitroplantas aclimatadas a bolsas de polietileno.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Etapa de Aclimatación

4.1.1. Altura de las plantas 15 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro IV, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable altura de las plantas a los 15ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) para la fuente de variación sustrato y variaciones altamente significativas ($p < 0.01$) para la interacción de especie por sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la interacción (especie x sustrato), se analizó la matriz de valores p generada por SAS (SAS Institute, 1998) a fin de dilucidar la naturaleza de esta interacción.

CUADRO IV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 15DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	1.42	0.2352 NS
Sustrato	2	3.54	0.0297 *
Especie x Sustrato	6	4.39	0.0003 **
Error	467		
Total	478		

CV=15.95%

Fuente: (Autor, 2019).

NS= Indica un efecto no significativo.

*= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 5 %.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la matriz de valores p presentado en el cuadro V, no refleja diferencias en la altura con respecto al uso de los sustratos para las especies Plátano Curare Enano y Ñampí Morado, sin embargo, si se encontró diferencias en la altura para el caso del Banano Pelipita y Ñampí Blanco. Esto puede atribuirse a lo mencionado por Alvarado, (1986), de que la respuesta fisiológica varía según la especie, lo influye en la respuesta en altura de la misma; por su parte Ruiz (2003), indica que el crecimiento de la planta en la fase de aclimatación está influenciado por el tipo de sustrato utilizado.

Las respuestas diferenciales de las alturas promedios a los 15ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 6.

CUADRO V. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 15DDT.

Especies	Sustratos	Media †	Agrupamiento LSD
Plátano Curare Enano	S_3	2.48	a
	S_1	2.18	b
	S_2	2.01	b
Banano Pelipita	S_1	2.22	a
	S_3	2.17	b
	S_2	2.05	bc
Ñampí Blanco	S_3	2.30	a
	S_2	2.24	a
	S_1	2.16	a
Ñampí Morado	S_1	2.27	a
	S_2	2.26	b
	S_3	2.13	b

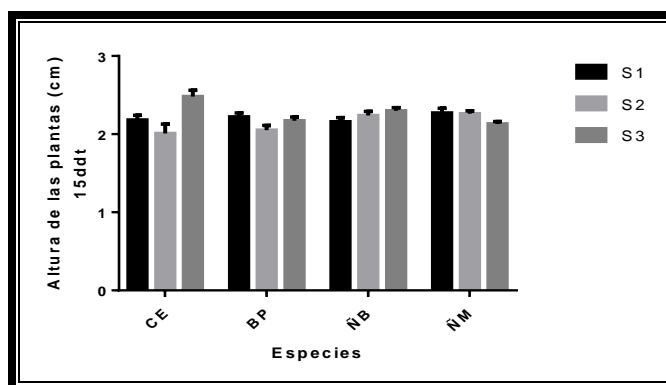
†=medias de Mínimos Cuadrados.

Fuente: (Autor, 2019).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_3 =Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 6. Promedios de alturas (en cm) de las especies evaluadas vs sustratos utilizados 15ddt.

4.1.1.1. Número de hojas 15 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XII, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable número de hojas a los 15ddt. El resultado de este análisis mostró la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación especie y variaciones altamente significativas ($p < 0.01$) para la interacción especie x sustrato. Debido que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la interacción (especie x sustrato), se analizó la matriz de valores p generado por SAS (SAS Institute, 1998) a fin de aclarar la naturaleza de esta interacción.

CUADRO VI. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 15DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	4.77	0.0028 **
Sustrato	2	0.91	0.4035 NS
Especie x Sustrato	6	3.52	0.0020 **
Error	482		
Total	493		

CV=27.00%

Fuente: (Autor, 2019).

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

NS= Indica un efecto no significativo.

El resultado de la matriz de valores p presentado en el cuadro VII, no refleja diferencias en el número de hojas con respecto al uso de los sustratos para las especies Plátano Curare Enano y Ñampí Blanco; sin embargo, si se encontró

diferencias en el número de hojas para el caso del Banano Pelipita y Ñampí Morado por el efecto de los sustratos utilizados. Esto puede ser debido a que, según Alvarado, (1986), la emisión de hojas se ve afectada en cierta medida por el sustrato utilizado; así como también se le puede atribuir a la respuesta fisiológica que presenta cada especie.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 15ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 7.

CUADRO VII. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 15DDT.

Especies	Sustratos	Media	†	Agrupamiento LSD
Plátano Curare Enano	S_3	2.40		a
	S_2	2.34		a
	S_1	2.12		a
Banano Pelipita	S_3	2.19		a
	S_1	1.98		b
	S_2	1.89		b
Ñampí Blanco	S_2	2.04		a
	S_3	2.01		a
	S_1	1.86		a
Ñampí Morado	S_1	2.20		a
	S_2	1.97		b
	S_3	1.88		b

†=medias de Mínimos Cuadrados.

Fuente: (Autor, 2019).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_3 =Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

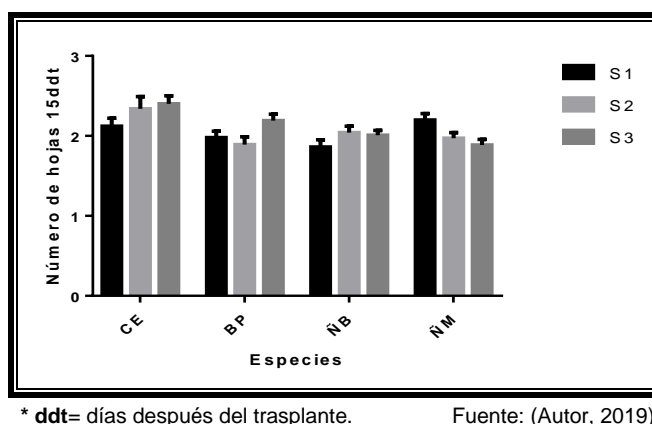


Figura 7. Promedios del número de hojas en las especies evaluadas vs sustratos utilizados 15ddt.

4.1.2. Altura de las plantas 30 días después del trasplante (ddt)

En el cuadro VIII, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable altura de las plantas a los 30ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación sustrato y variaciones altamente significativas ($p < 0.01$) para la interacción especie x sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la interacción (especie x sustrato), se analizó la matriz de valores p generada por SAS (SAS Institute, 1998) a fin de aclarar la naturaleza de esta interacción.

CUADRO VIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 30DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	1.67	0.1732 NS
Sustrato	2	13.19	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	3.96	0.0007 **
Error	429		
Total	440		

CV=17.44%

Fuente: (Autor, 2019).

NS= Indica un efecto no significativo.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la matriz de valores p presentado en el cuadro IX, no refleja diferencias en la altura con respecto al uso de los sustratos para la especie Plátano Curare Enano, Ñampí Blanco y Ñampí Morado, sin embargo, si se encontró diferencias en la altura para el caso del Banano Pelipita por el efecto de los sustratos utilizados. Esto posiblemente se debe a la respuesta fisiológica en invernadero que muestra cada especie; por su parte, Morales *et al.*, (2013) indica que la elección de un sustrato con buenas características físicas, es indispensable para el crecimiento y desarrollo de las especies.

Las respuestas diferenciales de las alturas promedios a los 30ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 8.

CUADRO VII. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 30DDT.

Especies	Sustratos	Media	†	Agrupamiento LSD
Plátano Curare Enano	S_3	2.61		a
	S_1	2.35		a
	S_2	2.30		a
Banano Pelipita	S_3	2.80		a
	S_1	2.38		b
	S_2	2.28		b
Ñampí Blanco	S_3	2.69		a
	S_1	2.50		a
	S_2	2.35		a
Ñampí Morado	S_1	2.68		a
	S_2	2.59		a
	S_3	2.47		a

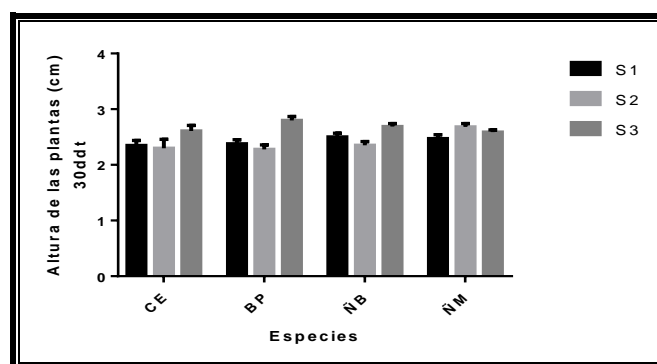
†=medias de Mínimos Cuadrados.

Fuente: (Autor, 2019).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_3 =Sustrato a base de turba Lambert® LM-GPS.



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 8. Promedios de alturas (en cm) de las especies evaluadas vs sustratos utilizados a los 30ddt.

4.1.3. Número de hojas 30 días después del trasplante (ddt)

En el cuadro X, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable número de hojas a los 30ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación sustrato y variaciones altamente significativas ($p < 0.01$) para la interacción especie x sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la interacción (especie x sustrato), se analizó la matriz de valores p generadas por SAS (SAS Institute, 1998) a fin de dilucidar la naturaleza de esta interacción.

CUADRO X. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 30DDT. (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	0.77	0.5099 NS
Sustrato	2	10.51	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	3.10	0.0054 **
Error	486		
Total	497		

CV=20.49%

Fuente: (Autor, 2019).

NS= Indica un efecto no significativo.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la matriz de valores p presentado en el cuadro XI, no refleja diferencias en el número de hojas con respecto al uso de los sustratos para las especies Ñampí Blanco y Ñampí Morado, sin embargo, si se encontró diferencias

en el número de hojas para el caso del Plátano Curare Enano y Banano Pelipita por el efecto de los sustratos utilizados. Posiblemente esto se debe a la respuesta fisiológica en invernadero propia de cada especie; de igual manera se puede atribuir, de acuerdo a lo mencionado por Hartmann *et al.*, 1997 a que el sustrato debe tener características físicas favorables para obtener buenos resultados en la emisión foliar.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 30ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 9.

CUADRO XI. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 30DDT.

Especies	Sustratos	Media †	Agrupamiento LSD
Plátano Curare Enano	S_3	2.71	a
	S_2	2.43	ab
	S_1	2.27	b
Banano Pelipita	S_3	2.62	a
	S_2	2.30	a
	S_1	2.19	a
Ñampí Blanco	S_1	2.48	a
	S_2	2.40	a
	S_3	2.32	a
Ñampí Morado	S_1	2.46	a
	S_2	2.37	a
	S_3	2.26	a

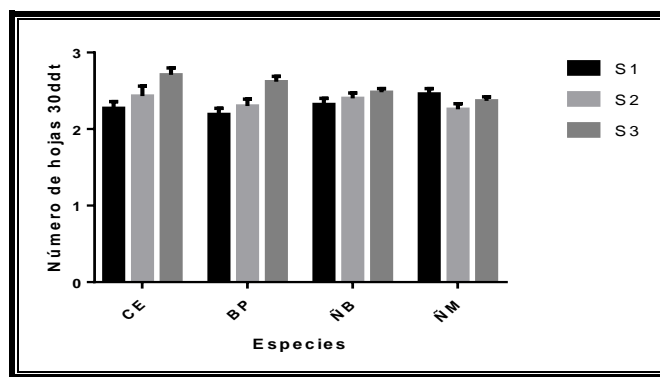
†=medias de Mínimos Cuadrados.

Fuente: (Autor, 2019).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_3 =Sustrato a base de turba Lambert LM-GPS.



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 9. Promedios del número de hojas en las especies evaluadas vs sustratos utilizados 30ddt.

2.1.1. Altura de las plantas 45 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XII, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable altura de las plantas a los 45ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) para la fuente de variación especie, diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación sustrato y variaciones altamente significativas ($p < 0.01$) para la interacción especie x sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la interacción (especie x sustrato), se analizó la matriz de valores p generada por SAS (SAS Institute, 1998) a fin de aclarar la naturaleza de esta interacción.

CUADRO XIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 45DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	2.91	0.0342 *
Sustrato	2	36.73	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	6.29	0.0001 **
Error	445		
Total	456		

CV=19.31%

Fuente: (Autor, 2019).

*= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 5 %.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la matriz de valores p presentado en el cuadro XIII, no refleja diferencias la altura con respecto al uso de los sustratos para la especie Plátano

Curare Enano, Banano Pelipita y Ñampí Blanco, sin embargo, si se encontró diferencias en la altura para el caso del Ñampí Morado por el efecto de los sustratos utilizados. Esto se puede atribuir a la respuesta fisiológica presentada por las especies frente a condiciones de invernadero; así como también al tipo de sustrato que, según la FAO, (2002), un sustrato debe ser seleccionado en función de las características físicas y los requerimientos propios de cada especie.

Las respuestas diferenciales de las alturas promedios a los 45ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 10.

CUADRO VIII. ANÁLISIS DE LA MATRIZ DE VALORES P PARA EXAMINAR LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN ESPECIE X SUSTRATO EN LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 45DDT.

Especies	Sustratos	Media †	Agrupamiento LSD
Plátano Curare Enano	S_3	2.90	a
	S_2	2.43	b
	S_1	2.35	b
Banano Pelipita	S_3	3.15	a
	S_1	2.41	b
	S_2	2.20	b
Ñampí Blanco	S_3	2.93	a
	S_1	2.61	b
	S_2	2.49	b
Ñampí Morado	S_2	2.86	a
	S_3	2.84	a
	S_1	2.58	b

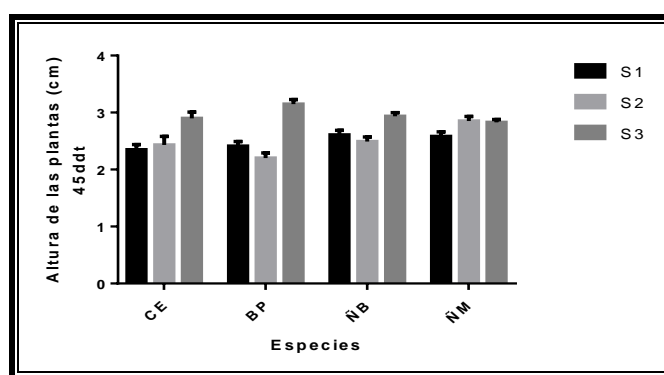
†=medias de Mínimos Cuadrados.

Fuente: (Autor, 2019).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_3 =Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.



* ddt= días después del trasplante

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 10. Promedios de alturas (en cm) de las especies evaluadas vs sustratos utilizados 45ddt.

4.1.4. Número de hojas 45 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XVI, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable número de hojas a los 45ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación sustrato y especie. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia tanto para la variación sustrato como especie, se compararon las medias de esta variable mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan.

CUADRO XIV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 45DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	6.59	0.0002 **
Sustrato	2	29.13	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	0.91	0.4900 NS
Error	503		
Total	514		

CV=21.32%

Fuente: (Autor, 2019).

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

NS= Indica un efecto no significativo.

El resultado de la prueba de rangos múltiples de Duncan, se ilustra en el cuadro XVII, este reveló la formación de dos grupos de medias que difieren entre sí. Un grupo a que presenta un número promedio de hojas superior conformado por las especies Ñampí Blanco y Ñampí Morado y un grupo b que presenta un número de hojas inferior formado por las especies Banano Pelipita y Plátano Curare

Enano. Según Swietlik y Faust, (1984), la capacidad de absorción de nutrientes vía aspersión foliar varía con respecto a cada especie, y posiblemente esta diferencia sea por el grado de cutinización de las hojas. A mayor cutinización (formación de cutícula en el haz y envés de la hoja) habrá menor facilidad de absorción de los nutrientes. Basado en lo anterior, las hojas de Ñampí presentaron menor cutinización y por ende tuvieron mayor capacidad de absorción, mientras que las musáceas tienen hojas más cutinizadas lo que dificulta la absorción de nutrientes.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 45ddt de las especies sembradas en los diferentes sustratos se pueden apreciar en la figura 11.

CUADRO IX. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 45DDT.

Especies	Media	Agrupamiento Duncan	†
ÑB	2.57	a	
ÑM	2.50	a	
BP	2.33	b	
CE	2.30	b	

Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Duncan.

ÑB=Ñampí Blanco.

ÑM=Ñampí Morado.

BP=Banano Pelipita.

CE=Plátano Curare Enano.

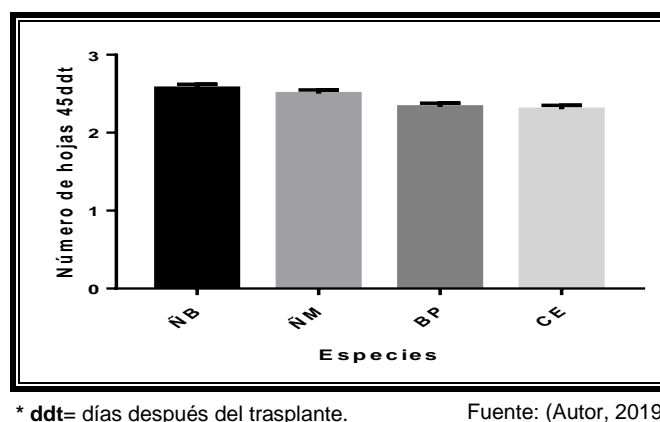


Figura 11. Promedios del número de hojas en las especies evaluadas 45ddt.

El resultado de la prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XVI, este reveló la formación de dos grupos de medias que difieren entre sí. Un grupo a, en el cual las especies sembradas en el sustrato 3 presentan un número promedio de hojas superior, mientras que los sustratos 1 y 2 no difieren entre sí, siendo similares estadísticamente. Esto puede atribuirse a lo mencionado por Antezana (2001), quien indica que la capacidad de retención de humedad y disponibilidad de nutrientes en el sustrato puede influir en la emisión foliar de las plantas, estas características estaban a favor de sustrato 3 por su composición a base de turba, mientras que los otros sustratos 1 y 2 tienen menor capacidad de retención de humedad lo que dificultó el desarrollo foliar de las plantas.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 45ddt de las especies sembradas en los tres tipos de sustratos, se puede apreciar en la figura12.

CUADRO X. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 45DDT.

Sustratos	Media	Agrupamiento Tukey
S_3	2.65	a
S_1	2.29	b
S_2	2.29	b

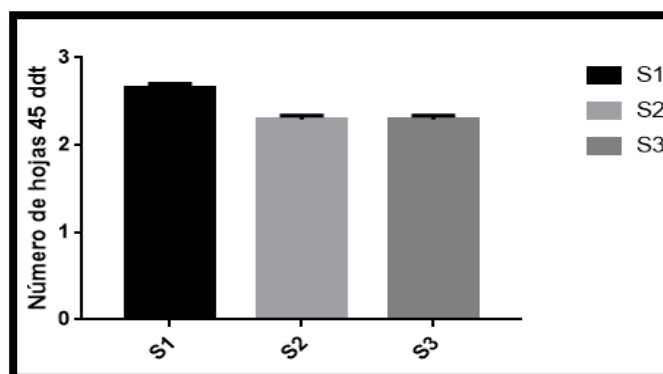
Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba deTukey.

S_3 = Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 12. Promedios del número de hojas de las especies sembradas en los tres tipos de sustratos 45ddt.

4.1.5. Altura de las plantas 60 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XVII, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable altura de las plantas a los 60ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p<0.01$) para la fuente

de variación sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la variación sustrato, se compararon las medias de las alturas de las plantas en función de los sustratos mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey.

CUADRO XVII. ANLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	2.53	0.0569 NS
Sustrato	2	49.48	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	1.61	0.1412 NS
Error	449		
Total	460		

CV=19.10%

Fuente: (Autor, 2019).

NS= Indica un efecto no significativo.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la prueba de rangos múltiples de Tukey. (Cuadro XVIII), mostró que las alturas de las plantas fueron significativamente mayores con el uso del sustrato 3 en comparación con los demás sustratos utilizados, los cuales no difieren entre sí. Esto puede ser debido a que los sustratos 1 y 2 presentan características físicas, tales como: baja retención de humedad, menos porosidad, etc., lo cual interinó en la respuesta de altura de las plantas sembradas en estos sustratos.

Las respuestas diferenciales de las alturas promedios a los 60ddt de las especies sembradas en los tres tipos de sustratos, se puede apreciar en la figura13.

CUADRO XI. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE ALTURA DE LAS PLANTAS 60DDT.

Sustratos	Media	Agrupamiento Tukey †
S_3	3.22	a
S_1	2.68	b
S_2	2.66	b

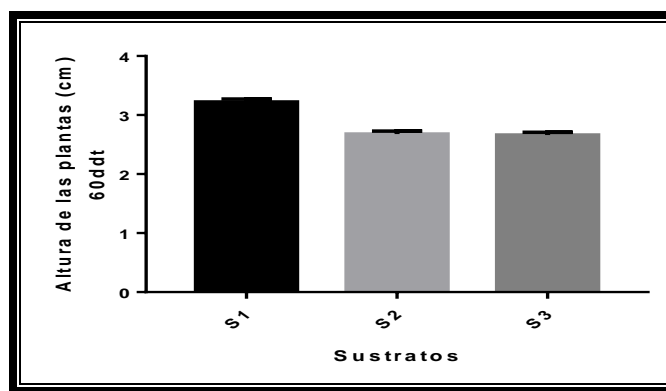
Fuente: (Autor, 2019).

†=Medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

S_3 = Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 13. Promedios de altura (en cm) de las especies evaluadas 60ddt.

4.1.6. Número de hojas 60 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XIX, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable número de hojas a los 60ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación especie y sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia tanto en la variación especie como en sustrato, se compararon las medias de esta variable mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey.

CUADRO XII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	6.32	0.0003 **
Sustrato	2	26.10	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	0.34	0.9163 NS
Error	512		
Total	523		

CV=22.22%

Fuente: (Autor, 2019).

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

NS= Indica un efecto no significativo.

La prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XX, este reveló que la especie Ñampí Blanco presenta el número promedio de hojas superior difiriendo de manera significativa del Plátano Curare Enano que resultó con el número promedio de hojas inferior. Cabe destacar que aun teniendo la media más alta la especie Ñampí Blanco no difirió de Ñampí Morado. En ese mismo orden de

idea, se observó que la especie Plátano Curare Enano aun teniendo la media más baja no difirió significativamente de la especie Banano Pelipita. Esto puede ser debido al grado de cutinización (formación de cutícula en el haz y envés de la hoja)) que presentan las hojas musáceas, lo que dificulta la capacidad de absorción de los nutrientes vía foliar, a diferencia de las hojas de la especie Ñampí que son menos cutinizadas y permite la absorción adecuada.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 60ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 14.

CUADRO XIII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS 60DDT.

Especies	Media	Agrupamiento Tukey	†
ÑB	2.71	a	
ÑM	2.62	ab	
BP	2.50	bc	
CE	2.39	c	

Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

ÑB=Ñampí Blanco.

ÑM=Ñampí Morado.

BP=Banano Pelipita.

CE=Plátano Curare Enano.

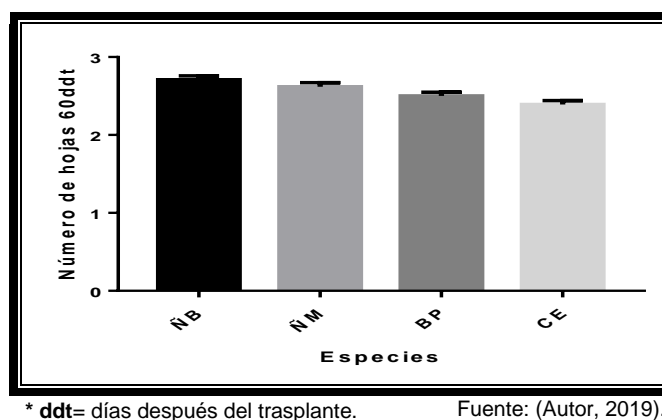


Figura 7. Promedios del número de hojas en las especies evaluadas 60ddt.

La prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XXI, reveló la formación de dos grupos de medias que difieren entre sí. Un grupo a en cual las especies sembradas en el sustrato 3 presentan un número promedio de hojas superior, mientras que los sustratos 1 y 2 no difieren entre sí, siendo similares estadísticamente. Posiblemente esto se debe a que las características físicas que presenta el sustrato 3 son las ideales, como: alto porcentaje de retención de humedad, buena porosidad, etc., esto permite que las raíces absorban de forma mucho más eficiente los nutrientes del medio, mientras que los sustratos 1 y 2, presentan características físicas no tan favorables, como: mayor grado de compactación y menor porcentaje de retención de humedad lo que dificulta el mecanismo de absorción de las plantas, afectando el desarrollo del follaje.

Las respuestas diferenciales del número de hojas promedios a los 60ddt de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos se pueden apreciar en la figura 15.

CUADRO XXI. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE HOJAS A LOS 60DDT.

Sustratos	Media	Agrupamiento Tukey †
S_3	2.79	a
S_1	2.42	b
S_2	2.38	b

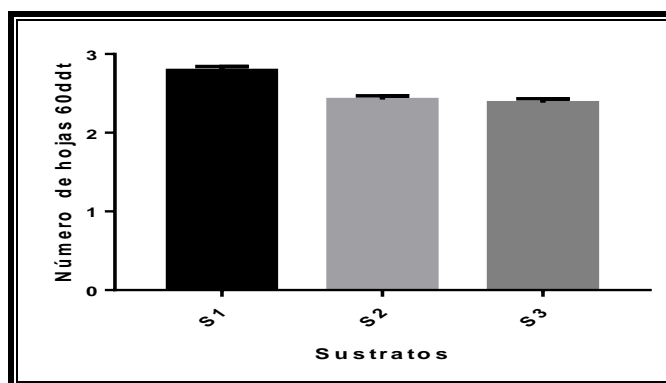
Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

S_3 = Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 8. Promedios del número de hojas de las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.

4.1.7. Longitud de raíces a los 60 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XXI, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable longitud de raíces a los 60ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para la fuente de variación sustrato. Debido a que el análisis de varianza arrojó alta significancia en la variación sustrato se compararon las medias de los largos de las raíces en función de los sustratos con la prueba de rangos múltiples de Tukey.

CUADRO XIV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60DDT (DATOS TRASFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	0.64	0.5873 NS
Sustrato	2	13.67	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	2.02	0.0608 NS
Error	534		
Total	545		

CV=36.22%

Fuente: (Autor, 2019).

NS= Indica un efecto no significativo.

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

El resultado de la prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XXIII, este reveló la formación de dos grupos de medias que difieren entre sí. Un grupo a en el cual las especies sembradas en el sustrato 3 presentan un largo promedio de raíces superior, mientras que los sustratos 1 y 2 no difieren entre sí.

Esto se puede atribuir a lo mencionado por Ramón *et al.*, (2010), que al emplear turba como sustrato en la aclimatación de vitroplantas se logra un mejor desarrollo del sistema radicular, ya que este posee características físicas ideales (elevada Capacidad de Intercambio Catiónico, gran capacidad de retención de agua, espacio poroso total elevado, etc.) permitiendo una buena circulación de aire y facilidad en la extracción de agua y nutrientes a través de las raíces de las plantas. Por otra parte, Fuchsiarama, (2004), menciona que las raíces de las plantas en un sustrato con características físicas, tales como: buena capacidad de drenaje y rápida pérdida de humedad, presentará un desarrollo limitado de su sistema radicular y, por ende, dificultad en la absorción de agua y nutrientes ocasionando estrés hídrico en el tejido celular de la planta y a su vez la producción de alteraciones fisiológicas en esta. Esto es corroborado por Pinedo, (2000) al mencionar que la escasez del suministro de agua provoca el estrés hídrico en la planta originando danos irreversibles en la misma.

Las respuestas diferenciales de los largos promedios de las raíces de las especies sembradas en los sustratos utilizados, se puede apreciar en la figura 16.

CUADRO XVI. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE RAÍCES A LOS 60DDT.

Sustratos	Media	Agrupamiento Tukey †
S_3	2.91	a
S_1	2.51	b
S_2	2.42	b

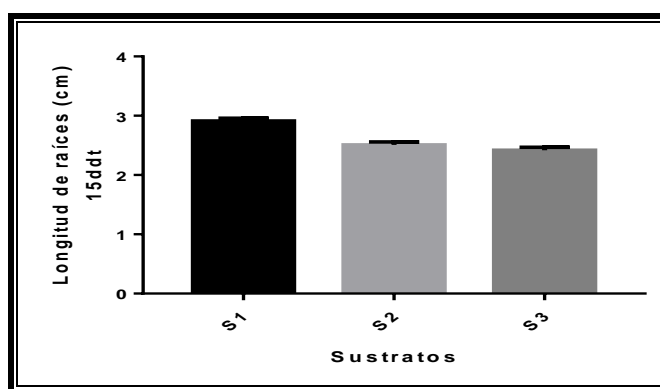
Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

S_3 = Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).



* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 9. Promedios de los largos promedios de raíces (en cm) de las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.

4.1.8. Número de ramificaciones de las raíces 60 días después del trasplante (ddt)

En el Cuadro XXIV, se presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la variable número de ramificaciones de las raíces a los 60ddt. El resultado de este análisis reflejó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para las fuentes de variación sustrato y especie. Debido a que el análisis arrojó alta significancia tanto para la fuente de variación especie como sustrato, se compararon las medias de esta variable mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey.

CUADRO XVI. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT (DATOS TRANSFORMADOS CON $\sqrt{(x+c)}$).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F_c	$Pr > F$
Especie	3	12.83	0.0001 **
Sustrato	2	10.77	0.0001 **
Especie x Sustrato	6	0.74	0.6190 NS
Error	534		
Total	545		

CV=34.50%

Fuente: (Autor, 2019).

**= Indica un efecto significativo al nivel de probabilidad del 1%.

NS= Indica un efecto no significativo.

La prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XXV, este reveló la formación de dos grupos de medias las cuales difieren entre sí. Un grupo a conformado por las especies Ñampí Blanco y Ñampí Morado el cual presenta un

número promedio de ramificaciones de las raíces superior, y un grupo b formado por las especies Plátano Curare Enano y Banano Pelipita que presentan un número de ramificaciones de las raíces inferior. Esto puede atribuirse que las hojas en las musáceas están más cutinizadas lo que dificulta la capacidad de absorción de los nutrientes vía foliar, mientras que la especie Ñampí presenta hojas menos cutinizadas lo que facilita la absorción de nutrientes por esta vía.

Las respuestas diferenciales del número promedio de ramificaciones de las raíces de las especies evaluadas 45ddt, se puede apreciar en la figura 17.

CUADRO XVII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LAS ESPECIES PARA LA VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT.

Especies	Media	Agrupamiento Tukey	†
ÑB	2.64	a	
ÑM	2.64	a	
BP	2.20	b	
CE	2.06	b	

Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

ÑB=Ñampí Blanco.

ÑM=Ñampí Morado.

BP=Banano Pelipita.

CE=Plátano Curare Enano.

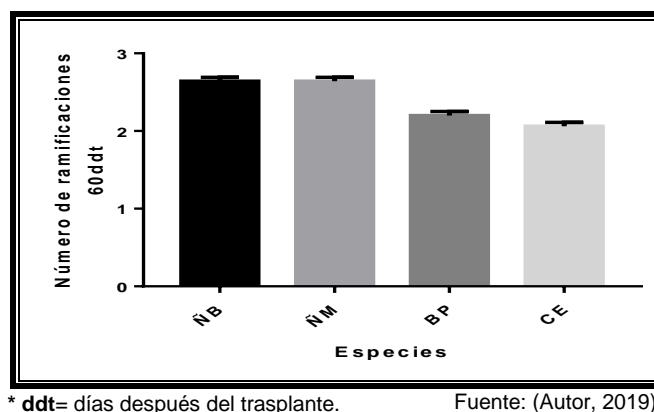


Figura 10. Promedios del número de ramificaciones de las raíces en las especies evaluadas 60ddt.

La prueba de rangos múltiples de Tukey, se ilustra en el cuadro XXV, este reveló la formación de dos grupos de medias que difieren entre sí. Un grupo a, en el cual las especies sembradas en el sustrato 3 presentan un número promedio de ramificaciones de las raíces superior, mientras que los sustratos 1 y 2 no difieren entre sí, siendo similares estadísticamente. Según, Ruiz, (2003) y Gutiérrez *et al.* (1998), coinciden en que el desarrollo del sistema radicular durante la fase de aclimatación de plantas está influenciado por el tipo de sustrato utilizado y las características físicas que esté presente. Lo cual es corroborado por Alves, (1999) y Ballesteros, (1992) quienes mencionan que es muy importante un buen desarrollo de la raíz en las plantas aclimatadas, puesto que asegura una adecuada adaptación de las mismas al campo definitivo.

Las respuestas diferenciales del número promedio de ramificaciones de las raíces de las especies sembradas en los sustratos utilizados, se puede apreciar en la figura 18.

CUADRO XVIII. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS SUSTRATOS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE RAMIFICACIONES DE LAS RAÍCES A LOS 60DDT.

Sustratos	Media	Agrupamiento Tukey †
S_3	2.68	a
S_2	2.37	b
S_1	2.22	b

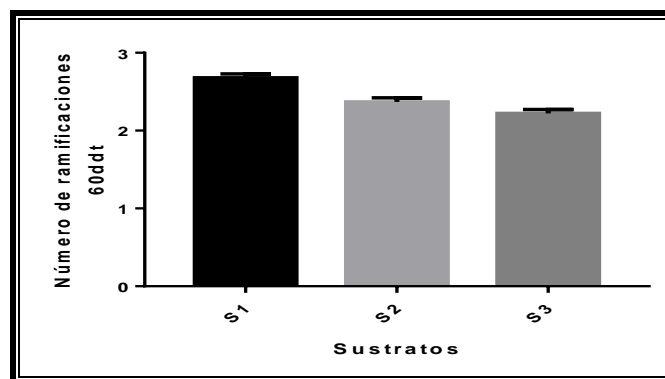
Fuente: (Autor, 2019).

†=medias seguidas por la misma letra no difieren según la prueba de Tukey.

S_3 = Sustrato a base de turba Lambert ® LM-GPS.

S_2 =Cascarilla de arroz + arena (3:1).

S_1 =Suelo + arena + cascarilla de arroz (1:1:1).



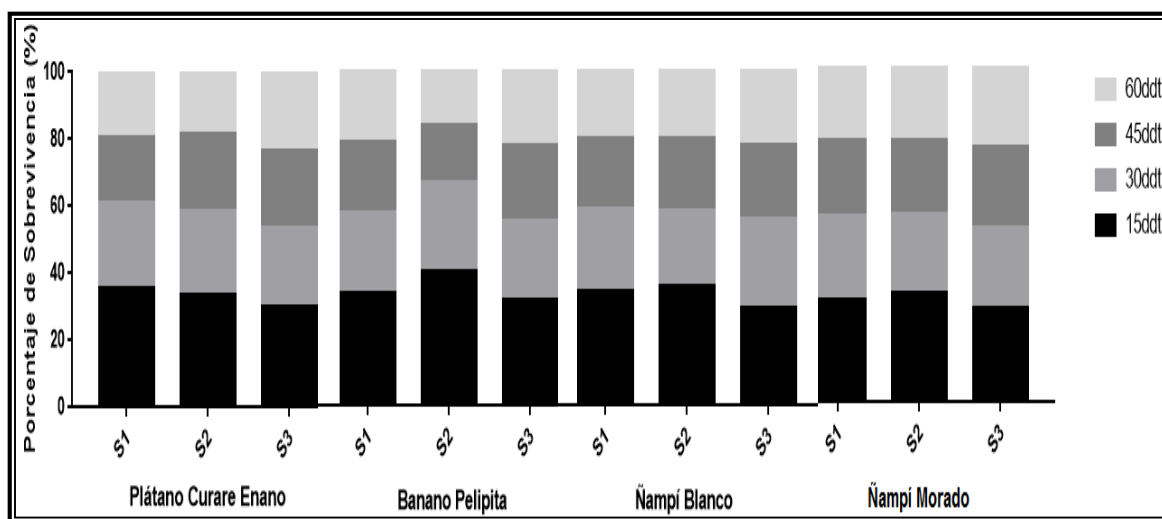
* ddt= días después del trasplante.

Fuente: (Autor, 2019).

Figura 11. Promedios del número de ramificaciones de las raíces en las especies sembradas en los sustratos utilizados 60ddt.

4.1.9. Porcentaje de sobrevivencia

La figura 12, muestra el porcentaje de sobrevivencia de las especies evaluadas en cada uno de los sustratos utilizados, en donde se aprecia que se obtuvo un número inferior de plantas aclimatadas en las musáceas, mientras que en las dioscoreáceas fue superior. Posiblemente se puede atribuir a que las condiciones del invernadero en el momento de la aclimatación no eran las más adecuadas, ya que existía una alta radiación y además, el sistema de nebulizadores no estaba funcionando por lo que se empleó una alternativa rudimentaria al colocar frascos con agua dentro de la cámara de aclimatación y así generar un ambiente con alta humedad relativa, sin embargo esta elección no es la más ideal para estos casos; y esto se reflejó principalmente en las musáceas que presentaron un menor porcentaje sobrevivencia lo que indica que a esta variación estas especies son más sensibles y que requieren de un sistema más eficiente, como: la nebulización, en el caso de las dioscoreáceas que al ser un tipo de especie más rústica se obtuvo un mayor porcentaje de sobrevivencia.



Fuente: (Autor, 2019).

Figura 12. Porcentaje de sobrevivencia de las plantas en cada una de las especies evaluadas.

5. CONCLUSIONES

- En base a los resultados obtenidos podemos concluir que en los conteos a los 15 y 45ddt para la variable altura, observamos que los mejores promedios de alturas se obtuvieron con el uso del sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS, a excepción de la especie Ñampí Morado a los 30ddt en donde la altura promedio más alta dentro de esa especie resultó igual para los sustratos 1 y 2, los cuales no difieren entre sí.
- Al final del periodo de aclimatación 60ddt no hubo significancia en la interacción entre los sustratos y especie. Sin embargo, sí se mostró una alta significancia en el sustrato como efecto simple revelando claramente que el sustrato comercial tuvo el mejor efecto sobre las aturas promedios en las vitroplantas.
- Para la variable número de hojas a los 15 y 30ddt podemos concluir que los análisis de varianza reflejaron diferencias altamente significativas en la interacción entre las especies evaluadas y los sustratos utilizados, en donde se encontró que el número promedio de hojas se obtuvo con el uso del sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS, a excepción de la especie Ñampí Morado que reflejó un número promedio de hojas más alto con el empleo del sustrato 1.

- Con respecto al efecto de los sustratos sobre el número de hojas en las vitroplantas a los 60ddt, se encontró que no hubo significancia para la interacción (especie x sustrato), en el caso de los efectos simples ambos fueron altamente significativo. El sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS mostró los valores promedios más altos de hojas en comparación a los demás sustratos.
- En relación al efecto de los sustratos sobre el largo de las raíces, los resultados del análisis de varianza reflejaron diferencias altamente significativas para la fuente de variación sustrato en donde se encontró que los largos promedios más altos se obtuvieron con la utilización del sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS.
- Con respecto al efecto de los sustratos sobre el número de ramificaciones, los resultados del análisis de varianza revelaron diferencias altamente significativas para los efectos simples sustrato y especie, se observó que los números de ramificaciones promedios más altos en las vitroplantas se obtuvieron con el uso del sustrato comercial a base de turba Lambert ® LM-GPS.

6. RECOMENDACIONES

- Para la aclimatación de especies de Dioscoreáceas y Musáceas, utilizar el sustrato a base de turba (Lambert-LMS), por destacarse con mejores resultados en las distintas variables de respuesta.
- Establecer en la casa de aclimatación de vitroplantas un sistema de nebulizadores automatizado que permita mantener mucho más homogénea la distribución de la humedad relativa dentro de la cámara húmeda.
- Realizar investigaciones similares empleando otros sustratos, ya sea compost, lombricompost, estiércol de animales, entre otros; que permitan evaluar el crecimiento y desarrollo adecuado de las vitroplantas y a la vez abaratar los costos en la etapa de aclimatación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agraria. (s.f.) Reproducción de Hortalizas (en línea). Consultado 20 jul. 2019. Disponible en: [agrarias tripod.com/metodos_cultivo.htm](http://agrarias.tripod.com/metodos_cultivo.htm)-113k-Encaché- Páginas similares.
- Aguilar, J, y Baixauli, J. 2002. Cultivo sin suelo de hortalizas. 1ra ed (en línea) Valencia, España: Generalitat Valenciana y Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. Consultado 20 may. 2019. Disponible en: [http://www.ivia.gva.es/documents/161862582/161863558/Cultivo+sin+suelo+de+ hortalizas / bb39ab24- ef7c-4f51-82a7-cbf73e414e18](http://www.ivia.gva.es/documents/161862582/161863558/Cultivo+sin+suelo+de+hortalizas/bb39ab24-ef7c-4f51-82a7-cbf73e414e18).
- Alvarado, M. A., y Solano, J. A. (2002). Medios o Sustratos en la producción de viveros y plantas. Proyecto VIFINEX-OIRSA, Costa Rica.
- Alves E, JA. 1999. Cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconómicos e agroindustrias. Cruz das Almas, Brasil, EMBRAPA-SPI. 257 p.
- Ammirato, P. 1984. Manual de cultivo de células vegetales. En: D. Evans, P. Shalp, P. Ammirato, Y. Yamada. (eds).Vol.3. Nueva York, Estados Unidos. Macmillan. Names, 327-354 p.
- Ansonera, J. 1994. Sustratos: Propiedades y caracterización. Madrid, España. Ediciones Mundo Prensa. 172 p.
- Antezana, L. F. 2001. Determinación del rendimiento potencial de cultivos priorizados de papa (*Solanum tuberosum*), Oca (*Oxalis tuberosa* Mol) e isaño

(*Tropaeolum tuberosum* R&P) en el departamento de Cochabamba. Tesis Ing. Agr. Cochabamba Bolivia. UMSS-FCA y P. 120 p.

- Atkins, P. 1983. For pears shake, its an e~ceUent medium. Florida Digest, (USA)6 (6): 13- 14.
- Ballesteros, MS. 1992. Banano: cultivo y comercialización. 3 ed. San José, Costa Rica, Imrensa Lil. 584 p
- Bonilla, M.; Hernández, O. 2012. Propagación *in vitro* de ñame (*Dioscorea* spp.): una perspectiva en la producción masiva de plántulas y conservación de germoplasma. Agronomía. 20 (2): 65-76 p.
- Bonilla, M, Sánchez, S. & Pachón, J. 2015. Etapa *ex vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) variedad brasilera. Cuadernos de Recursos Fitogenéticos Neotropicales. 5-6 p, 61-67 p.
- Brainerd, K. y Fucchigami, L. 1981. Aclimatación de plantas de manzana cultivadas asépticamente a baja humedad relativa. Revista de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas, v. 107, n.5, 515-518 p.
- Burés S. 1997. Sustratos. Madrid: Ediciones Agrotécnicas. 342 p.
- Cahiers, O. M. 1999. Cultivos hidropónicos (en línea). Consultado 29 may. 2019. Disponible en <http://tecnociencia.es.especiales/cultivo hidropónicos/>.
- Calderón S. 2002. Cultivo de flores (en línea). Bogotá, Colombia. Consultado 2 abr. 2019. Disponible en <http://www.dicalderonlabs.com/index.html>.

- Castellón, M. M. 2000. Evaluación de siete sustratos y aplicación de un retardador de crecimiento para el desarrollo de Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre "Bolivia". La Paz Bolivia. 96 p.
- Chacón, A, Gómez, L., Torres, S., Saborío, F. 2006. Aclimatización de plántulas de Yampí (*Dioscorea trifida*) Y Ñame (*D. alata*) producidas *in vitro* (en línea). Consultado 15 abr. 2019 Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6780>
- Chacón G., Saborio F., Gómez L., Torres S., Valverde R. 2000. El tipo de gelificante en el desarrollo *in vitro* y la aclimatización de plantas de yampí (*Dioscorea trifida*) y ñame (*Dioscorea alata*). Agronomía Costarricense 24(2):57-62 p.
- FAO. (2002). El cultivo protegido en clima mediterráneo. Manual preparado por el grupo de cultivos hortícolas dirección de producción y protección vegetal.
- FAO. (2003). Hidroponía Familiar. Cultivos de esperanzas con rendimientos de paz México. Pp. 41-79.
- FAO. (2014). Medios y Técnicas de producción.
- Fuchsiarama. 2004 "Concentración de Sales en un Substrato" (en línea). Consultado 14 abr. 2019. Disponible en: <http://www.fuchsiarama.com>.

- George, E.1984. Factores que afectan el crecimiento y la morfogénesis. Genotipo y el entorno físico. En: Propagación de plantas por cultivo de tejidos. Parte 1: La Tecnología (E. George, ed.), 183-230 p. 2ª Ed. Exegética. Edington. Reino Unido
- Girgebv. 1994, Laboratorio de Genética-Unidad de Cultivo de Tejidos. "Resumen del primer curso nacional de Propagación *in vitro* de especies ornamentales". Perú.
- González, S. D. (2002). Evaluación de la efectividad del musgo de pantano (sphagnum) como substrato para producción de pilones de café (*Coffea arabica* L.) en bandeja (tipo IPL 25) en Cobán, Alta Verapaz. Universidad Rafael Landívar. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo.
- Grattapaglia, D. y Machado, M. A. (1998): Micropropagación. En: Cultura de Tejidos y Transformación Genética de Plantas. Eds. A. C. Torres, L. S. Caldas y J. A. Buso. Vol. 1. 509 p.
- Grupo Latino. 2006. Biblioteca Agropecuaria. Volvamos al Campo (Tomo II) Ed 2006. Impreso en Colombia - Printed in Colombia. Pp. 827.
- Guerra, D. 2002. Respuesta a la micropropagación *in vitro* de cuatro variedades de Plátano (*Musa AAB*) con diferentes fuentes de carbono y antioxidantes. Tesis Lic. Ing. Agr. Panamá. FCA.102 p.
- Gutiérrez, L., León, M. y Collantes, B. 1988. "Manual De cultivo de orquídeas". Perú.

- Hurtado y Merino, M. 1994. Cultivos de tejidos vegetales. Editorial Trillas. México. 67p
- Huylenbroeck J., Debergh P. 1996. Aspectos fisiológicos en la aclimatación de plántulas micropropagadas. Cultivo de tejidos vegetales y biotecnología 2 (3): 136-141 p.
- Morales, 2013. Aclimatación de plantas micropropagadas al invernadero y al campo. En: Micropropagación: Tecnología y aplicación Kluwer Academic Publishers Dordrecht Pp 71-94 Disponible en http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-009-2075-0_5#page-1-1
- Morales, M., Sánchez, S. y Pachón J. 2015. Evaluación de sustratos orgánicos para la aclimatación y endurecimiento de vitroplantas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) (en línea). Colombia. Consultado 10 marz. 2019. Disponible en: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1402/1726>
- Medina, L. 2018. Aclimatación y evaluación del crecimiento inicial en campo de vitroplantas de Banano (*Musa spp* var. Cavendish) en el Cantón Paltas (en línea). Loja – Ecuador. Tesis Lic. Ing. Agr. Ecuador. UNL. Consultado 2 mar. 2019. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/20568>
- OIRSA. (2002). Manual de producción de sustratos para viveros (en línea) Consultado el 18 de noviembre de 2005. Disponible en <http://www.oirsa.org>.

- Plaza, C. B. A. 2002. Efecto de seis sustratos y dos métodos de trasplante, en la adaptación de vitroplantas de frutilla (*Fragaria x Annanassa* Duch. c.v. fern). Tesis de Grado Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre "Bolivia". La Paz Bolivia 115 p.
- Pérez, J. (1998). Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología (Vol. I). (Y. Alvarado, R. Gómez, E. Jiménez, & P. Orellana, Edits.) GEO.
- Pierik, R. 1987 Cultivo *in vitro* de plantas superiores. Martinus Nijhoff Dordrecht, Países Bajos 344 p.1.
- Pierik, R. 1990. Cultivo In Vitre de las Plantas Superiores. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid - España. Pág 295- 326.
- Pinedo, F. 2000. "Propagación y conservación *in vitro* de la Uña de Gato (*Uncaria spp.*)". INIA-Experimental San Roque. Lima – Perú.
- Preece J.-Sutter-E 1990. Aclimatación de plantas micropropagadas al invernadero y al campo, pp.71-94. En: P. Debergh y R. Zimmerman (eds). Tecnología de micropropagación y aplicación. Kluwer Dordrecht, Países Bajos 11.
- Ritchie, G., Short, - K and- Davey, M. 1991. Aclimatación *in vitro* de plántulas de crisantemo y remolacha azucarera por tratamiento con paclobutrazol y exposición a humedad reducida. Revista experimental de botánica. (245): 15571563.1

- Roca W. y Mroginski, L. 1991. Establecimiento de un Laboratorio para el Cultivo de tejidos vegetales. En: cultivo de tejidos en la agricultura: (Ed. Por W.M. Roca y L. A Mroginski). CIAT. Cali. 211- 238 p.
- Ramón, M., Enríquez, J., & Velasco, V. (2010). Efecto del sustrato y fertiriego en el crecimiento inicial de vitroplantas de Musa sp.cv. Roatan. México.
- Ruiz, A. (2003). Micropropagación y Determinación cromosómica del género Crotón Productoras de látex. Tesis para optar el Título de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú. 64 p.
- Sandoval, F., Brenes, G., y Pérez, L. 1991. Micropropagación de plátano y banano (Musa AAB, AAA) en el CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico. No 186.14 p.
- SAS Institute. 1998. Sas stat user s guide, release 6.03 edition Cary, NC: SAS 1988 SAS Institute Inc., 1028 p.
- Swietlik, D. y Faust, M. 1984. Nutrición foliar de cultivos frutales pp. 287-355. En: J Janik (ed.) Horticultural reviews Vol. 6. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut
- Terés, V. (2001). Relaciones aire-agua en sustrato de cultivo como base para el control de riego. Metodología de laboratorio y modelización. Universidad Politécnica de Madrid. Tesis doctoral.
- Tineo, A. 1993. Física de suelos. Algunos elementos teórico prácticos. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. UNSCH. 53 p.

- Valenzuela, O. R. (2001). Propiedades del lombricompuesto como sustrato. En Tratamiento integral de residuos sólidos. Universidad Nacional Entre Ríos.
- Valenzuela, O., & Gallardo, C. (2005). Características de los sustratos utilizados por los viveros forestales. Universidad Entre Ríos.
- Ziv, M. 1990. Vitrificación: trastornos morfológicos y fisiológicos de plantas *in vitro*, pp. 45-70. En: P. Debergh y R. Zimmerman (eds). Tecnología de micropropagación y aplicación Kluwer. Dordrecht, Países Bajos.

ANEXOS

Variables de respuesta evaluadas



Fuente: (Autor, 2019).

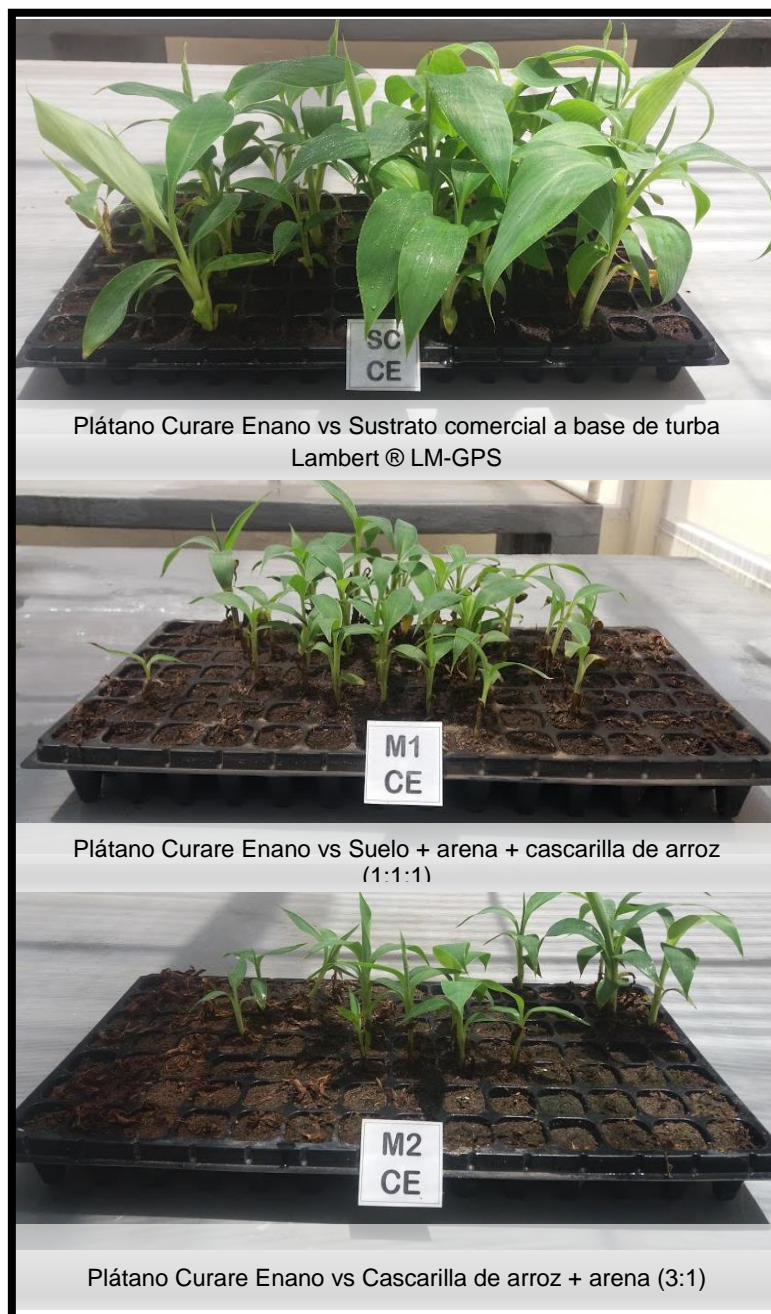
Anexo 1. Medición y conteo de las raíces.



Fuente: (Autor, 2019).

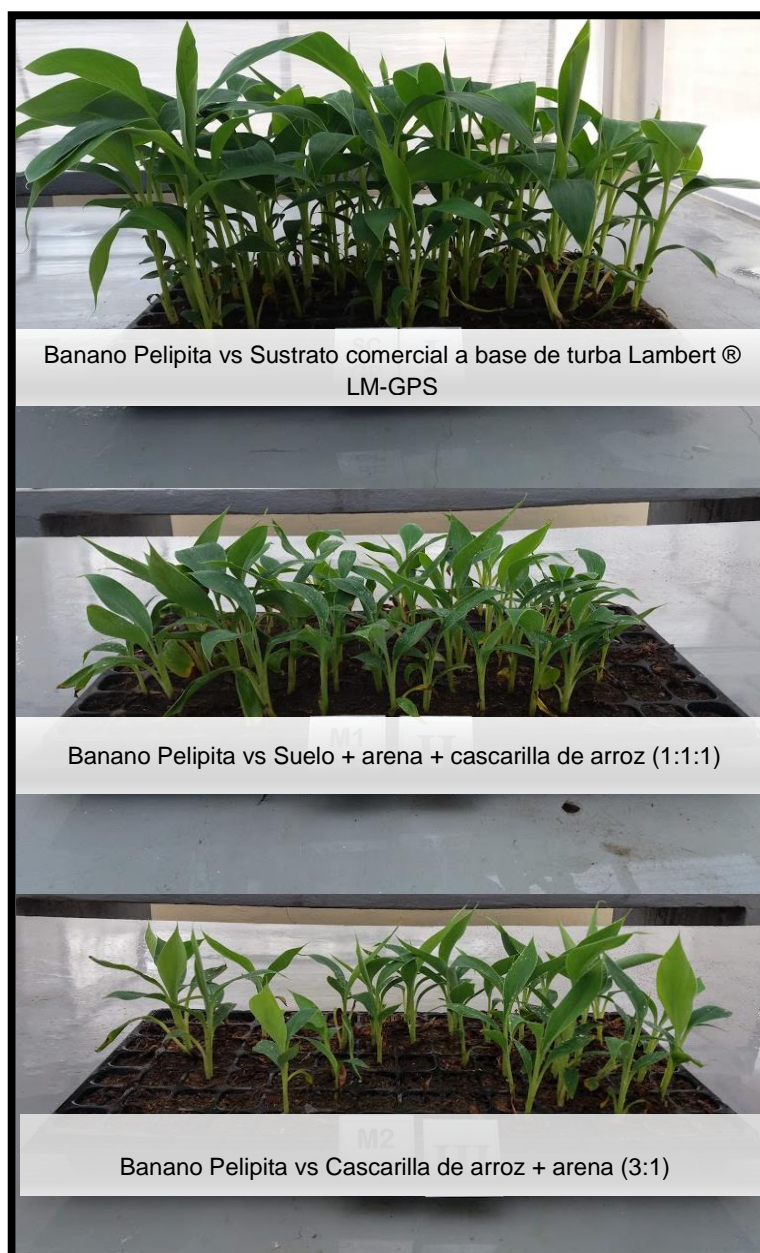
Anexo 2. Medición de la altura de las plantas.

Fase de aclimatación 60 días después del trasplante (ddt)



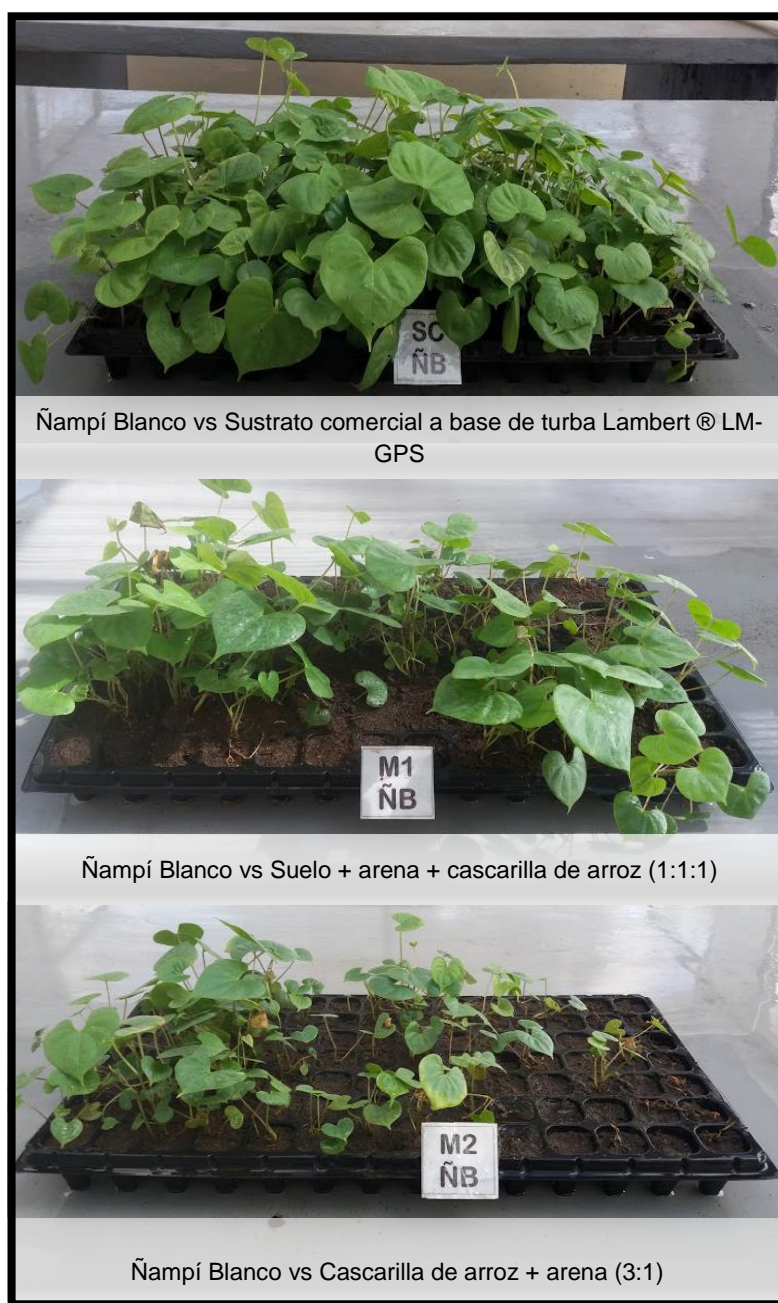
Fuente: (Autor, 2019).

Anexo 3. Sobrevivencia de plantas 60ddt de la especie Plátano Curare Enano en los tres tipos de sustratos.



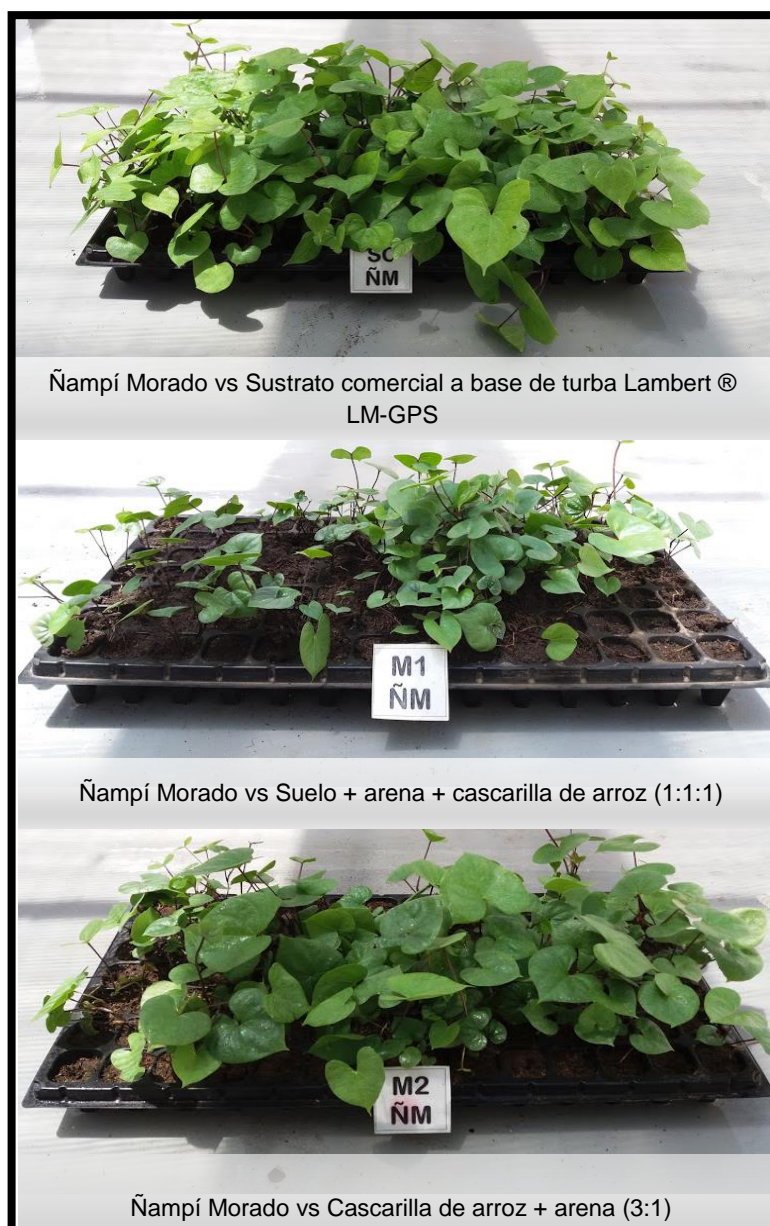
Fuente: (Autor, 2019).

Anexo 4. Sobrevivencia de plantas 60ddt de la especie Banano Pelipita en los tres tipos de sustratos.



Fuente: (Autor, 2019).

Anexo 5. Sobrevivencia de plantas 60ddt de la especie Ñampí blanco en los tres tipos de sustratos.



Fuente: (Autor, 2019).

Anexo 6. Sobrevivencia de plantas 60ddt de la especie Ñampí Morado en los tres tipos de sustratos.