

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**“INDUCCIÓN DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS EN EXPLANTES INIAP DE
PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis*) Y PALMA AMERICANA (*Elaeis
oleífera*) CON RESISTENCIA Y/O TOLERANCIA A LA PUDRICIÓN DE
COGOLLO”**

Carlos Aguirre¹; Venus Arévalo². Armando Tumbaco². Uday Vinicio²

¹ Egresado-ESPE-Santo Domingo-Carrera de Ingeniería Agropecuaria

² Docentes-ESPE, Santo Domingo - Carrera de Ingeniería Agropecuaria

RESUMEN

Una de las limitantes para el desarrollo del cultivo, es la presencia de la enfermedad conocida como Pudrición de Cogollo (PC), esta anomalía se reporta desde los años setenta, causa de fuertes estragos en las plantaciones, es por eso que mediante esta investigación se pretende estabilizar un protocolo para inducir callos embriogénicos en explantes de materiales de palma aceitera resistentes y/o tolerantes a la PC, para propagar masiva y rápidamente estos genotipos proveyendo a los palmicultores de una solución genética a esta enfermedad tan importante.

En este ensayo para el análisis estadístico, se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) dispuesto en arreglo factorial 2 x 2 x 3 (dos genotipos por dos medios de cultivo y por tres dosis de la hormona 2,4 D (Acido 2,4 Diclorofenoxiacético), con prueba de significación de Tukey al 5% para tratamientos.

El porcentaje de formación de callos en función a los explantes por lo que en el explante hojas de la palma africana no presentó formación de callos, mientras que en la palma americana presentó un 0,6 %; el explante inflorescencias en la palma africana tuvo un 8 % y en la palma americana 4,6 %; el explante embriones cigóticos tuvo el mayor porcentaje de formación de callos con un 82 % para la palma africana y 86 % para la palma americana.

Los dos genotipos tuvieron la mejor respuesta con la dosis de 10 mg.l⁻¹ con la hormona Acido, 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4 - D), la formación de callos para la palma africana fue del 18,97 %, mientras que para la palma americana fue 18,53 %.

Palabras clave: Palma africana (*Elaeis guineensis*), palma americana (*Elaeis oleífera*), callos embriogénicos.

ABSTRACT

One of the limitations for crop development is the presence of the disease known as bud rot (PC), this anomaly is reported from the seventies, because of heavy damage in plantations, is why this research by stabilize a protocol intended to induce embryogenic callus explants of oil palm materials resistant and / or tolerant to the PC, to spread rapidly these genotypes massive palm growers providing a genetic solution to this important disease.

In this test for statistical analysis, we used a completely randomized design (DCA) provisions factorial 2 x 2 x 3 (two genotypes of two culture media and three doses of the hormone 2,4 D (Acid 2 4 dichlorophenoxy) with Tukey's test of significance of 5% for treatments.

The rate of callus formation in the explants function so that in the explant sheets african palm had no callus formation, while american palm had a 0,6%; explant inflorescence in african palm had an 8% and 4,6% american palm, explant zygotic embryos had the highest percentage of callus formation with 82% for african palm and 86% for american palm.

Both genotypes had the best response with dose 10 mg.l⁻¹ hormone acid, 2,4 dichlorophenoxyacetic (2,4 - D), callus formation for african palm was 18,97% while for was american palm 18,53%.

Palabras clave: African palm (*Elaeis guineensis*), american palm (*Elaeis oleífera*), embryogenic callus

I. INTRODUCCIÓN

Entre todos los cultivos oleaginosos, la palma de aceite produce los rendimientos más elevados por hectárea, es por eso que han contribuido al desarrollo de una industria mundial que se expande rápidamente (Corley y Tinker, 2009).

El cultivo de palma aceitera inició en 1953 y el INIAP, desde hace más de 40 años ha liberado el Híbrido INIAP – Tenera, una de las limitantes para el desarrollo del cultivo, es la presencia de la enfermedad conocida como Pudrición de Cogollo (PC), esta anomalía se reporta desde los años setenta, causa de fuertes estragos en las plantaciones. Visitas realizadas por técnicos del INIAP en el año 2009 a una plantación de 11 años de edad, en San Lorenzo, observaron el buen comportamiento del híbrido INIAP – Tenera a PC, a pesar que las plantaciones vecinas estaban infectadas, esta plantación se mantenía sin PC, lo que puede interpretarse como una característica de tolerancia del material del INIAP (INIAP, 2011).

Según la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA, 2010), hasta el 2010 existían en Ecuador 248 199 ha de palma aceitera las cuales se cultivan principalmente en las provincias de Esmeraldas con 152 679 ha, Los Ríos con 31 276 ha, Sucumbíos y Orellana con 24 102 ha, Pichincha con 16 871 ha y Santo Domingo con 16 364 ha.

En los últimos 40 años han ocurrido avances en el desarrollo de tecnologías para obtener embriones somáticos de un número cada vez mayor de especies. Tener embriones somáticos disponibles permite destinarlos a programas de mejoramiento o a la propagación a gran escala de genotipos superiores, especialmente en cultivos perennes de alto valor (Parrot, 2002).

Mediante esta investigación se pretende estabilizar un protocolo para inducir callos embriogénicos en explantes de materiales de palma aceitera resistentes y/o tolerantes a la PC, para propagar masiva y rápidamente estos genotipos proveyendo a los palmicultores de una solución genética a esta enfermedad tan importante que en la actualidad causa daños considerables a la zona noroccidental del país.

La investigación fue realizada en el laboratorio de cultivo de tejidos en la Estación Experimental Santo Domingo (EESD), del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el km 38 vía Santo Domingo – Quinindé margen izquierdo.

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la respuesta a la inducción de callos embriogénicos a través de materiales INIAP de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleífera*) con resistencia y/o tolerancia a la Pudrición de Cogollo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar el efecto de tres niveles de concentraciones de 2,4-D (2,4 Ácido Diclorofenoxiacético) aplicados en dos sales basales sobre la inducción de callos embriogénicos en las especies *E. guineensis* cv. *Tenera* y en *E. oleífera*.
- Determinar la capacidad de inducción de callos embriogénicos de tres tipos de explantes, embriones cigóticos, inflorescencias inmaduras y segmentos de hoja en los materiales genéticos.

- Difundir la los resultados relevantes obtenidos en la investigación a los interesados, para su conocimiento mediante la publicación de un artículo científico de la investigación.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El Trabajo experimental se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad de Biotecnología en el área de cultivo de tejidos vegetales de la Estación Experimental Santo Domingo (EESD) del INIAP, ubicada en el km 38 de la vía Santo Domingo – Quinindé, cantón La Concordia, perteneciente a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Geográficamente el INIAP-EESD está situado en las siguientes coordenadas UTM 9997162 Este y 6800433 Norte, en la Figura 1, se presenta el croquis de ubicación de la EESD.

Factores en estudio

Los factores y niveles que se evaluaron fueron: dos genotipos, dos medios de cultivo y tres dosis de hormona.

Tratamientos a comparar

La combinación de los niveles de los factores en estudio determinó la existencia de los tratamientos que se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos para la Inducción de callos embriogénicos

SÍMBOLO	CÓDIGO	TRATAMIENTO
T ₁	G ₁ m ₁ d ₁	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 5 mg l ⁻¹
T ₂	G ₁ m ₁ d ₂	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 10 mg l ⁻¹
T ₃	G ₁ m ₁ d ₃	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 15 mg l ⁻¹
T ₄	G ₁ m ₂ d ₁	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 5 mg l ⁻¹
T ₅	G ₁ m ₂ d ₂	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 10 mg l ⁻¹
T ₆	G ₁ m ₂ d ₃	Planta palma africana (<i>E. guineensis</i> cv. Tenera), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 15 mg l ⁻¹
T ₇	G ₂ m ₁ d ₁	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 5 mg l ⁻¹
T ₈	G ₂ m ₁ d ₂	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 10 mg l ⁻¹
T ₉	G ₂ m ₁ d ₃	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio MS con hormona 2,4 - D en dosis de 15 mg l ⁻¹
T ₁₀	G ₂ m ₂ d ₁	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 5 mg l ⁻¹
T ₁₁	G ₂ m ₂ d ₂	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 10 mg l ⁻¹
T ₁₂	G ₂ m ₂ d ₃	Planta palma americana (<i>E. oleífera</i>), medio N6 con hormona 2,4 - D en dosis de 15 mg l ⁻¹

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de contaminación

Se observó que en la palma africana (*E. guineensis* cv. Tenera) el 18 % tuvo contaminación, mientras que la palma americana (*E. oleífera*) el 14,67 % tuvo contaminación, por lo que el ensayo se encuentra dentro de los parámetros aceptados de contaminación los cuales son del 30 %.

En la Figura 1, se observa el porcentaje de contaminación en función a los explantes por lo que en el explante de hojas el 26,67 % tuvo contaminación de la palma africana; mientras que en la palma americana hubo 13,33 % de contaminación, esta diferencia se debe al material genético ya que las plantas reciben el mismo manejo agronómico y se encuentran en el mismo sitio, el explante de inflorescencias en la palma africana tuvo 19,33 % y la palma americana fue de 18,67 % lo cual es un valor similar entre ellos; el explante de embriones cigóticos presentaron el menor porcentaje de contaminación con un 8 % para la palma africana y un 12 % para la palma americana, por lo que en el caso del explante de hojas e inflorescencias de la palma africana concuerda con Ávila, (2002); el cual tuvo 26,7 % para hojas y 20 % en inflorescencias.

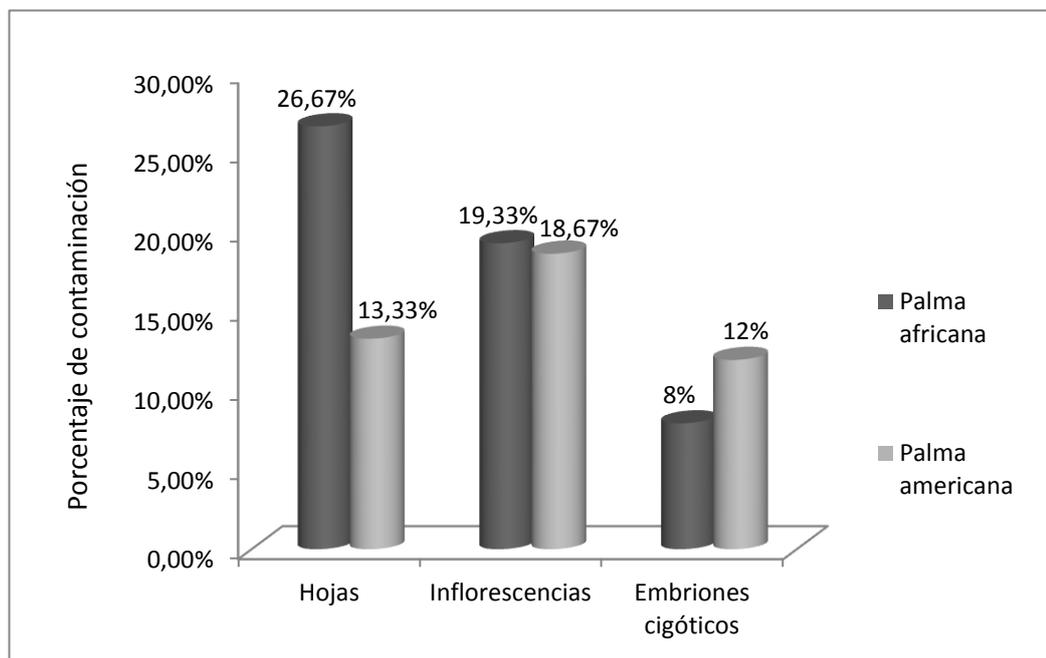


Figura 1. Porcentaje de contaminación en los explantes (hojas, inflorescencias y embriones cigóticos) de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

El alto porcentaje de contaminación en los explantes de hojas se debió a que la contaminación era fúngica los cuales colonizaban fácilmente toda la caja Petri por lo que se perdieron varios explantes, mientras que la baja contaminación en los explantes de embriones cigóticos se debió a que estos tuvieron contaminación bacteriana la cual solo afectaba a un explante sin propagarse a los demás.

Porcentaje de necrosis-oxidación

Se observó que los explantes evaluados de la palma africana (*E. guineensis* cv. Tenera) tuvieron 6,40 % de necrosis-oxidación, mientras que la Palma americana (*E. oleifera*) el 11,30 % presentaron necrosis-oxidación.

En la Figura 2, se observa el porcentaje de necrosis-oxidación en función a los explantes y genotipos por lo que en el explante de hojas perteneciente a la palma africana manifestó un 4,6 % de necrosis-oxidación, mientras que la palma americana presentó un 15,9 %; el explante de inflorescencias de la palma africana tuvo un 8,6 %; mientras que en la palma americana existió un 11,3 %; el explante de embriones cigóticos presentaron el menor porcentaje de necrosis oxidación con un 6 % para la palma africana, mientras que la palma americana se presentó 6,6 %.

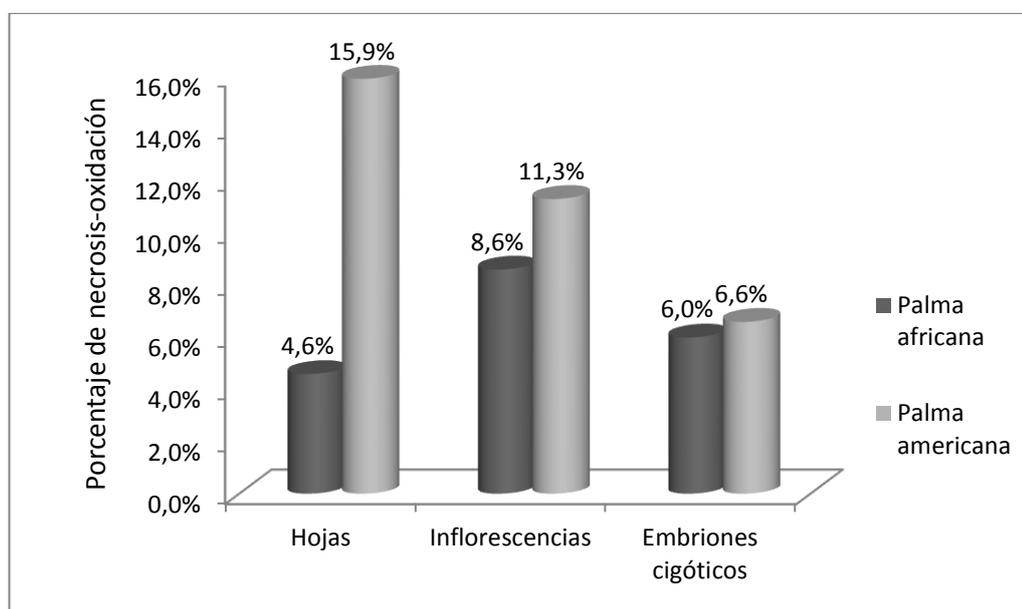


Figura 2. Porcentaje de necrosis-oxidación en los explantes (hojas, inflorescencias y embriones cigóticos) de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

Porcentaje de formación de callos

En la palma africana (*E. guineensis* cv. Tenera) el 30 % de los explantes presentó formación de callos, mientras que en la palma americana (*E. oleifera*) el 30,40 % de los explantes manifestaron formación de callos, lo cual nos indica que el material de la palma americana es más propenso a producir callos que el material de la palma africana.

En la Figura 3, se observa el porcentaje de formación de callos en función a los explantes por lo que en el explante de hojas en la palma africana no tuvo formación de callos, mientras que la palma americana presentó un 0,6 %; el explante de

inflorescencias en la palma africana manifestó un 8 % y la palma americana un 4,6 % de formación de callos; el explante de embriones cigóticos tuvo el mayor porcentaje de formación de callos con un 82 % para la palma africana y un 86 % para la palma americana.

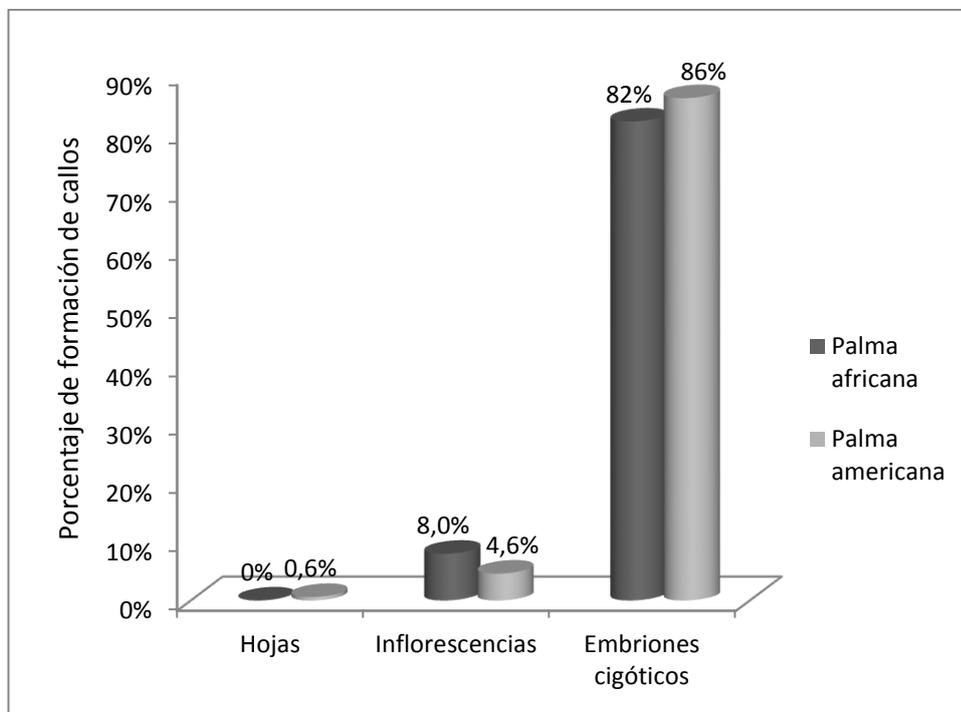


Figura 3. Porcentaje de formación de callos en los los explantes (hojas, inflorescencias y embriones cigóticos) de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

Según Aheé *et al.*,(1981) la producción de callos varía de planta a planta dependiendo de su estado fisiológico y otros factores, entre el 20 % y el 80 % de los explantes producen callo, lo cual en el caso del explante de embriones cigóticos se supera el valor del 80 % con los dos genotipos, mientras que en el explante de hojas e inflorescencias se obtuvieron valores menores al rango del 20 %, los cuales en promedio llegan al 0,3 % y 6,3 % respectivamente.

En otro ensayo Rajanaidu *et al.*,(1997) utilizando explantes de hojas e inflorescencias, obtuvo 9 % en la formación de callos de los explantes de hojas; mientras que en explantes de inflorescencias 8 %, lo cual coincide con el valor que se obtuvo en el genotipo de palma africana que fue del 8 %.

En la Figura 4, se observa el porcentaje de formación de callos en función a los medios y el genotipo, en este caso se muestran los resultados del explante de embriones cigóticos, de los cuales en el medio MS se manifestó 23,70 % de formación de callos para la palma africana y 24,90 % para la palma americana;

mientras que el medio N6 la formación fue del 27,27 % para la palma africana y 24,13 % para la palma americana, lo que al sumar los valores para el medio N6 nos da 51,40 % que concuerda con los resultados obtenidos por Thuzar, *et al.*(2010), que indican al medio N6 mejor que el medio MS.

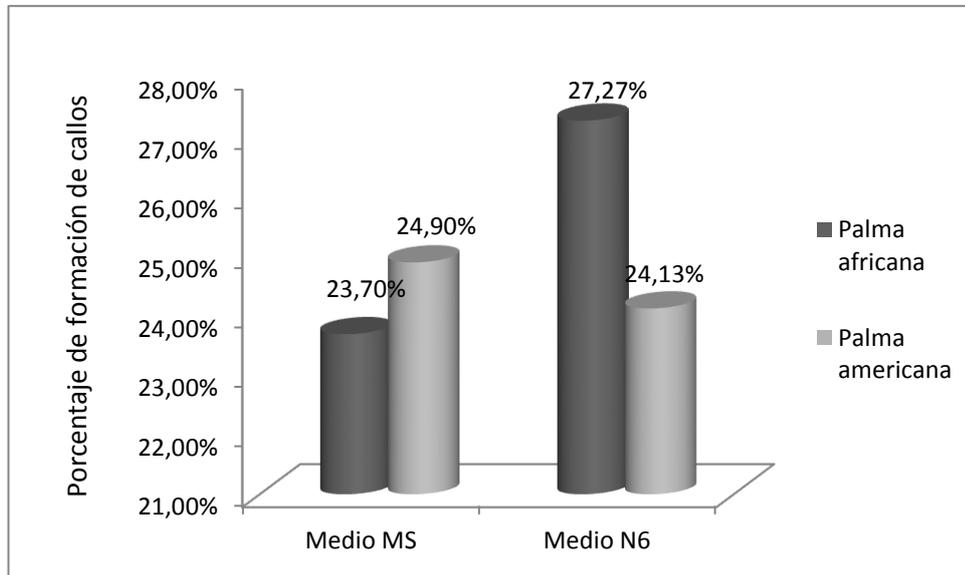


Figura 4. Porcentaje de formación de callos en el explante 3 (embriones cigóticos) en relación a los medios utilizados en la inducción de callos de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleífera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

En la Figura 5, se observa el porcentaje de formación de callos en función al genotipo y la dosis de la hormona Acido, 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4 - D), en este caso se muestra los resultados del explante de embriones cigóticos, del 100 % de los callos formados en la palma africana el 13,80 % fue inducido con la dosis de 5 mg.l⁻¹, el 18,97 % con la dosis de 10 mg.l⁻¹ que se obtuvo la mayor cantidad, mientras que con la dosis de 15 mg.l⁻¹ se obtuvo un 18,18 %; para la palma americana el 14,70 % fue inducido con la dosis de 5 mg.l⁻¹, el 18,53 % con la dosis de 10 mg.l⁻¹ que se obtuvo la mayor cantidad de callos; mientras que con la dosis de 15 mg.l⁻¹ se obtuvo un 15,82 %.

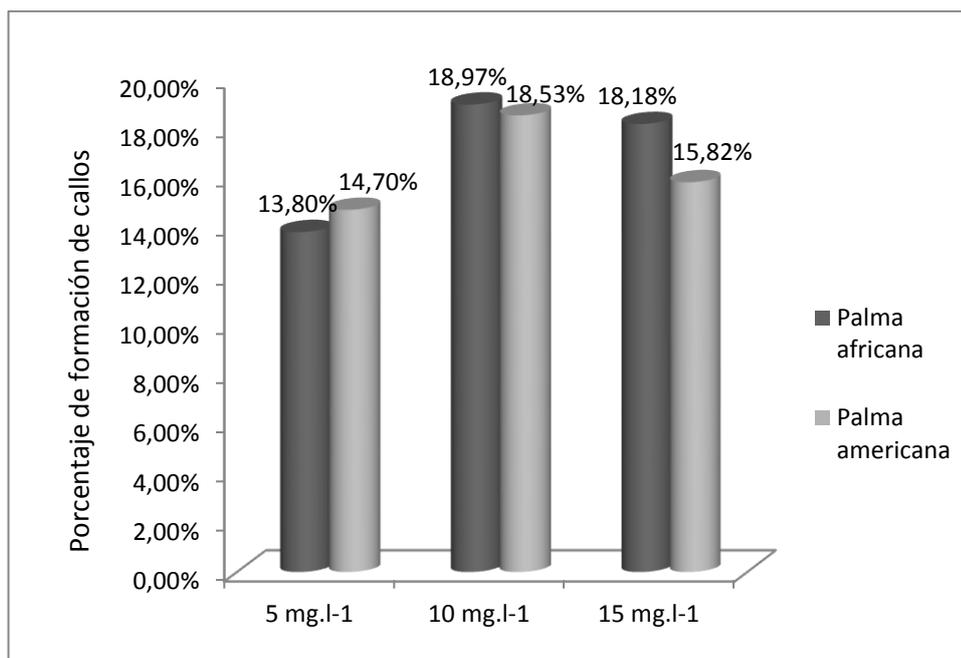


Figura 5 Porcentaje de formación de callos en el explante 3 (embriones cigóticos) en relación a la dosis utilizada de la hormona 2,4-D en la inducción de callos de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

La dosis de 10 mg.l⁻¹ de la hormona 2,4-D presentó la mejor respuesta en la formación de callos lo cual concuerda con Texeira *et al.* (1993) el cual logró la inducción de callos a partir de explante embriones, utilizó concentraciones de 2,4-D que variaron de 1 a 10 mg.l⁻¹, además encontró que esta hormona es imprescindible para la inducción y mantenimiento del crecimiento celular.

Diámetro del callo formado

En el ADEVA (Figura 6) se observa diferencias altamente significativas para Medios y significancia estadística para la interacción Genotipo*Medios*Hormona, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa. Las otras fuentes de variación no son significativas y se acepta la hipótesis nula. El coeficiente de variación de 23,84 % es aceptable.

En la prueba de significación de Tukey al 5 %, se determinó que el medio N6 con una media de 5,61 mm ocupa el rango de significación A, y el medio MS con 4,84 mm ocupa el rango B, en el genotipo palma americana se determinó una media de 5,24 mm con el rango de significación A, y para el genotipo palma africana se determinó una media de 5,19 mm con el rango de significación B; mientras que para la dosis de 5 mg.l⁻¹ la media es de 5,46 mm que ocupa el rango de significación A y el último rango C la dosis de 15 mg.l⁻¹ con una media de 5,00 mm. Para la interacción G*M*D, existen cuatro rangos el primero el T10 con una media de 6,21

mm, el segundo rango el T6 y T4, el tercer rango T11, T5, T2, T7, T8, T9, T12 y T1; el cuarto y último rango la interacción M1*G1*D3 (T3) con una media de 4,32 mm.

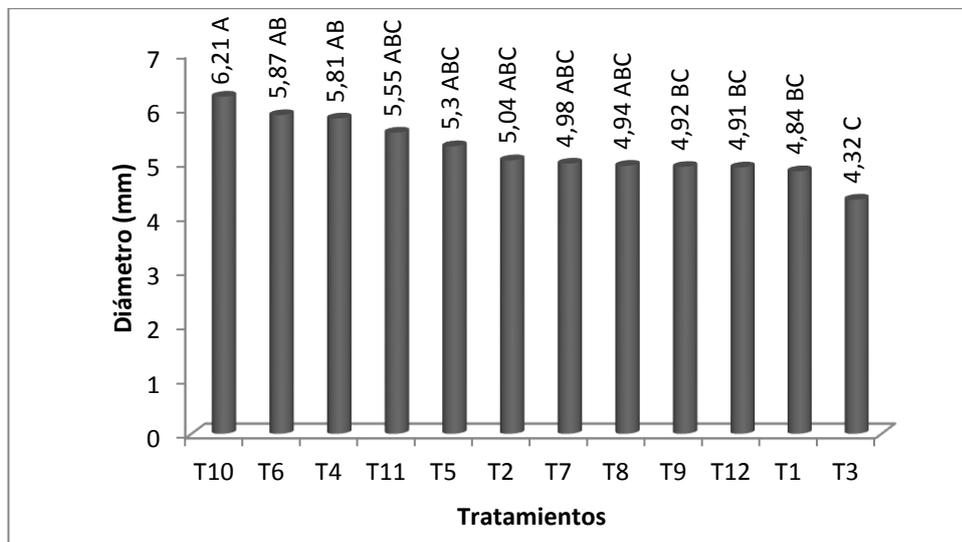


Figura 6. Prueba de Tukey al 5% para medios y la interacción M*G*D en la inducción de callos embriogénicos en explantes INIAP de Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

Color del callo formado

En la Figura 7 se observa el color del callo formado que en la palma africana el 2,30 % es de color amarillo oscuro, el 10,10 % amarillo verdoso, el 44,20 % cremoso y el 43,40 % amarillo, mientras que en la palma americana (*E. oleifera*) el 6,50 % es amarillo verdoso, el 38,70 % cremoso y el 54,80 % amarillo (Anexo 8).

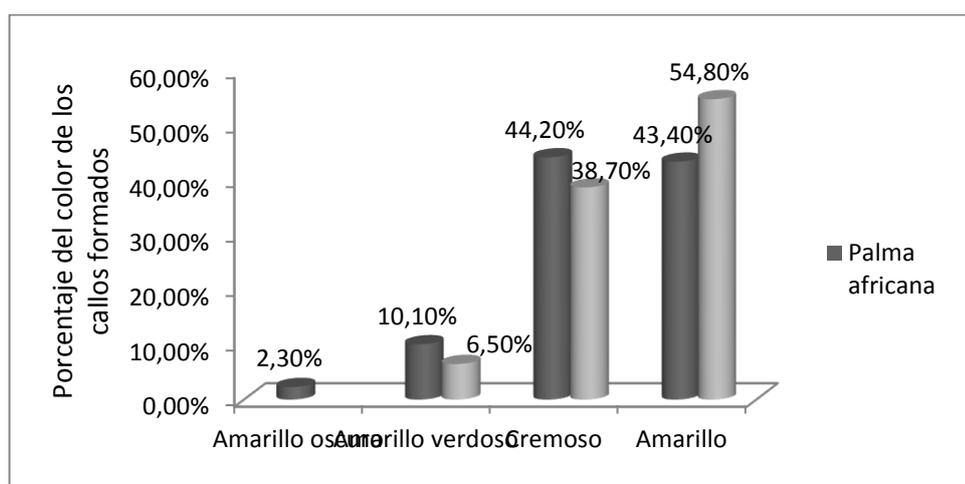


Figura 7. Color de los callos formados en los genotipos Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleifera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

En un ensayo realizado por Ibáñez (1992), los callos de color crema, luego convertidos en embriones tuvieron una buena germinación y desarrollaron plántulas normales, mientras que los callos amarillos murieron por senescencia u oxidación; en esta investigación se obtuvo valores aceptables de callos cremosos como es el caso de 44,20 % para palma africana y 38,70 % para palma americana.

En la Figura 8 se observa el color del callo formado en función a la dosis de la hormona Acido, 2,4 Diclorofenoxiacético; con la dosis de 5 mg.l⁻¹ se obtuvo 1,40 % de color amarillo oscuro; 1,40 % de amarillo verdoso; 36,10 % de cremoso y 61,10 % de amarillo; con la dosis de 10 mg.l⁻¹ se encontró 2,10 % de color amarillo oscuro; 6,30 % de amarillo verdoso; 45,30 % de cremoso y 46,30 % de amarillo; con la dosis de 15 mg.l⁻¹ se obtuvo 16,30 % de amarillo verdoso; 41,90 % de cremoso y 41,90 % de amarillo.

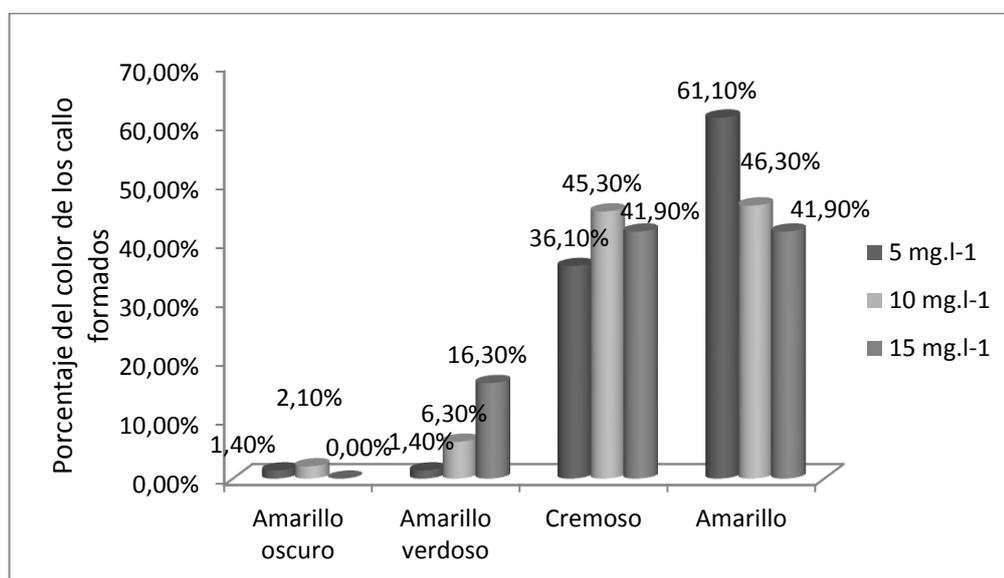


Figura 8. Color de los callos formados en función a la dosis de la hormona Acido, 2,4 Diclorofenoxiacético en la inducción de callos en la Palma Africana (*Elaeis guineensis*) y Palma Americana (*Elaeis oleífera*) con resistencia y/o tolerancia a la pudrición de cogollo. INIAP EESD – La Concordia, 2012.

Forma del callo

Los callos formados a partir de los embriones cigóticos presentaron una forma globular, igual a lo observado por Ibáñez (1992), todos los tratamientos mostraron la misma respuesta, siendo homogéneos los resultados en esta variable.

Consistencia del callo

La consistencia de los callos formados fue friable lo cual significa que se desprenden con facilidad del tejido madre y al ser cambiados de medio germinaran

como manifiesta Thuzar *et al.*(2010), la característica que presentaron los callos de ser friables fue general para todos los tratamientos evaluados lo cual concuerda con Ibáñez (1992) que obtuvo callos de apariencia friable.

IV. CONCLUSIONES

- Mediante esta investigación se logró obtener una respuesta favorable por parte de los materiales INIAP resistentes y/o tolerantes a la pudrición de cogollo ya que en la palma africana (*Elaeis guineensis*) un 30,0 % de los explantes presentó formación de callos, mientras que en la palma americana (*Elaeis oleífera*) el 30,40 % de los explantes tuvo formación de callos.
- La formación de callos en la palma africana fue mejor con el medio N6 resultando el 27,27 % con respuesta positiva, mientras que en la palma americana la mejor respuesta se dio en el medio MS con el cual se obtuvo un 24,90 % de formación de callos.
- Los dos genotipos tanto la palma americana como la palma africana presentaron mejor respuesta de formación de callos con la dosis de 10 mg.l⁻¹ de la hormona Acido, 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4 - D), por lo que en la palma americana se obtuvo 18,97 %, mientras que en la palma americana fue 18,53 %.
- El mayor porcentaje de callos formados se manifestó en los embriones cigóticos el cual fue del 86 %, mientras que en los explantes de hojas e inflorescencias fue bajo del 0,6 % y 4,60 % respectivamente para la palma americana; mientras que en la palma africana se obtuvo 82 % para los embriones cigóticos; 8 % para las inflorescencias y en las hojas no hubo respuesta en la formación de callos.
- Los explantes hojas en su mayoría tuvieron contaminación fúngica la cuál afectaba al resto de los explantes contenidos en la caja Petri, mientras que los explantes inflorescencias y embriones cigóticos tuvieron contaminación bacteriana la cual no afectaba al resto de los explantes contenidos en la caja Petri, pero en general los niveles de contaminación en este ensayo fueron del 15,85 % los cuales están muy por debajo del límite que es el 30 %.
- Económicamente los tratamientos que requieren menor inversión fueron los que se encontraban en medio 1 (Murashige y Skoog), con la dosis 1 de la hormona 2,4-D (5 mg.l⁻¹).

V. RECOMENDACIONES

- Enfocar nuevos estudios en la inducción de callos embriogénicos con los explantes embriones cigóticos ya que estos presentaron una mejor respuesta a la formación de callos.
- Se debe continuar con la investigación en la evaluación de los callos obtenidos, para que continúen con las distintas fases de: germinación, multiplicación, enraizamiento, aclimatación.
- Al momento de utilizar los embriones cigóticos de la palma americana como explantes es recomendable que pasen por el tratamiento de la semilla comercial para evitar contaminación y daño del embrión.

VI. AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santo Domingo, por darme la oportunidad de llevar a cabo esta investigación.

A la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT.

A la Escuela Politécnica del Ejército, Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuaria, a su personal Docente por su gran virtud de impartir conocimientos valiosos.

Al Ing. Jorge Orellana, Director de la Estación Experimental Santo Domingo del INIAP, por permitirme realizar este trabajo de tesis en tan prestigiosa institución.

A los Ing. Leonardo Quintero, Mercedes Navarrete, Jacqueline Benítez y Dr. Walter Reyes, por su valiosa colaboración en la preparación, desarrollo y culminación de este proyecto.

A mi Directora del proyecto de investigación Blga. Venus Arévalo, Codirector Ing. Armando Tumbaco y Biometrista Ing. Vinicio Uday, por su apoyo, esfuerzo, dedicación y acertadas recomendaciones para el desarrollo de esta investigación.

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

Ahée, J.; Arthuis, P.; Cas, G.; Duval, Y.; Guénin, G.; Hanower, J.; Hanower, P.; Lievoux, D.; Lioret, C.; Malaurie, B.; Pannetier, C.; Raillot, D.; Varechon, C. y Zuckerman, L. 1981. La multiplication végétative *in vitro* du palmier à huile par embryogenèse somatique. Consultado 5 may. 2012. Disponible en: http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/b_fdi_02-03/01379.pdf

- ANCUPA (Asociación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite, EC). 2010. Estadísticas. Superficie de Palma de Aceite Nacional. Consultado 3 may. 2012. Disponible en: http://www.ancupa.com/index.php?option=com_content&view=article&id=32&Itemid=75
- Ávila, R. 2002. “Elaboración de un proceso de esterilización superficial de explantes de inflorescencias y hojas jóvenes en el establecimiento *in vitro* de Palma Africana (*Elaeis guineensis*)”. Tesis. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Universidad Zamorano. Honduras. Consultado 15 may. 2012. Disponible en: <http://www.zamorano.edu/?s=tesis>
- Corley, R.; Tinker, P. 2009. La palma de aceite. World Agriculture Series. Cuarta Edición.
- INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, EC). 2011. INIAP Revista Informativa. Edición No 5. p.16 – 17. Diciembre 2011.
- Ibáñez, D. 1992. Propagación in vitro de palma africana. Tesis para obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana. Abril, 1992.
- Parrot, W. 2002. La Embriogénesis Somática en las Angiospermas. Department of Crop & Soil Sciences The University of Georgia Athens, USA. VI International Symposium on Plant. p. 7-13
- Rajanaidu, N.;Roha Ni,O.;Jalani, B. 1997. Clones de Palma de aceite. Estado actual y perpestivas para producción comercial. Palm Oil Research Institute of Malasya. Selangar Daral Elhsan. Malasya. p. 163-184
- Texeira, J. B.; Sondahl, M. R.; Kirby, E. G. 1993. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 34: 227-233.
- Thuzar, M.; Vanavichit, A.; Tragoonrung, S.; Jantasuriyarat, C. 2010. Efficient and rapid plant regeneration of oil palm zygotic embryos cv. 'Tenera' through somatic embryogenesis. Cracovia. Franciszek Górski Instituto de Fisiología Vegetal de la Academia Polaca de Ciencias. Consultado 25 may. 2012. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/66751h741167875g/>