



Universidad de Matanzas

Facultad de Ciencias Agropecuarias



Tesis presentada en opción al título de Ingeniero  
Agrónomo



Título: Evaluación de plántulas micropropagadas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) procedentes de una nueva accesión (Subinerme), durante la fase de vivero.

Autora: Mairim Sulami Vázquez Pargas

Tutor: Dr.C. Enildo O. Abreu Cruz

2018

*El Agrónomo produce más que maíz, más que  
carne, produce futuro.*

?

## **DECLARACIÓN DE AUTORIDAD**

Declaro que yo, Mairim Sulami Vázquez Pargas soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

---

Firma

## **DEDICATORIA**

A mi madre Yanelis Pargas, por tanto amor, por contar siempre con su apoyo incondicional y haberme sabido guiar por el mejor camino, gracias a ti he llegado a donde estoy.

A mi padre Omar Vázquez por haber sido un ejemplo a seguir de superación y entrega a los estudios y porque sé que te hubiese hecho sentir muy orgulloso al verme llegar aquí.

A mi esposo Carlos Castellanos por su entrega, apoyo, paciencia y amor, gracias por haber estado a mi lado en todo momento.

A mi abuelo Ortelio Pargas quien siempre me inculcó el amor al estudio y los beneficios de la sabiduría.

A mi hermana Daniela Brand por amarme tanto y verme como un ejemplo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi país por haberme brindado la oportunidad de estudiar y formarme como una profesional.

A mi querido tutor Enildo Abreu por todo su apoyo y dedicación, sin usted no lo hubiese logrado.

A todos los profesores de la carrera que de una manera u otra hicieron que fuera posible.

A mis compañeros de grupo en especial a Yarina, Leyanet, Betsy y Lorena por haberme hecho tan agradable y especial la trayectoria.

A todos mis amigos que me apoyaron tanto y me hicieron más fácil el día a día.

## **OPINIÓN DEL TUTOR**

En los momentos actuales la producción de henequén transita por un periodo de crisis por diferentes situaciones coyunturales de índole económica. Siendo este cultivo una planta emblemática de la provincia de Matanzas con innumerables aplicaciones para la industria textil y farmacéutica. Por todo ello el imperativo de la recuperación henequenera en la provincia conlleva a mayores esfuerzos, con un mayor empleo de los avances científicos y técnicos dirigidos a mitigar en alguna medida la situación actual de esta industria. De aquí la importancia, actualidad y valor práctico del trabajo que se presenta, el cual va dirigido a validar la respuesta en condiciones de vivero, plántulas micropropagadas de una nueva accesión de este cultivo (accesión Subinerme) con potencialidades promisoras para su establecimiento en las áreas productivas.

Es de importancia destacar que la estudiante Mairim Sulami Vázquez Pargas ha demostrado a lo largo del desarrollo de este trabajo, poseer todas las habilidades necesarias para afrontar una investigación de esta índole, asegurando un dominio pleno de la temática estudiada.

Considero que el trabajo realizado, así como la calidad del documento presentado, los resultados obtenidos y todo lo expuesto en la tesis que se defiende, son merecedores del otorgamiento del Título de Ingeniera Agrónoma con la máxima calificación.

Tutor

---

Dr.C. Enildo Osmani Abreu Cruz

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el comportamiento de plántulas micropropagadas de henequén de la accesión Subinerme durante la fase de vivero. La investigación se desarrolló en el vivero de la Unidad Empresarial de Base (UEB) "Eladio Hernández", perteneciente a la Empresa Henequenera nacional, ubicada en la comunidad "La Conchita". En los estudios se utilizaron plántulas de la accesión Subinerme, procedentes de la fase de previvero, a las que se le determinó, a partir de una selección aleatoria la talla (Tamaño), el número de hojas, el peso fresco, el peso seco, el grosor del tallo y el número de raíces. Como testigo se utilizaron posturas de rizomas recolectadas de las plantaciones comerciales, de la variedad Sac Ki o henequén blanco que mostraban un adecuado vigor vegetativo y la mayor uniformidad posible en cuanto a su tamaño, número de hojas y grosor del tallo, entre ellas y en comparación con las plántulas de la accesión Subierme. El experimento se desarrolló sobre suelo Ferralítico rojo poco profundo, rocoso. Se utilizó un diseño experimental totalmente aleatorizado con dos tratamientos (variantes), establecidos de la siguiente forma; Tratamiento 1: control (plántulas procedentes de rizoma, variedad Sac ki) y tratamiento 2: plántulas micropropagadas, accesión Subinerme), las unidades experimentales se conformaron de 25 plantas, tres repeticiones para cada tratamiento (6 unidades experimentales totales). A los 60 días se evaluó la supervivencia y luego se hicieron tres mediciones hasta completar 196 días (6,5 meses) para evaluar los indicadores morfológicos y fisiológicos. De manera general las plantas de la accesión Subinerme mostraron un rendimiento biológico superior a las plantas procedentes de la vía tradicional de propagación (hijos de rizomas) en la etapa de vivero.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General .....	3
Objetivos específicos.....	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Generalidades de las Agaváceas .....	5
2.1.1. Importancia económica del género Agave.....	5
2.2. Generalidades del Henequén ( <i>Agave fourcroydes</i> Lem.).....	7
2.2.1. Descripción Botánica del Henequén ( <i>Agave fourcroydes</i> Lem.) .....	7
2.2.2. Diversidad genética del <i>Agave fourcroydes</i> Lem .....	9
2.2.3. Características de la accesión Subinerme .....	11
2.3. Propagación del henequén .....	12
2.3.1. Micropropagación por cultivo <i>invitro</i> de tejidos.....	14
2.3.2. Etapa de previvero .....	15
2.4. Etapa de vivero.....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1. Material vegetal .....	18
3.2. Área y diseño experimental .....	19
3.3. Indicadores evaluados.....	20
3.4. Valoración económica .....	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	24
4.1. Supervivencia de las plántulas .....	24
4.2. Respuesta de las plantas de acuerdo con los indicadores morfológicos y fisiológicos.....	25
4.3. Indicadores anatómicos .....	36
4.4. Valoración económica .....	40
V. CONCLUSIONES. ....	42
VI. RECOMENDACIONES.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44

## I. INTRODUCCIÓN.

El henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) es una especie que se ubica dentro del género *Agave*, y que al igual que otros representantes de este género, es un pentaploide ( $n = 30$ ) con reducida fertilidad natural y escasa reproducción sexual, por lo que su vía fundamental de propagación es vegetativa. Ha sido una planta ampliamente utilizada por el hombre por ser altamente productora de fibras larga y de sustancias con interés industrial, lo que hace que algunos autores la consideren como un cultivo de aprovechamiento integral (Otero, 2000; González, 2001). Dentro de sus principales usos se destacan la fabricación de hilos agrícolas, cordeles, telas, sacos y jarcias, entre otros; a los que se les añade además las potencialidades del jugo, la pulpa y la fibrilla.

En Cuba el cultivo del henequén se desarrolló favorablemente desde su introducción a mediados del siglo XIX, lo que conllevó a su industrialización y la comercialización de las fibras en el mercado internacional. Sin embargo, desde principios de la década de los 90 del pasado siglo, experimentó un descenso significativo debido al deterioro de las plantaciones, agotamiento de la fertilidad del suelo, mal manejo de la cosecha que afecta la vida útil de las plantas, la alta incidencia de las malezas y por problemas industriales entre otros (Vincent, Torres y Rabelo, 1998), citados por Garriga *et al.* (2010); Sosa (2011); Sankoumba (2014) y Yanes (2015).

A pesar de los esfuerzos realizados por el Ministerio de la Agricultura en Cuba para la recuperación de la industria henequenera, las estrategias propuestas no han dado los resultados esperados, pues la falta de posturas no ha permitido cumplir con los planes de siembra, ni establecer plantaciones con la calidad requerida.

En las condiciones de Matanzas, actualmente se presenta un elevado grado de deterioro de las plantaciones, una disminución gradual de los campos cultivados y carencia de las posturas de calidad, a lo que se suma el creciente peligro de la pérdida de la sostenibilidad de la producción henequenera debido al uso de solo una variedad de henequén, conocida como Sac ki o henequén blanco. Criterios

que también fueron informados por Abreu (2009), Sankoumba (2014) y Yanes (2015).

Inicialmente la propagación de este cultivo se realizaba a través de los hijos basales o del rizoma, con posterioridad se incorporó la propagación por bulbillos producidos por la inflorescencia y en los últimos años se han desarrollado tecnologías para la propagación a escala de laboratorio (González, 2001; Abreu, 2009; Sankoumba, 2014), que ha constituido una vía alternativa de propagación, que favorece la obtención de mayor cantidad de posturas en menor tiempo y de mejor calidad, que al ser llevadas a campo en igualdad de condiciones contribuirán al desarrollo de plantaciones homogéneas, indispensables para las labores culturales y la cosecha de las hojas en su etapa óptima.

En cualquiera de estas vías la fase de vivero es una etapa fundamental en la propagación de este cultivo. La estancia de las posturas en estas condiciones es necesaria para que en un ambiente más favorable para ellas, puedan alcanzar en el menor tiempo posible y de manera uniforme el patrón de calidad establecido por los productores para pasar a plantación definitiva (MINAG, 2012).

En este contexto aparece la accesión Subinerme, donada por el banco de germoplasmas del Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova”, con algunas características que la hacen atractivas para su explotación agrícola, como es un reducido número de espinas en el limbo de sus hojas, lo que puede facilitar las labores de cosecha. Con el propósito de evaluar su respuesta a la micropropagación por vía biotecnológica, Sankoumba (2014) evaluó su comportamiento en la fase *in vitro*, con muy buenos resultados, y Yanes (2015) y Fontes (2017) evaluaron su respuesta a las condiciones *ex vitro* (Aclimatización y pre vivero), también con resultados satisfactorios, pero para esta fase todavía las condiciones son semicontroladas y hay una mayor atención a las plántulas, sin embargo su respuesta en las condiciones de campo, en el vivero tradicional de acuerdo con la tecnología del cultivo, que son un poco más agresiva para estas plántulas, aún no ha sido evaluada.

Es por ello que se propone el siguiente **problema científico** en la investigación que se presenta:

La necesidad de evaluar el desarrollo biológico de plántulas micropropagadas de henequén de la accesión Subinerme en condiciones de vivero tradicional para validar su respuesta de acuerdo con el comportamiento normal de la especie en esta etapa.

Para darle respuesta al problema planteado se propone la siguiente **hipótesis** de trabajo:

Con la evaluación de indicadores anatomorfológicos y fisiológicos de los cultivos en las plántulas micropropagadas de henequén, accesión Subinerme durante la fase de vivero, se podrán establecer criterios para validar su respuesta de acuerdo con el comportamiento normal de la especie en esta etapa del desarrollo.

#### Objetivo General

- ✓ Evaluar el comportamiento de plántulas micropropagadas de henequén de la accesión Subinerme durante la fase de vivero.

#### Objetivos específicos

- ✓ Evaluar la supervivencia de las plántulas durante su establecimiento en la fase de vivero.

- ✓ Caracterizar las plántulas de las accesiones Subinerme durante la fase de vivero tradicional a partir de algunos indicadores anatomorfológicos y fisiológicos.
- ✓ Determinar el tiempo de permanencia en esta etapa para alcanzar el patrón de calidad de acuerdo con las exigencias fitotécnicas del cultivo.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1. Generalidades de las Agaváceas

El género *Agave* pertenece a la familia de las *Agaváceas* y comprende numerosas especies originarias de las zonas desérticas de América (elicriso, 2013). De hecho, hay cerca de 200 especies, pero están mayormente en el centro y norte de México (Info Rural, 2013). México es el centro de origen de la familia Agavácea, a la cual pertenecen ocho géneros, entre ellos el género *Agave*. De las 273 especies descritas de esta familia que se distribuye en el continente americano desde Dakota del Norte, EUA, hasta Bolivia y Paraguay, en México se encuentra la mayor diversidad con 205 especies, de las cuales 151 son endémicas (Buenas tareas, 2011).

*Agave* quiere decir, en griego, distinguido, admirable o noble. El nombre científico de agave fue puesto por Carlos Linneo en 1753, quien inventó el sistema para nombrar científicamente a las plantas. Es por eso que este nombre, agave, es patrimonio científico de la humanidad (Info Rural, 2013). Los agaves son rosetas perennes que requieren de muchos años para crecer y florecer. Mientras van creciendo van acumulando recursos por un periodo que puede variar entre 8 y 20 años dependiendo de la especie, después del cual desarrollan una inflorescencia terminal o escapo. La mayor parte de las plantas son monocárpicas, es decir que florecen una sola vez en su vida y después de la floración y la maduración de los frutos mueren (elicriso, 2013). Las plantas que florecen repetidamente son rosetas policárpicas.

#### 2.1.1. Importancia económica del género *Agave*

Desde la época prehispánica los agaves han sido usados por los seres humanos y continúan siendo ampliamente utilizados como fuentes de alimento, bebidas, materiales de construcción y medicinas naturales (Arizaga y Escurra, 2002). También se sabe que se utilizan para producir esteroides, productos para cosmetología, fibras como el henequén, combustible y jabón (Piven, *et al.*, 2002). Gentry (1982) afirma que el cultivo de diferentes especies de *Agave* para la producción de pulque se desarrolló con las civilizaciones mesoamericanas. Un

desarrollo más reciente, especialmente en los últimos dos siglos, es la producción de licor destilado como el mezcal y el tequila, considerándolas un grupo de plantas de amplia utilización. Otros autores como Carrion (1988); Robert *et al.* (1992) y González *et al.* (2004) plantean que el uso de los *Agaves* es amplio, incluyendo la preservación del paisaje y la erosión del suelo, pero su mayor importancia económica recae sobre sus fibras, principal producto extraído de las hojas del henequén, y el de mayor utilidad en la industria textil, utilizadas tanto en México como en Cuba, en la fabricación de sogas, jarcias, cordeles y otros productos. Además, sus fibras se emplean para la elaboración de hamacas, cuerdas, calabotes, sacos, cestos, alfombras, bolsas y prendas de vestir; y la planta viva para formar cercas de protección alrededor de las casas.

Se le considera como una planta medicinal, ya que el jugo de las hojas sirve como antiséptico para curar heridas. También de su jugo se extrae la saponina o jabón vegetal. El bagazo que se obtiene del raspado de las hojas se emplea como forraje para el ganado cuando está verde y cuando está seco se utiliza como abono para los cultivos (García y Serrano, 2012 y Rodríguez, 2016).

El henequén tiene efectos conservacionistas y no compite con otros cultivos por clases preferenciales de suelo, en los primeros años de su implantación permite el asocio con otros cultivos como maíz, frijol y sorgo, además protege los suelos de la erosión y embellece los cerros de la zona con sus surcos bien formados (Miranda *et al.*, 2007) citado por Fontes (2017).

Como suplemento alimentario en gallinas, para reducir el nivel de colesterol en los huevos y rebajar el olor a estiércol, en la alimentación del ganado se utiliza la pulpa procedente del desfibrado que proporciona al ganado hasta un 85% de materia seca en cada ración. Extracción de ceras para uso industrial. La cutícula de la hoja tiene hasta un 0.75 % de ceras en base a peso seco (Guerra *et al.*, 2008) citado por Fontes (2017). Este cultivo ha establecido en la cultura agrícola cubana, hábitos y tradiciones que aportan muchos elementos valiosos, pero que en muchos casos no están ajustados productivamente a las condiciones socioculturales de estos tiempos, siendo necesario enriquecer el cultivo con

mejores plantaciones, más estables y mejor calidad de hojas para fibras (Castillo, 2009) citado por Fontes (2017) y Terry *et al.* (2015).

Por todo lo anterior, la recuperación henequenera en Cuba se ha convertido en un imperativo pues el incremento no satisfecho de la demanda de fibra vegetal en la agricultura obliga a la importación de grandes volúmenes de este producto, lo cual debe ser minimizado.

## 2.2. Generalidades del Henequén (*Agave fourcroydes* Lem.)

El henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) también nombrado *Ki* por los nativos mexicanos, es una planta monocotiledónea, taxonómicamente se encuentra ubicada dentro del género de los agaves, perteneciente a la familia de las *Agaváceas*. Es originario de Yucatán (Imagen Agropecuaria, 2016) y se considera que su ancestro genético se encuentra relacionado con la especie *Agave angustifolia*. Las diferencias entre estas dos especies pueden estar relacionadas con el aislamiento durante el periodo de domesticación realizado por los mayas en la época prehispánica. (UNIÓN, 2014).

El henequén se ganó el nombre de “Oro verde” en la península de Yucatán antes de trasladarse al mundo pues este es un cultivo muy resistente, que no requiere gran atención cultural, por lo que su producción no es costosa, a lo que se le suma la ventaja de poder ser aprovechada integralmente debido a sus múltiples usos. Además de su explotación en la Península de Yucatán, el henequén comenzó a ser cultivado en múltiples regiones al ser introducido exitosamente en Tamaulipas y Veracruz, también en algunos países como Cuba, Estados Unidos (Florida), Israel, Brasil y otros del continente africano como Tanzania y Kenia. (Financiera rural, 2011).

### 2.2.1. Descripción Botánica del Henequén (*Agave fourcroydes* Lem.)

Diferentes autores (González y Abreu, 2009; Buenas tareas, 2011; García y Serrano, 2012 y Terry *et al.*, 2015), lo describen de la siguiente manera:

**Raíces:** El henequén como planta monocotiledónea concuerda con otras de esta clase al poseer un sistema radicular fibroso desparramado, formando penachos

sin raíz principal que se encuentra entre los 30-40 cm de profundidad.

**Rizomas:** Los rizomas son tallos subterráneos, carnosos y blancos que brotan de la base de la planta, variando en grosor y longitud, poseen numerosas hojas escamosas pequeñas que protegen los brotes que posteriormente producirán retoños. El brote terminal del rizoma da lugar aproximadamente después de un año a un retoño el que forma raíces adventicias, pudiendo así independizarse de la planta madre.

**Tallo:** El tronco o tallo del henequén alcanza una altura de 1,30 m, su diámetro es de 20 cm en el momento en que la planta está lista para su explotación (4-5 años de edad), período a partir del cual el diámetro no aumenta más, ocurriendo solamente el crecimiento en su parte inferior. El tallo constituye el eje de la planta donde se insertan las hojas y es un órgano donde hay una gran acumulación de sustancias de reserva.

**Hojas:** Las hojas del henequén tienen una forma de roseta, generalmente fuerte, carnosa y perenne, con los bordes dentados y el ápice terminado en una aguda espina. Además son sésiles, largas y carnosas, un poco estrechas cerca de la inserción y acanaladas; forman con el tallo un ángulo cada vez más cubierto a medida que son más inferiores.

**Inflorescencia:** Es en racimo, cuyas flores se agrupan sobre un escapo que sale del centro de la planta; el perianto es simple y sepaloide, formado por seis lacinias arregladas regularmente en dos verticilos trímeros, alternando con seis estambres opuestos a las lacinias del perianto e insertadas en su base, con anteras biloculadas, terminado en un estigma simple; ovario ínfero de tres lóculos, el fruto es una cápsula polisperma de dehiscencia loculicida. La floración del henequén tiene lugar después de los 6 a 10 y hasta 20 a 25 años, según la especie y el país donde se desarrolle. Lo más común es observar que el henequén emite el escapo floral al final de su ciclo vegetativo, esta etapa se observa cuando las hojas más jóvenes forman una roseta apretada y estas son estrechas y afiladas y se van cortando a medida que

comienza a emerger en el centro de la planta dicho escapo floral, el tallo floral puede alcanzar hasta 8 m.

La polinización ocurre cuando los estambres vierten su polen 2 o 3 días antes que el estilo se alargue completamente y su estigma haya producido un exudado pegajoso, para más tarde volverse receptivo. No obstante al hecho que su escapo floral puede ser reconocido más fácilmente por los polinizadores por la altura que alcanza, la producción de frutos es baja (entre 6 y 20%), sugiriendo limitación en la fecundidad por polinizadores.

**Bulbillos:** Los bulbillos son pequeños brotes protegidos por brácteas. Cada bulbillo es una plántula que posee de 6 - 8 hojas reducidas con un sistema radicular rudimentario, un escape floral puede producir hasta 1 500 bulbillos según el Instructivo Técnico del cultivo. Cuando en la reproducción se utilizan posturas provienen de los bulbillos (MINAG, 2012). Debajo del pedúnculo floral se localizan yemas que, al abortar la flor, dan origen a pequeñas plantas completas de origen asexual, denominadas bulbillos. En condiciones óptimas se producen entre 800 y 900 bulbillos por varejón. Por razones relacionadas con la práctica tradicional del cultivo del henequén, estos bulbillos no son empleados como material de siembra.

**Fruto y semilla:** En forma de cápsula carnosa de color verde que al madurar ennegrece, dentro de este fruto aparecen las semillas en número de 100 -150, las cuales presentan apariencia papirácea, de forma triangular y de color negro.

#### 2.2.2. Diversidad genética del *Agave fourcroydes* Lem

A la llegada de los colonizadores a América, no se tenía conocimiento sobre la diversidad genética de este cultivo y no es hasta 1814-1914, período en el que se produjo una plantación intensiva del henequén, que aparecen referencias de su diversidad en las que se menciona el cultivo de siete variedades de la especie salvaje: Yax Ki, Sac ki, Chucum Ki, Bab Ki, Kitan Ki, Xtuk Ki y Xix Ki (según la clasificación maya) Colunga (1996).

Una exploración etnobotánica efectuada entre 1985 y 1987, en varias localidades del estado mexicano de Yucatán (Colunga, 1996) indicó que la diversidad del

henequén había decrecido dramáticamente desde los inicios del siglo XX, donde sólo tres de las siete variedades descritas previamente se encontraron (Colunga y May Pat, 1997), siendo la Sac Ki o henequén blanco la predominante, especie extendida a todas las áreas henequeneras de Cuba.

La península de Yucatán es su centro de origen y diversidad, fuera de ella solo se ha cultivado con éxito en algunas regiones de Tamaulipas y en Cuba a partir de germoplasma yucateco.

En Cuba, el henequén que se cultiva se introdujo de México alrededor de 1850, existiendo reportes de que además del *A. fourcroydes* se introdujeron entre otras especies *A. letonae*; *A. decipiens*; *A. mayana* (Carrión, 1988), lo que sugiere la posibilidad de encontrar variabilidad dentro de las plantaciones de henequén, hecho que permitirá establecer con mayor éxito un programa de mejoramiento genético basado en una selección continua y propagación de individuos con características distintivas.

El proceso de fitomejoramiento por cruzamientos controlados es muy difícil de efectuar en especies con un ciclo de vida largo y una ineficiente reproducción sexual (Colunga, 1998) como es el caso del henequén. Esta es una especie que produce entre 15 y 20 hijuelos durante su ciclo de vida (Peña *et al.*, 1997) lo que permite disponer de suficiente material para mantener las poblaciones, sin embargo, esto no es suficiente para establecer un programa de selección y mejoramiento (Eastmond *et al.*, 2000).

La variabilidad genética de los agaves ha sido poco estudiada (Colunga, 1996) y la variación preexistente dentro de las plantaciones es totalmente desconocida, por lo que se carece de criterios de selección, aunque estudios recientes evidencian la existencia de variabilidad en plantas propagadas por la vía tradicional (González *et al.*, 2003).

Por una parte, es importante generar líneas clonales genéticamente estables; pero por la otra, la aparente reducción de la diversidad genética del henequén llevada al extremo por el favorecimiento de una sola variante a través de la propagación vegetativa debe ser analizada.

Por ello, el análisis de la variación genética dentro de las plantaciones naturales y micropropagadas de henequén, es de gran relevancia para el mejoramiento y manejo del cultivo (Infante *et al.*, 2002).

### 2.2.3. Características de la accesión Subinerme

Pese a su importancia económica, los agaves nunca han sido mejorados genéticamente, debido principalmente, a que se propagan asexualmente y tienen un ciclo de vida muy largo (Robert *et al.*, 1992). El número de instituciones que se han orientado al mejoramiento genético del henequén en las últimas décadas se encuentra muy bajo. No obstante a ello, instituciones como la Estación Experimental de M'lingano en Tanzania ha desarrollado en un espacio de 30 años un programa de mejoramiento de agaves por medio de cruza inter-específicos donde se obtuvo el híbrido 11648 (Vincent y Fajardo, 2009). Este híbrido 11648 fue el objeto de diversos estudios en conjunto con otros, tales como los clones 97 y Subinerme. Estos últimos fueron obtenidos tras diferentes estudios de mejoramiento genético en el Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova (IIHLD). Los estudios llevados a cabo fueron: desarrollo de accesiones de agaves a partir de plantas madres obtenidas en campos de producción de henequén en Cuba, con escasas espinas en los márgenes de las hojas; desarrollo de accesiones de agaves a partir de la segregación del henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) Las investigaciones realizadas entre los años 1993 y 2006 permitieron llegar a conclusiones que registraron a los clones 97 y Subinerme o 31-10 como acciones de importante valor en la producción henequenera. Los estudios realizados sobre un número de 10 accesiones revelaron para la accesión 31-10 (Subinerme), las siguientes características: - La accesión 31-10 se encuentra entre las primeras seis de mayores rendimientos de fibra seca además de ser la de menor número de espinas en sus márgenes que además se mantuvieron estables en sus descendencias. Este resultado demuestra el gran potencial productivo y por ende industrial que pudiera tener esta accesión al ser implementada en la industria henequenera ya que se caracterizan por su mayor rendimiento y la ausencia de espinas en los márgenes

de las hojas, que es una característica que la hace ser más deseada por los productores (SanKoumba, 2014)



ACCESIÓN 31- 10

Figura: 1. Foto de accesiones Subinerme donada por el Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova (IIHLD), 2014.

### 2.3. Propagación del henequén

La propagación del henequén puede ser mediante reproducción sexual por semillas y por vía asexual, a través de los retoños producidos por los rizomas y por los bulbillos (Figura 2), que son yemas aéreas encontradas en el escapo floral (Infante *et al.*, 2003).



Figura 2. Órganos de reproducción asexual de *Agave fourcroydes* Lem. (Infante *et al.*, 2003.). **A:** hijos de rizomas; **B:** Bulbillos (Yemas aéreas del escapo floral).

Con relación a la propagación por semillas la mayoría de los autores coinciden que no es la vía más adecuada. Pivenet *al.* (2001) recomiendan no utilizar esta forma de propagación debido a la baja frecuencia en la producción de semilla, que además, presentan un bajo porcentaje de viabilidad.

En Cuba esta vía de multiplicación prácticamente no se realiza debido en primer lugar, a la presencia de la secadera del varejón provocada por la fase imperfecta de la *Cercosporalo* cual destruye la inflorescencia y en segundo lugar, por la práctica habitual de cortar los varejones para evitar el efecto negativo que la floración causa a la calidad de la fibra

### **Propagación por rizomas**

Los rizomas son tallos subterráneos, carnosos y blancos que brotan de la base de la planta, varían en grosor y longitud, poseen numerosas hojas escamosas y pequeñas que protegen los brotes que posteriormente producen los retoños. El brote terminal del rizoma produce, aproximadamente después de un año, un retoño que forma raíces adventicias, lo que permite independizarse de la planta madre. Esta estructura se desecha en los viveros y la misma constituye una fuente potencial para la obtención de posturas, por ello su utilización representa la base de este trabajo (Otero, 1999).

### **Propagación por bulbillos**

Los bulbillos surgen de pequeños brotes protegidos por brácteas. Cada bulbillo es una plántula que posee entre 6 y 8 hojas reducidas con un sistema radicular rudimentario. Un escapo floral puede producir hasta 150 bulbillos según el Instructivo Técnico del Cultivo (Otero, 1999).

### **Propagación por bulbillos del escapo floral**

Debajo del pedúnculo floral se localizan yemas que al desprenderse de la flor o el fruto da origen a pequeñas plantas completas de origen asexual. En condiciones óptimas se producen entre 800 y 1 200 bulbillos por varejón (Otero, 1999).

### 2.3.1. Micropropagación por cultivo *in vitro* de tejidos

La propagación *in vitro* del henequén se basa en el principio de que toda célula somática vegetal tiene la información genética para generar un organismo completo y para que esta pueda expresar este potencial es necesario que se le proporcionen las condiciones medioambientales adecuadas, utilizando principalmente medios nutritivos de composición definida, en recipientes de vidrio y condiciones asépticas en todas las etapas de propagación (del Valle *et al.*, 1994 y Medero *et al.*, 2000).

El esquema de micropropagación de plantas se divide en varias etapas: establecimiento del cultivo, multiplicación, enraizamiento y aclimatización (Murashige, 1974). Sin embargo la aclimatización se considera una de las etapas más críticas dentro del proceso de micropropagación, pues es donde el material producido *in vitro* se transfiere a las condiciones *ex vitro*, si esta transferencia no se realiza cuidadosamente, puede resultar en una significativa pérdida del material propagado (Robert *et al.*, 1999). Esto es debido a las alteraciones creadas en la morfología, anatomía y fisiología de las plántulas como consecuencia del ambiente *in vitro*, lo que dificulta su adaptación a las condiciones naturales (Garriga *et al* 2010).

Diferentes especies del género *Agave* han sido propagadas por las técnicas del cultivo de tejidos, entre las que se destacan: *A. arizonica*, *A. potatorum*, *A. cantala*, *A. fourcroydes* y *A. sisalana* (Enríquez y Díaz, 1994).

Peña *et al.* (1997) establecieron una metodología cubana para la propagación de *A. fourcroydes* a partir de los resultados alcanzados por Robert *et al.* (1992). Posteriormente González (2001) establece una nueva metodología a partir de la utilización de la embriogénesis somática, donde destaca una mayor calidad del proceso para la fase *in vitro*, quedando la fase *ex vitro* limitada solamente a estudios preliminares del proceso de aclimatización.

Posteriormente en relación a estos estudios, Abreu (2009), establece una metodología para la fase *ex vitro*, donde evalúa el proceso de aclimatización en

casas de cultivo y establece además una etapa de previvero, como fase intermedia entre la aclimatización y el vivero tradicional.

El material de propagación obtenido por esta vía tiene ventajas sobre las posturas obtenidas por las vías tradicionales de propagación, sin embargo necesita de mayores atenciones antes de ser llevado a los viveros tradicionales y a las plantaciones de campo (Abreu, 2009; Yanes, 2015; Padrón, 2017).

### 2.3.2. Etapa de previvero

El previvero es una de las etapas, que se establece en el protocolo de micropropagación del cultivo del henequén durante su aclimatización *ex vitro* como etapa intermedia entre la aclimatización en casas de cultivo y el vivero tradicional, con el objetivo de preparar a las plantas para soportar los rigores de las condiciones de campo de forma menos agresiva, además que las condiciona para lograr o completar su desarrollo en un tiempo mínimo y alcanzar el patrón de calidad (15 cm) establecido por el instructivo técnico (MINAG, 2012, 2016) y por los productores, para entrar finalmente en la etapa de vivero (Abreu, 2009).

Según este autor (Abreu, 2009) el previvero debe establecerse en canteros de hormigón en condiciones naturales, con sustrato conformado por la pulpa de henequén descompuesta (en una capa de 10 cm) y suelo ferralítico rojo como soporte. Las plántulas deben ser trasplantadas con marco de plantación de 10 x 15 cm y asistidas con un riego diario durante las primeras semanas.

### 2.4. Etapa de vivero

La fase de vivero se conoce como uno de los eventos más importantes que garantiza la calidad del crecimiento y desarrollo de las plantaciones comerciales, y en consecuencia el éxito de las cosechas. El establecimiento de éstos se hace necesario en los cultivos en que la siembra directa de la semilla en campo, no responde a las exigencias de la primera etapa de desarrollo de la especie, así como en plantas que se propagan asexualmente donde las posturas requieren de una talla determinada para ser plantadas en campos comerciales (Yanes, 2015).

En la actualidad la desaparición de los viveros y la falta de posturas condujeron a la plantación de todo tipo de material, provocando plantaciones no uniformes, de bajos rendimientos y un deterioro gradual de las mismas. En muchas ocasiones se extraen directamente del campo plantas con la talla para la plantación; pero este tipo de material no es abundante y no presentan la calidad que pudiera garantizar rendimientos altos; además, las posturas con este grado de desarrollo dificultan y elevan el costo de la extracción, todo lo cual fortalece la estrategia del establecimiento de los viveros (Yanes, 2015)

En el método tradicional de propagación de henequén el paso por el vivero constituye una fase importante, pues en ella se logran plantas sanas con buen desarrollo, se asegura una mejor selección del material, se preparan las posturas para soportar los rigores de las condiciones de campo, en los cuales permanecerán por mucho tiempo y en consecuencia se producirá una mayor uniformidad de las plantaciones (Sosa, 2011)

En la etapa de vivero las posturas permanecen por un período de 14 ó 18 meses hasta alcanzar los patrones de calidad (45 o 50 cm de altura) para pasar a plantación definitiva, según establece el Instructivo Técnico de este cultivo (MINAG, 2012, 2016) y la experiencia de los propios productores.

Cuando estos propágulos (bulbillos o hijos de rizoma) son recolectados con talla inferior a 15 cm, debido a la escasez de material de plantación en las condiciones actuales, son establecidos en una primera fase de semillero o previvero (Otero, 1999; MINAG, 2012, 2016), donde deben alcanzar los patrones de calidad para su trasplante al vivero tradicional (15 cm).

También se necesita considerar que el material de siembra esté libre de plagas y enfermedades (Otero, 1999). Este autor recomienda marcos de plantación de 10x10 cm y 15x10 cm para establecer semilleros o previveros para el cultivo del henequén en propagación tradicional y la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo, consistentes en residuos de henequén descompuestos.

En las vitroplantas, primero debe cumplirse con la fase de previvero para que las plántulas puedan completar el desarrollo que les permita en un tiempo mínimo,

alcanzar el patrón de calidad (15 cm), para entrar finalmente en la etapa de vivero, como ya se destacó anteriormente (Abreu, 2009).

Sin embargo, con respecto a este criterio anterior, Sosa (2011) informa resultados favorables en el comportamiento de plántulas de henequén en condiciones de vivero tradicional, luego de una etapa de aclimatización de 60 días, evitando el paso por la fase de previvero; no obstante, la supervivencia de las plántulas se vio afectada en un 5 % aproximadamente. Por otra parte esta autora refleja que propágulos de henequén (bulbillos aéreos e hijos de rizomas) procedentes de plantas adultas que habían sido obtenidas por vía biotecnológica, mostraron mejor comportamiento en condiciones de vivero en las variables talla y número de hojas, que los propágulos procedentes de la vía tradicional.

Todo lo anterior sugiere la importancia que para el desarrollo de las plantaciones henequeneras, tiene la utilización racional de las potencialidades de cada una de las vías de propagación.

Actualmente en nuestro país se avanza con un proceso de recuperación henequenera, que depende para el establecimiento y desarrollo de nuevas plantaciones y de la existencia de una política inteligente en la atención a la actividad de viveros. Es por ello que se reconoce lo importante de la recuperación de estas áreas, pues esta etapa es tan necesaria para las posturas procedentes de plantas propagadas por la vía convencional, como para las plántulas procedentes de la micropropagación *in vitro*. La propuesta del manejo combinado de la propagación biotecnológica y convencional puede ser una vía promisoría para la recuperación henequenera en el país a corto y mediano plazo (González *et al.*, 2014).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS.

La investigación se desarrolló en el vivero de la Unidad Empresarial de Base (UEB) “Eladio Hernández”, perteneciente a la Empresa Henequenera nacional; ubicada en la comunidad “La Conchita”, carretera de Varadero, km 26 Vía Blanca. Cárdenas, Matanzas, El montaje del experimento se inició desde el 1<sup>ero</sup> de noviembre del 2017, hasta el 16 de Mayo del 2018. En la figura 3 se observa el área del vivero donde se estableció el experimento.



**Figura 3.** Se observa de derecha a izquierda el frente de la UEB Eladio Hernández y luego la entrada del vivero donde se desarrolló la investigación.

#### 3.1. Material vegetal

En los estudios se utilizaron plántulas de la accesión Subinerme, procedentes de la fase de previvero, de acuerdo con el protocolo de micropropagación establecido para este cultivo por González (2001) y Abreu (2009), y validado para la accesión Subinerme por Sankoumba (2014), Fontes (2017) y Padrón (2017).

A partir de una selección aleatoria se tomaron muestras a las que se determinó la talla (Tamaño), el número de hojas, el peso fresco, el peso seco, el grosor del tallo y el número de raíces.

Como testigo se utilizaron posturas de rizomas recolectadas de las plantaciones comerciales, de la variedad Sac Ki o henequén blanco (el mismo material de plantación empleado por la unidad), las plántulas fueron seleccionadas, de manera que mostraran un adecuado vigor vegetativo, buen estado fitosanitario y la mayor uniformidad posible en cuanto a su tamaño, número de hojas y grosor del tallo, entre ellas y en comparación con las plántulas de la accesión Subinerme. Tabla 1.

Tabla 1. Valores promedios de indicadores de calidad medidos a las plántulas en el momento inicial de su establecimiento en el vivero.

Indicadores / propágulos	Número de hojas	Tamaño de la plántula (cm)	Grosor del tallo (cm)
Hijos Rizomas	<b>4,2</b>	<b>32,3</b>	<b>3,02</b>
Cv (%)	10,6	20,3	28,7
Vitroplantas	<b>4,8</b>	<b>28,5</b>	<b>3,7</b>
Cv (%)	9,3	10,4	5,16

Hijos de rizoma, variedad Sac Ki

Vitroplantas accesión Subinerme

### 3.2. Área y diseño experimental

El experimento se desarrolló sobre suelo Ferralítico rojo poco profundo, rocoso, en un área total de 26,6 m<sup>2</sup>. En la figura 4 se observa el momento inicial en que se estableció el experimento.



**Figura 4.** Momento inicial en que se estableció el experimento.

Se utilizó un diseño experimental totalmente aleatorizado con dos tratamientos (variantes), establecidos de la siguiente forma:

- Tratamiento 1: control (plántulas procedentes de rizoma, variedad Sac ki )
- Tratamiento 2: plántulas micropropagadas, accesión Subinerme)

Las unidades experimentales se conformaron de 25 plantas con un marco de plantación de 0,30 x 0,15 m. Tres repeticiones para cada tratamiento (6 unidades experimentales totales).

### 3.3. Indicadores evaluados

- **Supervivencia de las plantas**

Para este indicador se realizó un monitoreo de las plantas hasta los 60 días, lo que resultó un tiempo suficiente para evaluar la respuesta de las plántulas a sobrevivir en estas condiciones (Abreu, 2009; Padrón, 2017)

### - Indicadores morfológicos y fisiológicos

Se hicieron tres mediciones hasta completar 196 días (6,5 meses). Los muestreos se realizaron, a los 110, 155 y 196 días después del trasplante. Con los resultados obtenidos se evaluó la dinámica de crecimiento y desarrollo. Para ello se determinaron los siguientes indicadores morfológicos y fisiológicos:

- Tamaño de la planta (Altura)
- Número de hojas.
- Largo y ancho de las hojas (cm): se empleó una regla graduada.
- Grosor del tallo (cm): se empleó un pie de rey.

Peso fresco y seco al inicio y final del experimento: Se determinó con el empleo de una balanza digital Sartorius. Para determinar el peso seco, las muestras fueron colocadas en una estufa a 60° C hasta alcanzar un peso constante.

- Área foliar y Tasas de crecimiento:

El área foliar se determinó según la ecuación propuesta por González (2001)  $A_f = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times 0,68$ .

Las tasas relativas se calcularon de acuerdo a las expresiones matemáticas propuestas por Beadle (1993):

- Tasa relativa de crecimiento.  $TRC = (\ln m_2/m_1) / (t_2 - t_1)$ , siendo  $m_1$  y  $m_2$ , y  $t_1$  y  $t_2$  las masas secas y los tiempos, al inicio y final del período considerado respectivamente.
- Tasa de asimilación neta.  $TAN = [(m_2 - m_1) / (A_2 - A_1)] [(\ln A_2 / A_1) / (t_2 - t_1)]$ , siendo  $A_2$  y  $A_1$  la superficie total foliar inicial y final respectivamente.
- Relación del área foliar.  $RAF = [(A_2 - A_1) / (m_2 - m_1)] [(\ln m_2 / m_1) / (\ln A_2 / A_1)]$ .

La tasa absoluta de crecimiento se calculó según la siguiente ecuación propuesta por Torres (1985):

- $TAC = (m_2 - m_1) / (t_2 - t_1)$

Para la determinación de los indicadores morfológicos se utilizó un tamaño de muestra de 10 plantas por tratamiento, y para determinar el peso fresco y seco de las plántulas el tamaño de muestra utilizado fue de cinco plantas por tratamiento.

#### - **Indicadores anatómicos**

Se hizo una caracterización de haces conductores y paquetes de fibras en el mesófilo de la hoja.

Para el estudio del mesófilo las muestras procesadas fueron tomadas de la hoja más joven completamente desarrollada (Cinco muestras por variante). Los cortes transversales se realizaron de manera manual con cuchilla de hoja bien fina, para realizar el corte lo más fino posible, se utilizó la parte media de la lámina foliar. Por cada variante se observaron cinco muestras en un microscopio óptico Leica a 100X y 40X y las imágenes se capturaron con cámara portátil ubicada en el lente del microscopio.

#### **Procesamiento estadístico**

Toda la información obtenida fue procesada según el paquete estadístico Statgraphic plus 5.1 sobre WINDOWS. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroa, 1985). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple y se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan para la comparación entre medias. Para los datos que no cumplieron con estas premisas, se utilizó la Prueba de Kruskal-Wallis y las medias fueron comparadas mediante la Prueba de Rangos Múltiples de Student-Newman-Kwels (SNK) ( $p < 0,05$ ).

### 3.4. Valoración económica

Para la valoración económica se tomó en consideración el costo unitario de las vitroplantas a partir de la ficha de costo elaborada por el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, para la fase *in vitro* (González, 2001) y el costo total por planta hasta la fase de aclimatización (Abreu, 2009).

Se elaboró una ficha de costo para la fase de vivero, de manera comparativa de acuerdo con la procedencia de cada propágulo (posturas). Se partió del costo de obtención de las posturas por el método tradicional, así como los gastos por concepto de permanencia en las condiciones del vivero de acuerdo con el instructivo técnico del cultivo MINAG (2012), (Información aportada por el departamento de economía de la UEB Eladio Hernández de Matanzas).

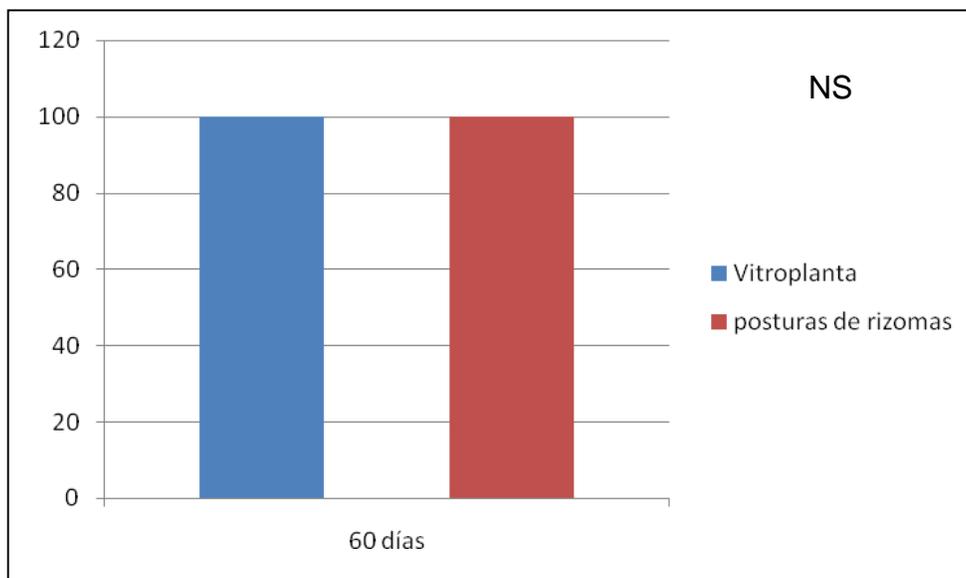
Con la información obtenida se determinó el costo total de mantención de las posturas hasta cumplir con los parámetros de calidad para pasar a plantación definitiva.

En el análisis se incluyó además las ventajas de los propágulos que son obtenidos a partir de la micropropagación, las que han sido constatadas en la propia UEB henequenera Eladio Hernández.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. Supervivencia de las plántulas

La Figura 5 refleja la supervivencia de las plántulas de la accesión Subinerme, a los 60 días de su estancia en el vivero, comparadas con las posturas procedentes de hijos de rizomas.



**Figura 5. Porcentaje de supervivencia de las plántulas de la accesión Subinerme, en comparación con las posturas procedentes de rizomas, a los 60 días de su estancia en el vivero.** NS significa que no hay diferencia significativa entre las variante.

Como se puede observar en la figura, las plántulas micropropagadas de la accesión Subinerme respondieron favorablemente a las condiciones de los viveros tradicionales cuando fueron trasplantadas de la fase de previvero (Tecnología de micropropagación) a condiciones naturales en un ambiente que resultan un poco más agresivas para ellas.

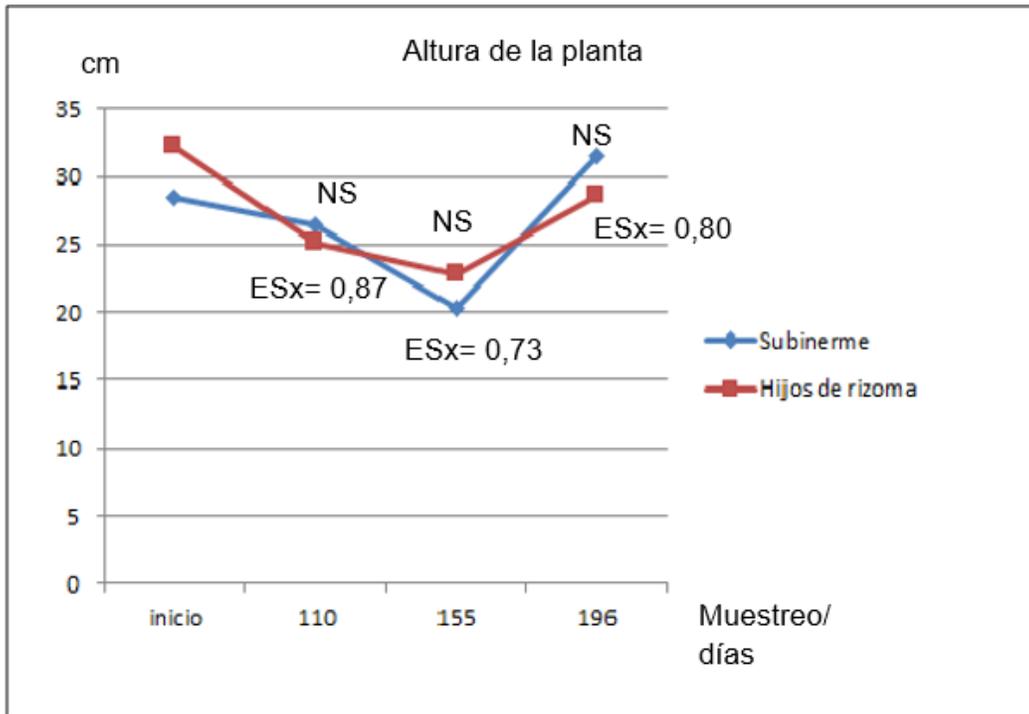
De acuerdo con el protocolo de micropropagación del henequén (González 2001; Abreu, 2009) las plántulas obtenidas *in vitro* deben transitar por una etapa de aclimatización en los ambientes *ex vitro*, que incluye una fase de previvero, donde deben responder como organismos autotróficos eficientes y modificar sus

estructuras hacia la estructura normal de la especie (Abreu, 2009), además que les permite alcanzar los patrones de calidad establecidos por el instructivo técnico de este cultivo (MINAG, 2012, 2016) para entrar en la fase de vivero tradicional, sin embargo en las condiciones del previvero, las plántulas son atendidas con mayor cuidado que cuando son trasplantadas a las condiciones de vivero tradicional, lo que puede resultar estresante para ellas cuando son movidas de un ambiente a otro. En relación al protocolo de micropropagación, la accesión Subinerme respondió favorablemente en la fase de aclimatización *ex vitro* de las casas de cultivo y en condiciones de previvero en ambiente natural, con resultados satisfactorios (Fontes, 2017; Padrón, 2017), ello permitió que las plántulas estuvieran condicionadas como organismos autotróficos eficientes, de acuerdo con las peculiaridades de la especie para que pudieran responder favorablemente al trasplante y lograr un alto porcentaje de supervivencia (100 %), como se muestra en la figura, sin embargo su rendimiento biológico pudiera afectarse durante las primeras semanas de su estancia en estas condiciones, si no se cumple con las exigencias de los viveros como establece el instructivo técnico de este cultivo, entre los que se refieren, buena preparación del suelo, calidad de los propágulos, fecha óptima de plantación, manejo del riego, etc. (MINAG, 2012, 2016) .

#### 4.2. Respuesta de las plantas de acuerdo con los indicadores morfológicos y fisiológicos.

En relación a los indicadores morfológicos evaluados, los resultados se presentan en las figuras 6, 7, 8, 9, 10.

La figura 6 refleja la dinámica en cuanto a la altura de las plantas



**Figura 6. Comportamiento de la altura de las plántulas desde su establecimiento en el vivero hasta los 196 días (6,5 meses) de estancia en estas condiciones.** ESx significa error estándar de la media. NS significa que no hay diferencia significativa entre las medias.

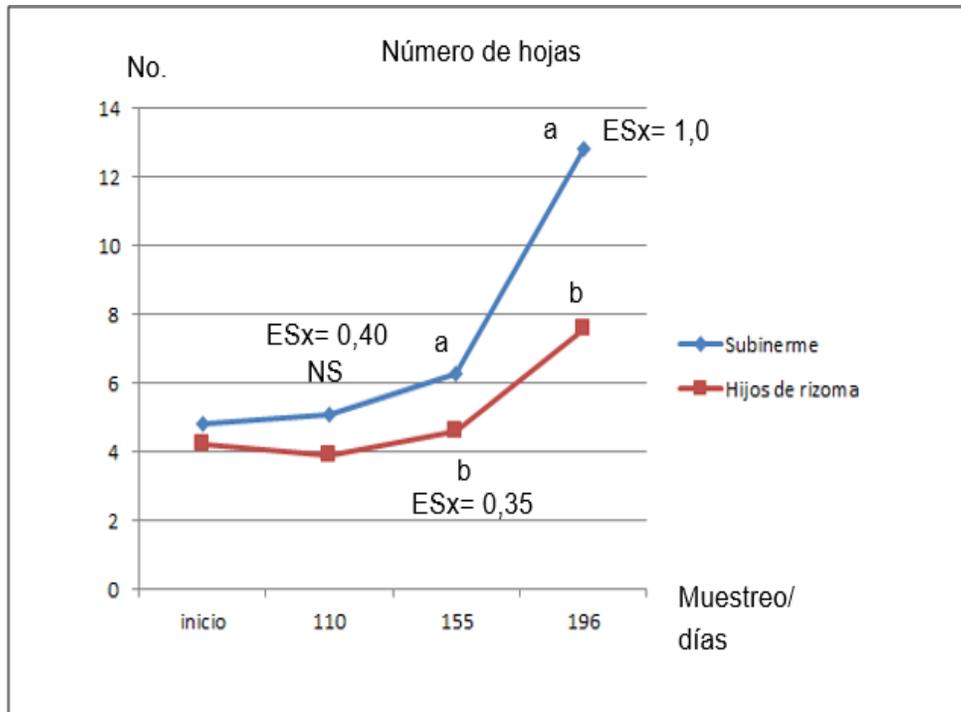
Como se puede observar en esta figura, el comportamiento en cuanto a la dinámica en la altura de las plántulas de la accesión Subinerme, fue muy similar al comportamiento mostrado por las plantas procedentes de los hijos de rizomas durante todo el periodo evaluado; en ninguno de los muestreos realizados los valores alcanzados por ambos tipos de propágulos tuvo diferencias estadísticamente significativa entre sí.

De igual manera para los dos tipos de propágulos, la respuesta reflejada por las plántulas se correspondió con las características de la especie y la fase del desarrollo evaluada, lo que estuvo influenciada además en este estudio por la etapa en que se realiza la investigación de acuerdo con las épocas estacionales del clima en las condiciones de Cuba (Abreu 2009, MINAG, 2012, 2016).

El henequén es una planta xerófita de crecimiento lento, que según Otero (1999) y Pivenet *al.* (2001), citados por Sosa (2011) y Yanes (2015), dadas sus características botánicas y fisiológicas, presenta resistencia a la sequía y se desarrolla bien en climas secos. Por lo tanto cierto grado de humedad y temperaturas cálidas favorecen su crecimiento significativamente; por el contrario su ritmo de crecimiento se retarda por causas de las bajas temperaturas debido a que el frío reduce la actividad meristemática además del contenido de fibras en las hojas y la emisión foliar.

Es por ello que después del trasplante de las posturas en el vivero y hasta los 155 días, no se observa un incremento en la altura de las plántulas con respecto al momento inicial de la plantación, periodo que coincidió con los meses de noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo, y por el contrario a los 155 días se reflejan los valores más bajos. Sin embargo a partir de este momento se evidencia una tendencia a la recuperación de las plantas, lo que coincidió con los meses de abril y mayo (incremento de las precipitaciones y de la temperatura), y ya a los 196 días se percibe un aumento en el tamaño de las plántulas, inclusive para la accesión Subinerme superior al momento inicial de la plantación.

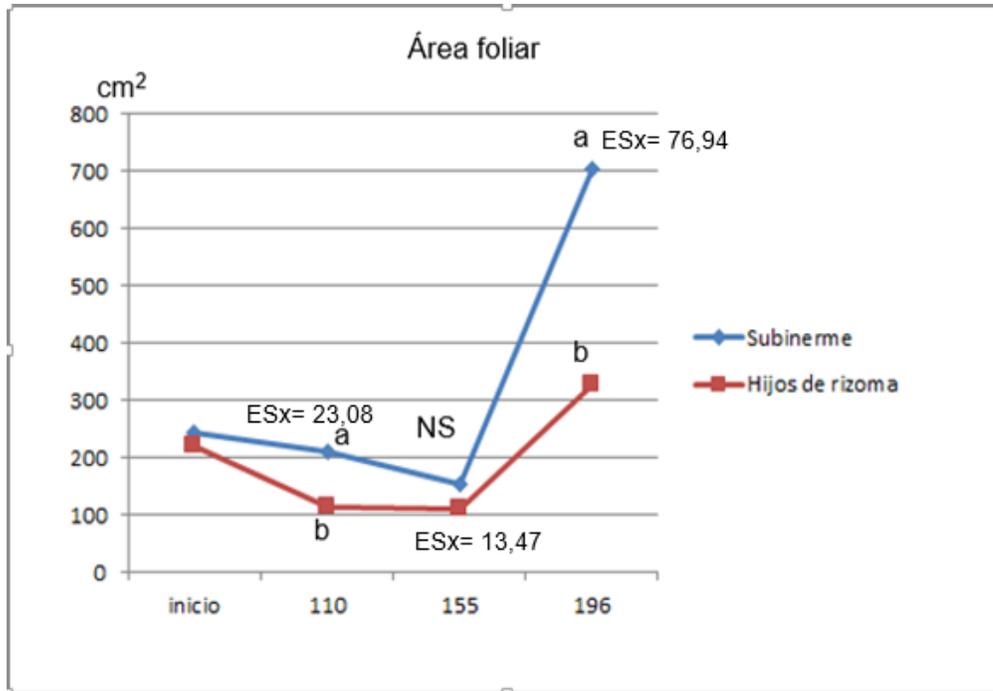
Referente a la dinámica del número de hojas (Figura 7), la tendencia en su comportamiento mostró un periodo de muy poco cambio con respecto al momento inicial del trasplante que ocurrió de igual manera en los primeros 110 días, tanto para las posturas de hijos de rizomas, como para las de la accesión Subinerme, donde no se reflejó diferencia estadísticamente significativa entre ellas; sin embargo a partir de los 155 días se observa un incremento de este indicador con un efecto más marcado al final del periodo (196 días). En esta respuesta los valores más altos se encontraron con la accesión Subinerme, con diferencia estadísticamente significativa respecto a los hijos de rizomas. En ello es importante destacar que el número de hojas fue de casi 13 hojas en solo 6,5 meses (196 días), como se observa en la propia figura y por el contrario las posturas de hijos de rizomas no llegaron a las 8 hojas promedio por planta.



**Figura 7. Dinámica del número de hojas desde su establecimiento en el vivero hasta los 196 días (6,5 meses) de estancia en estas condiciones.** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media. NS significa que no hay diferencia significativa entre las medias.

La respuesta en cuanto al área foliar (Figura 8), se ve muy influenciada por el número de hojas y la expansión foliar, es por ello que durante los primeros 155 días, no ocurre un incremento en este indicador, lo que puede estar muy relacionado con la respuesta en la altura de las plantas hasta este periodo (Figura 6), a pesar de que a los 155 días se observó un ligero incremento en el número de hojas (Figura 7). Ello puede estar relacionado con las características botánicas del henequén, en la que las hojas tienen un crecimiento en forma de roseta (Otero, 1999; González y Abreu 2009; Buenas tareas, 2011; García y Serrano, 2012 y Terry *et al.*, 2015) y en esta fase de desarrollo son las que determinan el tamaño de la planta. Sin embargo en condiciones poco favorables para ellas en relación a las variables climáticas, por la época en la que se establecieron en el vivero y los primeros meses del periodo estudiado

(noviembre, diciembre, enero febrero), tienden a reducir su expansión foliar, afectando así el área foliar total de la planta.



**Figura 8. Comportamiento del área foliar de las plántulas desde su establecimiento en el vivero hasta los 196 días (6,5 meses) de estancia en estas condiciones.** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media. NS significa que no hay diferencia significativa entre las medias.

Estos resultados estuvieron influenciados además, por los efectos del trasplante donde las plántulas tienen que sobrevivir inicialmente a expensas de sus reservas nutricionales y por tanto reducen su actividad metabólica a un nivel de mantenimiento, hasta que emitan las nuevas raíces y puedan intercambiar con el medio. Bajo estas condiciones, durante las primeras semanas ocurre una disminución en el contenido hídrico de las plantas, como sucede en las hojas en estado de marchitez, característica que Según Torres y Mogollón (2002) es usualmente visible en las plántulas después del trasplante. Este proceso produce cierto incremento de la actividad respiratoria, debido a la transformación de

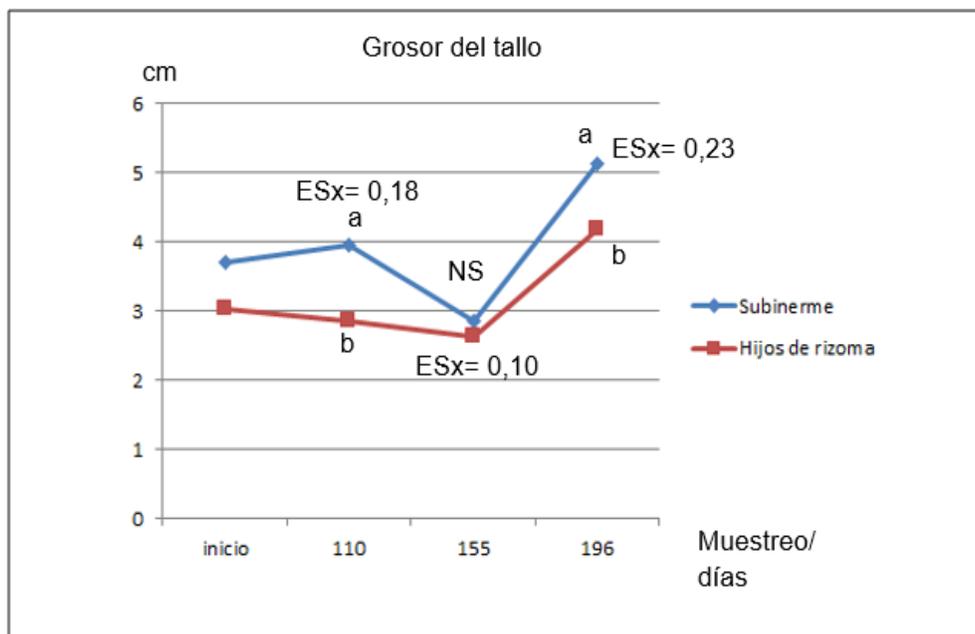
almidones en azúcares y por consiguiente una disminución de la masa seca. (Ribas Carbó y González-Mele, 2000), citados por Abreu (2009).

Por otra parte está demostrado que las hojas que crecen en altas temperaturas poseen un mejor comportamiento en la expansión foliar, que cuando lo hacen a bajas temperaturas (Taiz y Ziegler, 2006), lo que es muy importante para este cultivo por su valor agrícola. Ello explica que con las bajas temperaturas que normalmente acompañan a los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero, en las condiciones de Cuba, se presentara una actividad biológica del cultivo muy baja, con poco o casi ningún incremento en los indicadores estudiados.

Después a partir de los 155 días se observa un aumento marcado del área foliar en ambos propágulos, debido a un incremento en la actividad metabólica de las plantas, por la presencia de las altas temperaturas y el aumento de las precipitaciones, como sucede en los meses de abril y mayo en las condiciones de Cuba. Sin embargo las plantas de la accesión Subinerme tuvieron un incremento significativamente superior al de las plántulas de hijos de rizomas, lo que demuestra una mayor actividad metabólica de este tipo de propágulo, que proviene de las técnicas de propagación *in vitro* (Eastmond *et al.*, 2000), lo que está dado por el rejuvenecimiento del material vegetal que transmiten estas técnicas (Sosa, 2011).

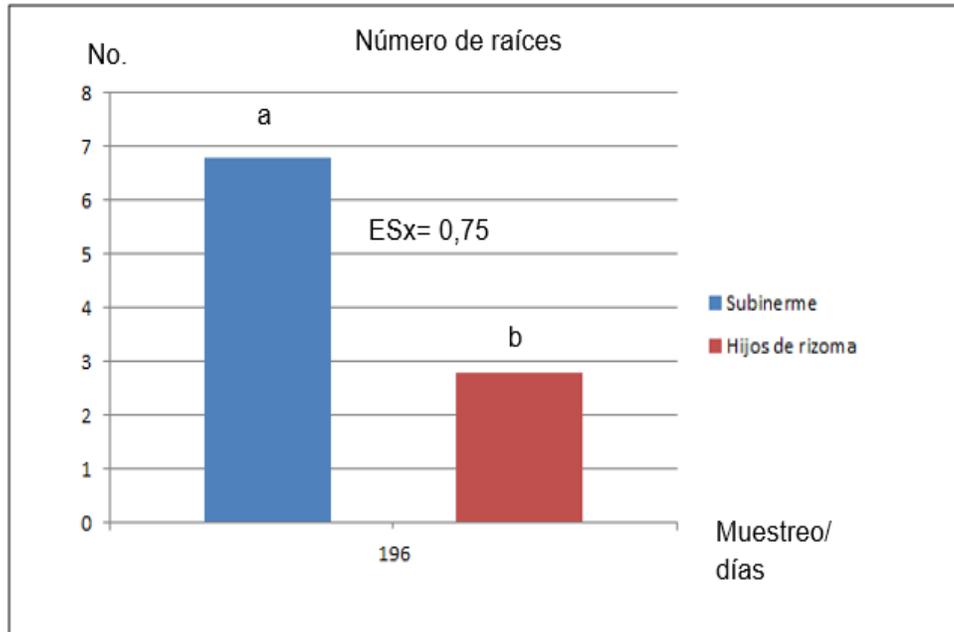
La dinámica en cuanto al grosor del tallo (Figura 9), se comportó muy similar a la dinámica en cuanto a la altura de la planta y al área foliar para ambos propágulos, con una disminución de su valor hasta los 155 días y posteriormente un incremento significativo al final del periodo, con la mejor respuesta en las plántulas de la accesión Subinerme, lo que conllevó a una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los hijos de rizomas. Todo ello demuestra que de acuerdo con los indicadores morfológicos, las plántulas de la accesión Subinerme procedente de la micropropagación *in vitro* responden favorablemente al desarrollo cuando son trasladadas para los viveros tradicionales. No obstante, como se muestra en estas figuras (6, 7 y 8), este tipo de propágulo puede ser más sensible a condiciones poco favorables en cuanto a

las variables climáticas y mostrar un comportamiento más inestable que las posturas de campo.



**Figura 9. Dinámica del grosor del tallo desde su establecimiento en el vivero hasta los 196 días (6,5 meses) de estancia en estas condiciones.** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media. NS significa que no hay diferencia significativa entre las medias.

En relación al número de raíces, la respuesta de las plántulas fue evaluada solamente al final del periodo (Figura 10).



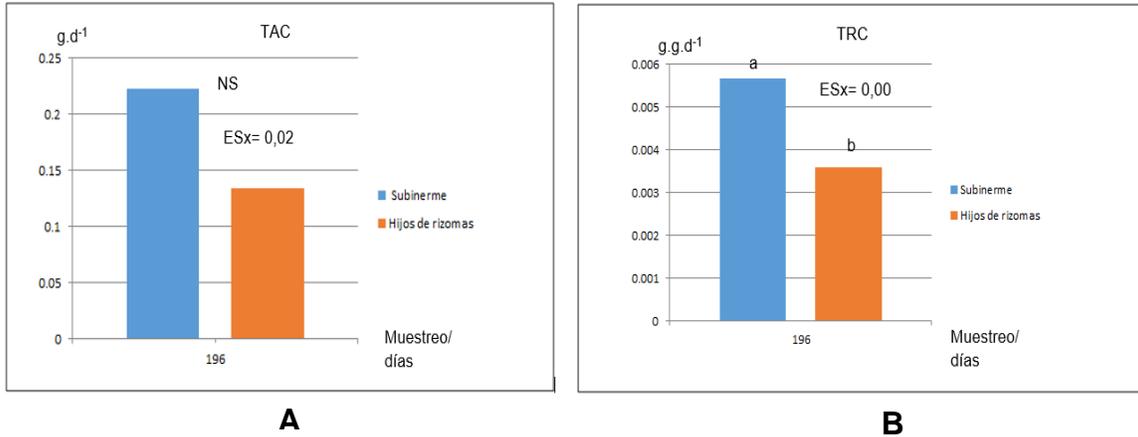
**Figura 10. Comportamiento del número de raíces al final del período (196 días) de estancia en estas condiciones.** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media.

Como se muestra en la figura, las plántulas de la accesión Subinerme tuvieron una respuesta en la emisión de nuevas raíces al final del periodo estudiado, que duplicó el valor mostrado por las plantas de campo. Este resultado apunta hacia una mayor calidad de las plántulas provenientes de la micropropagación *in vitro* como ya se destacó anteriormente. En el manejo que se le realiza a las posturas de henequén para ser establecidas en el vivero, está la poda de sus raíces para facilitar su anclaje en el suelo, además de que ello le induce en las posturas un estímulo para emitir las nuevas raíces funcionales en menor tiempo, de lo contrario mueren cuando se les acaba sus reservas nutricionales, este proceso al parece fue favorecido en las plántulas de la accesión Subinerme por la condición de su procedencia. Como se destaca en la figura, esta diferencia es altamente significativa de acuerdo con su análisis estadístico.

El análisis de los indicadores fisiológicos evaluados (Tasas de crecimiento), se presenta en las figuras 11, 12 y 13. Estos indicadores reflejan la eficiencia de las

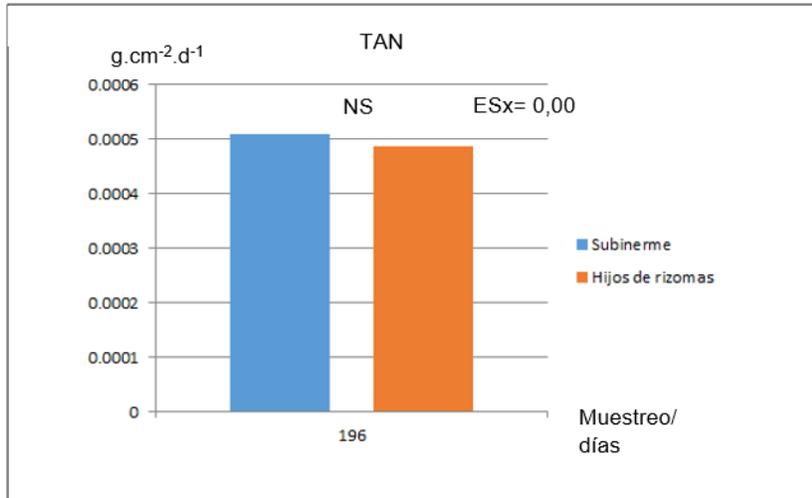
plantas en producir nueva biomasa, en un periodo dado; en este estudio el cálculo se realizó solamente al final del periodo (196 días)

La figura 11 se refiere al comportamiento de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) y la tasa relativa de crecimiento (TRC). La tasa absoluta refleja el incremento en peso por día durante el periodo, sin tener en cuenta la biomasa inicial de la planta, lo que puede ser menos preciso para comparar la eficiencia biológica de ambos propágulos en su desarrollo, no obstante, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ellos, a pesar de la respuesta exhibida por las plántulas micropropagadas de la accesión Subinerme en las variables morfológicas evaluadas.



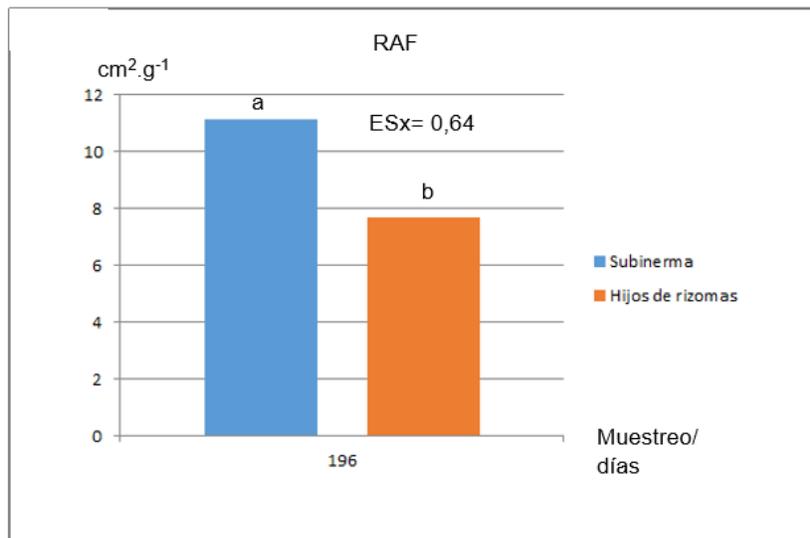
**Figura 11. Comportamiento de las tasas absoluta de crecimiento (TAC) en A, y tasa relativa de crecimiento (TRC) en B, al final del periodo evaluado.** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media.

Por su parte la TRC, sí expresa una relación del incremento en la biomasa de la planta a partir de la biomasa existente, en este caso, este indicador refleja diferencia significativa entre los tipos de propágulos, con la mejor respuesta para las plántulas de la accesión Subinerme. Sin embargo la TAN, que es un indicador que expresa una relación entre la biomasa producida por unidad de área foliar, por unidad de tiempo, y puede ser empleado para evaluar la eficiencia fotosintética de las plantas (medida del balance que se manifiesta entre la fotosíntesis y la respiración), no refleja diferencia significativa entre los propágulos, lo que puede ser contradictorio a partir de la diferencia bien marcada en el número de hojas y área foliar de las plantas de la accesión Subinerme al final del periodo (Figuras 7 y 8), con respecto a las plantas de campo (Hijos de rizomas), sin embargo las hojas de plantas jóvenes provenientes de la micropropagación en condiciones climáticas de humedad y temperatura favorables para ellas, logran una mayor turgencia de sus células por la condición de tejido mas rejuvenecido, y por tanto una mayor expansión foliar en relación a su peso seco, lo que puede ser la causa de que la tasa de asimilación neta muestre valores similares en ambos tipos de propágulos, a pesar de mostrar mejor respuesta en relación a la TRC y a las variables morfológicas evaluadas.



**Figura 12. Comportamiento de la tasa de asimilación neta (TAN) al final del periodo evaluado (196 días).** NS significa que no hay diferencia significativa entre las medias.

El resultado mostrado con la TAN, se corresponde con el comportamiento que se refleja en torno a la relación del área foliar (RAF), (Figura 13), aunque este último se determina en un momento dado



**Figura 13. Comportamiento de la relación del área foliar (RAF) al final del periodo (196 días).** Letras diferentes se refiere a diferencia estadísticamente

significativa entre variantes para  $p < 0,05$ . ESx significa error estándar de la media.

Como se puede observar en esta figura, en las plántulas de la accesión Subinerme se refleja una mayor superficie foliar, para producir un gramo de biomasa.

De manera general, en relación a las variables morfológicas y fisiológicas evaluadas a las plántulas de la accesión Subinerme durante la etapa de vivero, puede decirse que respondieron favorablemente de acuerdo con los patrones de calidad del desarrollo de estos propágulos en esta etapa del desarrollo, inclusive superior a los propágulos de hijos de rizomas, que son posturas con características más resistentes (Otero, 1999; MINAG, 2012, 2016).

Las posturas de henequén para entrar en la etapa de vivero, deben tener una altura mínima de 15 cm y entre 4 y 5 hojas, en estas condiciones deben permanecer hasta alcanzar el patrón de calidad necesario para ser trasplantada a campo (Otero, 1999; MINAG, 2012, 2016). Normalmente las posturas de henequén deben permanecer en el vivero 14 meses para alcanzar el patrón de calidad (entre 45 y 50 cm de altura y no menos de 15 hojas), (Vincent *et al.*, 1998; Otero, 1999; MINAG, 2012, 2016); aunque en las condiciones actuales del cultivo en Matanzas las posturas demoran entre 18 y 20 meses para pasar a plantación permanente (Sosa, 2011; Información aportada por especialista de la UEB).

Como se observa en estos resultados, las plántulas de la accesión Subinerme, en solo 6,5 meses en el vivero, logran niveles de estos indicadores que apuntan hacia una reducción significativa del tiempo en esta fase, en referencia a 14 meses.

#### 4.3. Indicadores anatómicos

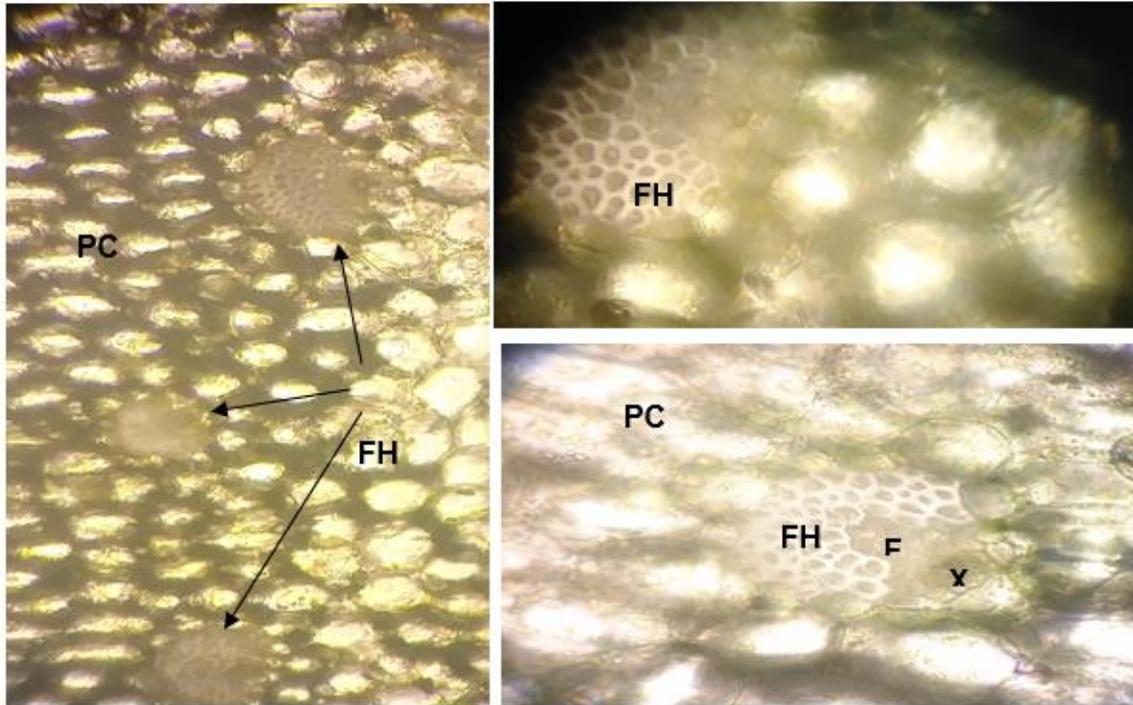
En la figura 14 y 15 se presenta la estructura del mesófilo de la hoja a partir de los cortes transversales para cada tipo de propágulo.

Como se aprecia en ambas figuras (14 y 15), se presenta el mesófilo con parénquima clorofílico y haces vasculares dispersos. Las fibras están asociadas

con los haces vasculares. En otras observaciones se identificaron paquetes de fibras no asociados a los haces.

Referente a estas características Macía (2006) se refiere a la presencia de paquetes de fibras en el área floemática, observado en hojas de plantas procedentes de micropropagación, aspecto que es característico de esta especie. Por otra parte Sosa *et al.* (2014), destacan que las fibras están asociadas con los haces conductores donde aparecen como cordones independientes en el mesófilo formando paquetes de fibras, todo ello coincide con lo observado en estos resultados.

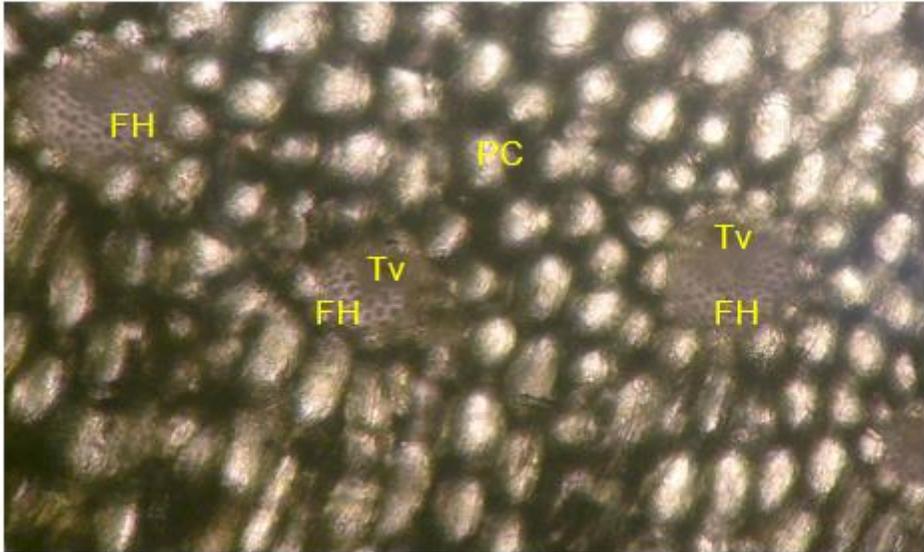
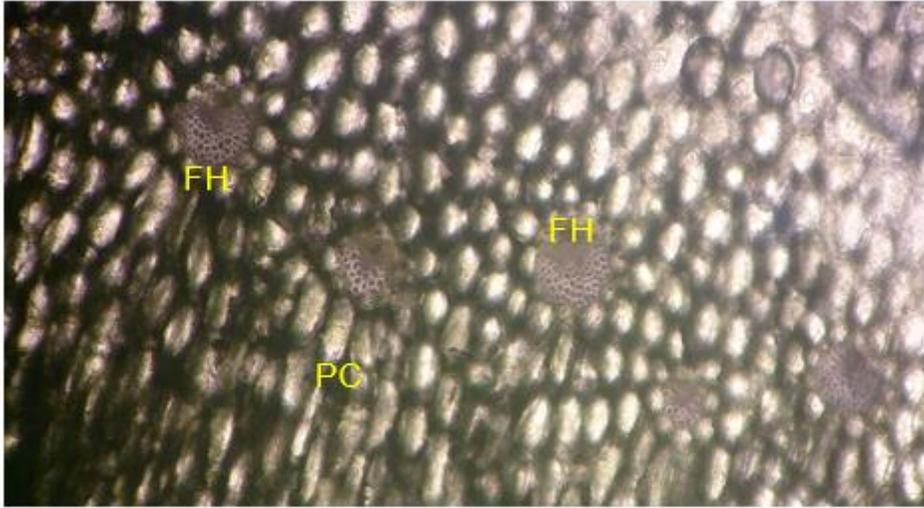
Estos resultados confirman un comportamiento de la accesión Subinerme acorde con las características de las plántulas obtenidas de hijos cultivados en campo. Las semejanzas anatómicas unido a su mayor actividad metabólica, demostrado en el comportamiento de las variables morfológicas y fisiológicas, así como la morfología externa de la hoja, la hacen más eficiente para su explotación en campo y de manera general en la industria henequenera.



A: 40x

B: 100x

Figura 14. Corte transversal de hojas de plántulas de la accesión Subinerme. Se observan los haces vasculares con abundantes fibras. FH: fibras de haces vasculares, X: xilema, F: floema; PC: Parénquima clorofílico. Aumento en A 40x y en B 100x



A: 40x

Figura 15. Corte transversal de hojas de plántulas de hijos de rizomas. Se observan los haces vasculares con abundantes fibras. FH: fibras de haces vasculares, Tv: tejido vascular; PC: Parénquima clorofílico. Aumento en A: 40x

#### 4.4. Valoración económica

**Tabla 2. Ficha de costo comparativa por tipo de propágulo para cubrir una hectárea de vivero.**

<b>Gastos generales</b>		<b>16-18 meses</b>	<b>12 meses</b>
	<b>UM</b>	<b>Hijos de rizomas (\$ MN)</b>	<b>Vitroplantas Subinerme (\$ MN)</b>
Costo de la postura para ser llevada al vivero	ha	8888,88	-
Costo de la vitroplanta (accesión Subinerme), entre el previvero y vivero	ha	-	28888,28
Costo de permanencia de la postura	ha	33333,33	
Gastos totales	ha	42222,21	28888,28
Cantidad total de plantas	ha	222222,22	222222,22
Costo/planta		0,189	0,13

Marco de plantación en vivero 0,30 x 0,15 (222222,22 posturas por hectárea.)

Costo de la postura método tradicional:

Costo unitario de la postura para ser llevada al vivero: \$ 0,04

Costo unitario de permanencia de la postura en el vivero: \$ 0,15

Costo de la Vitroplantas (previvero y vivero): \$ 0,13 (información aportada por la empresa, 2008

Como se puede observar en la tabla, el costo de la postura procedente de la propagación *in vitro*, considerando solamente la etapa de previvero y vivero, es

mucho menor que el costo de la postura obtenida por el método tradicional; inclusive, por el método tradicional puede ser superior, si la postura es comprada en otras provincias (Holguín o Cienfuegos), lo que puede incrementar su costo para ser llevada al vivero entre 0,30 y \$ 0,56, incrementando el costo total unitario de la postura durante esta etapa. Por otra parte en el costo de la vitroplanta no está incluido el costo de obtención en la fase *in vitro* y aclimatización, lo que también incrementaría su costo unitario total. No obstante el propágulo procedente de la vía de propagación *in vitro*, accesión Subinerme en este estudio, tiene un grupo de ventajas sobre la vía tradicional las que han sido avaladas por especialista de la propia empresa henequenera en otros momentos, referidos a la variedad Sac Ki.

Ventajas de las plantas micropropagadas (Abreu, 2009; Padrón, 2017)

- Viveros uniformes.
- El tiempo de permanencia de las posturas en esta fase es de 12 meses.
- La entrada en producción de plantaciones establecidas con este tipo de postura es a los tres años, en vez de a los cinco o seis que requieren las plantas propagadas en campo.
- Se ha podido observar una mayor emisión de hijos basales o del rizoma por año, en comparación con plantaciones de campo.

Finalmente sobre estos criterios no se pudo concluir en la investigación realizada en relación a la accesión Subinerme, debido a que no se pudo evaluar el comportamiento de las plantas hasta cumplir con los patrones de calidad para pasar a plantaciones de campo (Altura entre 40 y 45 cm y 15 hojas mínimo), lo que definiría la fase final del vivero. A pesar de ello las plantas de la accesión Subinerme, en solo 6,5 meses lograron alcanzar una altura superior a los 30 cm y un área foliar con casi 13 hojas (Figuras 6 y 7).

## V. CONCLUSIONES.

- Las plantas micropropagadas de henequén de la accesión Subinerme mostraron resultados favorables en la supervivencia durante su establecimiento en condiciones de vivero tradicional, con el 100 % de sobrevivencia en estas condiciones.
- El comportamiento de los indicadores anatomorfológicos y fisiológicos evaluados a las plantas de la accesión Subinerme durante la fase de vivero, mostró una respuesta de las plantas de acuerdo con las características normal de la especie para esta etapa del desarrollo.
- De manera general las plantas de la accesión Subinerme mostraron un rendimiento biológico superior a las plantas procedentes de la vía tradicional de propagación (hijos de rizomas) en la etapa de vivero.
- Aunque no se pudo evaluar la etapa de vivero hasta su fase final, en solo 6,5 meses, las plantas micropropagadas de la accesión Subinerme alcanzaron niveles en los indicadores de calidad que la condicionan para concluir esta etapa en un periodo menor de 14 meses.

## VI. RECOMENDACIONES.

- Continuar el estudio en condiciones de vivero.
- Evaluar la respuesta de plantas micropropagadas de la accesión Subinerme en condiciones de campo.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abreu, E.O. 2009. Aclimatización de plántulas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) y su evaluación en la etapa de previvero. La Habana. Tesis (en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).
2. Arizaga, S. y E. Ezcurra. 2002. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Ecologia*. 101: 329-334.
3. Buenas Tareas. 2011. Henequén En Yucatán [en línea]. Disponible en: <http://www.buenastareas.com/ensayos/Henequen-EnYucatan/1811362.html> [Consulta: mayo, 24 2017].
4. Carrión, M. 1988. El henequén como planta productora de fibra dura. *Boletín* 15, p. 7- 29.
5. Colunga- García Marín, P.S. and May- Pat, F. 1997. Morphological variation of Henequen (*Agave fourcroydes*, Agavaceae) germoplasm and its wild ancestor (*A. angustifolia*) under uniform growth conditions: diversity and domestication. *American Journal of Botany* 84 (11): 1449-1465.
6. Colunga, P.S. 1998. Origen, variación y tendencias evolutivas del Henequén (*Agave fourcroydes* Lem). *Bot. Soc. Bot. México*. p.62.
7. Colunga, P.S.1996. Origen, variación y tendencias evolutivas del Henequén (*Agave fourcroydes* Lem). Capítulo 1. Tesis presentada para obtener el grado Científico de Doctora en Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. p.9.
8. Eastmond, A; Herrera, J. L; Robert, M. L. 2000. La biotecnología aplicada al Henequén: Alternativas para el futuro. Centro de Investigaciones Científica de Yucatán. México. 106 p.
9. Elicriso. 2013. ¿Cómo cultivar y curar las plantas? Agave. Información de la planta. Propiedades y cultivo [en línea]. Disponible en: [http://www.elicriso.it/es/como\\_cultivar/agave/](http://www.elicriso.it/es/como_cultivar/agave/). [Consulta: marzo, 6 2013].

10. Enríquez del V, R. y Díaz, B. 1994. Experiencias sobre propagación *in vitro* de plantas. Centro de micropropagación de especies vegetales. Cuadernos de los centros No 1, p. 11 –14.
11. Financiera Rural. 2011. Monografía del Henequén y Sisal. México. Dirección General Adjunta de Planeación y Análisis Sectorial. Dirección Ejecutiva de Análisis sectorial. 8p. (monografía) [en línea]. Disponible en: [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaDaHenequ%C3%A9nSisal\(ago11\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaDaHenequ%C3%A9nSisal(ago11).pdf) [Consulta: junio, 6, 2018].
12. Fontes, E. 2017. Evaluación de vitroplantas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) procedentes de una nueva accesión (Subinerme) durante la etapa de aclimatización. 64h. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas.
13. García S, D y Serrano, H. 2012. *Agave fourcroydes* Lem. y sus nuevas perspectivas. Tecno Agro. (78).
14. Garriga, M., González, G., Alemán S., Abreu, E., Quiroz K., Caligari, P. y García, R. 2010. Manejo de la Interacción Auxina-Citoquinina para Mejorar el Protocolo Micropropagación de Henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70 (4): 545-551
15. Gentry, H. S. 1982. *Agaves of continental North America*. University of Arizona Press, Tucson, AZ.
16. Gonzáles, G; Abreu, E. 2009. El Henequén. Cultivo importante desconocido, con futuro promisorio. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. 12 p. (monografía).
17. González O, G; Abreu C, E. 2014. El Henequén. Cultivo importante desconocido, con futuro promisorio. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Vía Blanca Km3, Matanzas, Cuba. 12p. (monografía).

18. González, G. 2001. Embriogénesis somática en henequén (*Agave fourcroydes* Lem) Tesis presentada en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas Universidad de Matanzas. p.114.
19. González, G; Alemán, S; Infante, D. 2003. Asexual genetic variability in *Agave fourcroydes* II: Selection among individuals in clonally propagated population. Rev. Plant Science (165).p.595-601
20. González, G.; Alemán S.; Barredo, F.; Keb, M.; Ortiz, R.; Abreu, E. y Robert., M.L.2004. Una alternativa de la recuperación henequenera de Cuba, mediante el uso de técnicas biotecnológicas y moleculares. Biotecnología Aplicada. 21(1):44-49.
21. Imagen Agropecuaria. 2016. Al reencuentro del henequén [en línea]. <http://imagenagropecuaria.com/2016/al-reencuentro-del-henequen-yucatan/> [Consulta: 12 de junio 2017].
22. Infante, D., González, G. Peraza, L. and Keb-Llanes, M .2003. Asexual genetic variability in *Agave*. Plant Science; 164 (2). p. 223-230.
23. Infante, D.; González, G.; Peraza, L.; Keb-Llanes, M. 2002. Asexual genetic variability in *Agave*. Plant Science. 164 (2). p. 223-230.
24. Info Rural, Noticias Agrarias. 2013. El henequén tenía 7 variedades, de las que 4 están perdidas [en línea]. Disponible en: <http://www.inforural.com.mx/spip.php?article131098> [Consulta: abril, 13 2013].
25. Macía M J. 2006. Las plantas de fibra. En: M Moraes R, B Ollgaard, L P Kvist, F Borchsenius, H Balslev (Eds.). Botánica Económica de los Andes Centrales, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. pp. 370-384.
26. Medero, V.; Rodríguez, E.; Gómez, R.; García, M.; López, J.; Ventura, J.; Martínez, M.; Álvarez. M. 2000. Embriogénesis somática a partir de meristemas axilares en yuca. Biotecnología Vegetal. No. 1, pp 21-26.
27. MINAG. 2012. Instructivo técnico del cultivo de Henequén. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". 19p.

28. MINAG.2016. Instructivo técnico del cultivo del Henequén. Instituto de Investigaciones Hortícolas. "Liliana Dimitrova". 19p.
29. Murashige, T. 1974. Manipulation of Organ Initiation in Plant Tissue Culture. Botanical Bulletin of Academic Sinica. 18. p. 1- 24.
30. Otero, B.1999. El cultivo del henequén (*Agave fourcroydes*, Lem) como planta textil y su aprovechamiento integral. Temas de Ciencia y Tecnología. 3 (9): 23 - 46.
31. Padrón, L. 2017. Evaluación de dos estimuladores del crecimiento de origen natural en plántulas micropropagadas de henequén, accesión Subinorme en condiciones de previvero. 58h .Trabajo de Diploma (en opción al título de Ingeniero Agrónomo)-Universidad de Matanzas.
32. Peña, Esperanza.; González, G.; Berrillo, A.; Sosa, D.; Arteaga, M.; Rittoles, D.; Pérez, D.; Torriente, Z. 1997. Tecnología para la micropropagación del Henequén a gran escala. Rev. Jardín Botánico Nacional. 18, pp 169-176.
33. Piven, N. M.; Barredo-Pool, F. A; Borges-Argáez y Robert, M.L. 2002. Key events in the regulation of somatic embryogenesis in monocots: Agaves. Bulletin of the state Nikitsky Botanical Gardens. vol. 86:12-16.
34. Piven, N., Barredo, F., Borges, I., Herrera, M., Mayo, A., Herrera, L., Robert, M. 2001. Reproductive biology of henequén (*Agave fourcroydes*) and its wild ancestor *Agave Angustifolia* (Agavaceae). Gametophyte development. American Journal of Botany. 88.
35. Robert, M.L.; Herrera, J.L.; Chan, J.L.; Contreras, F. 1992: Micropropagation of Agave spp. J:P:Y: Bajaj (ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer-Verlag. 19. p. 306 -329.
36. Robert, M.L.; Ortiz, R.y Herrera, J.L.1999. *In vitro* and *ex vitro* weaning: A key factor for field performance of micropropagate henequen (*Agave*

- fourcroydes* Lem). En A. Cassals. Methods and markers for Quality assurance in micropropagation. Ed. University College, CorkIreland.
37. Rodríguez M, I. 2016. El henequén (*Agave fourcroydes* Lem.): un cultivo promisorio en el desarrollo de una agricultura sostenible. Matanzas. Monografía en opción al título de Máster en Ciencias Agrícolas. Universidad de Matanzas.
38. Sankoumba F, M. 2014. Evaluación del comportamiento de la propagación *in vitro* de nuevas accesiones (Subinerme y C-97) de henequén (*Agave fourcroydes* Lem). Tesis (en opción al título científico de Master en Ciencias Agrícolas).
39. Sosa del Castillo, Maryla; Alemán G, Silvia; Pérez H, Y.; Abreu C, E.; Sosa del Castillo, Daynet; González O, G. 2014. Caracterización de la lámina foliar de plantas de *Agave fourcroydes* Lem. Obtenidas por propagación asexual. Biotecnología Vegetal. 14 (1).
40. Sosa del Castillo, M. 2011. Evaluación en vivero del comportamiento de posturas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem). Procedentes de diferentes vías de propagación. 74h. Tesis en opción al título de Máster en Ciencias Agrícolas). Universidad de Matanzas.
41. Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology, 4th Ed. Sinauer, Sunderland, M. A. 660 p.
42. Terry, Caridad; Castellanos G, Leónides; Maritza Hernández Castellanos. 2015. Posibilidades del henequén (*Agave fourcroydes*) para el control de plagas de los cultivos. Agroecosistemas. 3(2): 514-524.
43. Torres, J y Mogollón, N. 2002. Efecto del Pbz sobre la brotación y el desarrollo *in vitro* de la epidermis foliar de *Cattle yamossiae parker ex hooker* previo a la aclimatización. Bioagro 14(1): 25-28.
44. UNIÓN. 2014. El Henequén: El oro verde de la Península [en línea]. <http://archivo.unionyucatan.mx/articulo/2014/01/06/economia/henequenel-oro-verde-de-la-peninsula> [Consulta: 6 de junio 2018].

45. Valle del, Raymundo E. y Díaz Ramírez, B. 1994. Propagación clonal de plantas por cultivo de tejidos. Experiencias sobre propagación *in vitro* de plantas. Oxaca. Instituto Tecnológico Agropecuario. Cuadernos de los centros No 1. p. 11-12
46. Vinent, S, E.; Valdés T, C.; Grillo R, O. 1998. Análisis de las alternativas para la producción de henequén en Cuba. Proyección 1998-2007. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". 19 p.
47. Vinent, E.; Fajardo, O. 2009. Estrategia para el mejoramiento genético de *Agaves* en Cuba. Temas de ciencia y tecnología. p. 37-43.
48. Yanes, A. 2015. Evaluación del efecto del fertilizante foliar "Plantos verde" en el crecimiento y desarrollo de plántulas de henequén *Agave fourcroydes*, Lem.) en la fase de previvero. 66h. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas.