

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA



FACULTAD DE AGRONOMIA

ESCUELA DE PRODUCCION VEGETAL

## TRABAJO DE DIPLOMA

**Estudio preliminar del cultivo *in vitro* de ápices caulinares de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* L. Shott).**

**AUTORES:** MARIA AUXILIADORA LOPEZ  
ILEANA CASTILLO

**ASESOR:** Ing. Agr. Mag. Sc. José Dolores Cisne Contreras

**Managua, Nicaragua, 1996.**

# **UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

## **FACULTAD DE AGRONOMIA**

### **ESCUELA DE PRODUCCION VEGETAL**

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

**Estudio preliminar del cultivo *in vitro* de ápices caulinares de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* L. Shott).**

**AUTORES:                    MARIA AUXILIADORA LOPEZ  
                                     ILEANA CASTILLO**

**ASESOR:                    Ing. Agr. Mag. Sc. José Dolores Cisne Contreras**

**Trabajo presentado a Universidad Nacional Agraria como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo con orientación en Producción Vegetal, siendo evaluada por el Honorable Tribunal Examinador compuesto de la siguiente manera:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Managua, Nicaragua, 1996**

---

## DEDICATORIA

- *A Dios:* por darme la fuerza y la perseverancia, los anhelos de superación y así terminar mis estudios y trabajo de Diploma.
- *A mis queridos padres:* José Antonio López Silva y Juana del Socorro Zúniga López por su grandioso apoyo moral y material en toda mi formación educativa.
- *A mis hermanas:* María Auxiliadora y Grissell Carolina que de una u otra forma me apoyaron para finalizar esta etapa en mi formación profesional.

De igual forma al: Br. Bismarck José García por su amor y apoyo incondicional.

María Auxiliadora López Zúniga

El presente trabajo lo dedico con extrema sinceridad y amor a Dios por haberme dado vida, fe y esperanza para culminar mi formación educativa.

- *A mi madre:* Teodolinda Castillo González que desde niña me educó con cariño y dedicación inculcándome los principios de honestidad, respeto y confianza que ahora hacen posible la culminación de mis estudios.
- *A mi hermana:* Lic. Jeannette Herrera Castillo baluarte fundamental en mi educación y formación profesional.
- *A mis hermanos:* Ismenia, Reynaldo, Angela y a mis queridos *sobrinos* Offsman, Yanelkis, Kenia y Yaoska que de una u otra forma me brindaron su apoyo durante la realización de este trabajo.

Muy en especial al recuerdo de *mi querida hijita:* Martha Selene Valdivia Castillo (q.e.p.d.) que llegó a ser la motivación más grande de mi vida y superación profesional.

Heana Castillo

## AGRADECIMIENTOS

*Deseamos expresar nuestro mas sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones que con su apoyo hicieron posible la realización de este trabajo.*

- Al Ing. Agr. Mag. Sc. José Dolores Cisne que en su calidad de asesor nos guió y orientó brindándonos sus conocimientos profesionales sin los cuales no se hubiera hecho realidad este trabajo.
- Al Ing. Agr. Marbel Aguilar Maradiaga, al Ing. Agr. M.Sc. Guillermo Reyes y al Ing. Agr. Javier Cruz Marín que de una u otro forma nos brindaron su ayuda durante la realización de este trabajo.
- Al Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN) por facilitarnos los medios necesarios para desarrollar el estudio sin dificultades.
- A la Lic. Maritza Espinales bibliotecaria del CENIDA, por su apoyo en la búsqueda de información.
- A la Universidad Nacional Agraria (UNA) y Escuela de Producción Vegetal.
- A todos los docentes de la Escuela de Producción Vegetal quienes contribuyeron en nuestra formación profesional.

*De María Auxiliadora López a las siguientes personas:*

- A la Prof. Leonor Mayorga Suazo y familia por darme su apoyo moral, material y mano amiga en el transcurso de mis estudios y trabajo de diploma .

A la Lic. Alba Luz Gómez y familia por brindarme su apoyo y motivación.

*De Ileana Castillo a las siguientes personas:*

- A mi esposo: Ing. Agr. Pedro Antonio Valdivia Lorente, por su cariño, comprensión y ayuda brindada.

Lic. Patricia Pineda por su amistad y apoyo incondicional durante todos estos años de esfuerzos y sacrificios para ver coronada mi carrera profesional.

## INDICE GENERAL

Sección .....	Página
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
INDICE GENERAL	
INDICE DE TABLAS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
INDICE DE ANEXOS .....	iii
RESUMEN.....	iv
I INTRODUCCION.....	1
II MATERIALES Y METODOS .....	3
2.1 Manejo de semilla para la reproducción de plantas madres.....	3
2.2 Esterilización de materiales y equipos .....	3
2.3 Medios de cultivo .....	4
2.4 Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección de ápices de quequisque .....	4
2.5 Efecto del BAP sobre la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque .....	7
2.6 Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA, BAP y su influencia en .....	
la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque.....	8
2.7 Efecto de la sacarosa sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque.....	9

2.8	Efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia de tres 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque .....	10
2.9	Efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque.....	12
2.10	Adaptación de las <i>vitro plantas</i> a condiciones de vivero.....	13
III	RESULTADOS.....	14
3.1	Efecto de las diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque .....	14
3.2	Efecto de las concentraciones de BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque.....	16
3.3	Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP con respecto al tiempo y su influencia en la tasa de crecimiento.....	17
3.4	Efecto de la sacarosa en diferentes concentraciones sobre el incremento en altura de ápices caulinares de quequisque .....	20
3.5	Efecto de las consistencias del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia de 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque .....	21
3.5.1	Número de yemas.....	21
3.6	Efecto del AIA en la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque .....	22
3.6.1	Número de raíces .....	22
3.7	Adaptación de las plantas de quequisque a condiciones de vivero .....	23
IV	DISCUSION.....	24
4.1	Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de contaminación en ápices caulinares de quequisque .....	24
4.2	Efecto de las concentraciones de BAP en la tasa de crecimiento en ápices de quequisque.....	26

4.3	Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP y su influencia en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque .....	27
4.4	Efecto de la sacarosa sobre la tasa de crecimiento.....	29
4.5	Efecto de la consistencia del medio nutritivo semisólido y líquido en presencia de 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque .....	30
4.6	Efecto del AIA en la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque .....	31
V	CONCLUSIONES.....	32
VI	RECOMENDACIONES.....	33
VII	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	34
VIII	ANEXOS.....	38

## INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Página
1	Constituyentes del medio básico de Murashige y Skoog, 1962 ..... 4
2	Diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio utilizadas sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque aplicadas en 9 tratamientos..... 5
3	Estudio de diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio utilizadas sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque aplicada en 6 tratamientos ..... 5
4	Concentraciones de BAP estudiadas en la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque ..... 7
5	Estudio del efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque ..... 8
6	Consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) estudiadas sobre la tasa de ahijamiento..... 10
7	Concentraciones de AIA estudiadas en la tasa de enraizamiento ..... 12
8	Comportamiento del número de yemas para el efecto de las consistencias del medio nutritivo..... 21



## INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Página
1	Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección de ápices de caulinares de quequisque en tres periodos ..... 15
2	Efecto del Hipoclorito de Sodio, sobre la tasa de desinfección de ápices caulinares de quequisque en un período de 7 días después de la siembra..... 16
3	Influencia del tiempo sobre la tasa de crecimiento ..... 17
4	Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en la primera semana después de la siembra ..... 18
5	Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP con respecto al tiempo sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en la segunda semana después de la siembra..... 19
6	Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de en la tercera semana después de la siembra..... 19
7	Efecto de la sacarosa en diferentes concentraciones sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque ..... 20
8	Efecto de las consistencias del medio nutritivo (semisólido y líquido ) sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque ..... 21
9	Efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque..... 22

## INDICE DE ANEXOS

Tabla N°	Página
1A	ANDEVA realizado a los datos del efecto del Hipoclorito de Sodio en concentraciones de 2.5 % a 22.5 % sobre la desinfección en ápices caulinares de quequisque en el primer subcultivo..... 38
2A	ANDEVA realizado a los datos del efecto del Hipoclorito de Sodio, en concentraciones de 25 % a 10 % sobre la desinfección de ápices caulinares de quequisque en el primer subcultivo ..... 38
3A	ANDEVA realizado a los datos del efecto del BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el segundo subcultivo ..... 39
4A	ANDEVA realizado a los datos del efecto posterior del Hipoclorito de Sodio ANA y BAP con respecto al tiempo y su influencia en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el tercer subcultivo ..... 40
5A	ANDEVA realizado a los datos del efecto de la sacarosa sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el cuarto subcultivo ..... 41
6A	Prueba de t-student realizada a los datos del efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia de 3 mg/l de BAP en el quinto subcultivo ..... 41
7A	ANDEVA realizado a los datos del efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento de ápices caulinares de quequisque en el sexto subcultivo ..... 41

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN-UNA). En los ensayos realizados fueron estudiados 9 concentraciones de hipoclorito de sodio en la desinfección de los explantes de quequisque y se determinó que concentraciones entre 55% y 70% v/v, fueron las más adecuadas. Sin embargo, al estudiar el efecto del BAP, ANA y el efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de crecimiento del tallo, se observó que las altas concentraciones de Cloro utilizados en el proceso de desinfección del explante y la utilización de ANA en el medio nutritivo de establecimiento reducen la tasa de crecimiento. Por otra parte se observó que las concentraciones de BAP utilizadas no tuvieron ningún efecto sobre la tasa de crecimiento. En el estudio del efecto de 4 concentraciones de sacarosa (23 g, 30 g, 37 g y 44 g) las plantas mostraron una tasa de crecimiento similar. En la tasa de multiplicación acelerada, donde se estudió el efecto de la consistencia del medio sobre el ahijamiento no se observó diferencias y en la tasa de enraizamiento donde se evaluaron 3 niveles de AIA (0.0 mg/l, 0.05 mg/l y 0.1 mg/l). También no se encontró diferencia en cuanto a la formación de raíces. El comportamiento de las *vitroplantas* de quequisque en condiciones de vivero reflejó resultados satisfactorios las cuales mostraron una buena capacidad de adaptación siguiendo un normal crecimiento y desarrollo.

## I INTRODUCCION

El quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) pertenece a la familia Aráceae, género *Xanthosoma*. Es originario de América (Montaldo, 1983; Zada *et al.*, 1995). Es de clima tropical y subtropical por lo que se adapta a diversas condiciones ecológicas. Sin embargo algunos factores ambientales afectan el cultivo los que se reflejan fundamentalmente en la tuberización que es influenciado por la temperatura, fotoperíodo, disponibilidad de agua, elementos nutricionales y otros (Blanco, 1987).

La propagación de este cultivo se efectúa vegetativamente plantando secciones de cormos (Montaldo, 1983; IICA, 1989). Una de las desventajas de este método de propagación es que no es efectivo para mantener genotipos libres de enfermedades debido que al propagar vegetativamente también se diseminan las enfermedades (Salazar, 1991).

En Nicaragua se cultiva quequisque en Sébaco, Nueva Guinea, Masaya, Carazo, Río San Juan y en algunas áreas de los departamentos de Granada y Rivas (Blanco, 1987). La estación experimental de Nueva Guinea cuenta con un jardín de colecta de 90 accesiones, 87 de las cuales provienen del CATIE y las tres restantes de Nueva Guinea (MIDINRA, 1984)

El quequisque ha sido un cultivo de subsistencia lo que ha implicado su marginación (Giacometti y León, 1992).

Muchos productores principalmente en el trópico húmedo ante la posibilidad de exportar quequisque y las perspectivas de mejorar sus ingresos tratan de intensificar el cultivo utilizando técnicas tradicionales que sólo satisfacen el mercado local y el autoconsumo. Sin embargo es necesario generar y adoptar técnicas apropiadas en este cultivo para mejorar y aumentar su producción y productividad en estas áreas; sin que estas prácticas tengan efectos negativos en ecosistemas frágiles como es el trópico húmedo (Cisne *et al.*, 1994).

Las características agrícolas del quequisque han contribuido al desarrollo de este cultivo y adquirido una importancia económica, en este sentido se destacan los siguientes aspectos: alto potencial de rendimiento, resistencia a plagas y enfermedades, alto poder de conservación en

condiciones naturales, tamaño extremadamente pequeño del grano de almidón lo que permite que sea recomendado como dieta alimenticia por su alta digestibilidad (Blanco, 1984).

El quequisque y otras especies del género *Xanthosoma* en la actualidad han ganado un valor excepcional como alimento debido a sus características organolépticas y propiedades nutritivas.

El cultivo de tejidos vegetales es una solución viable para resolver algunos de los problemas mencionados anteriormente. En los últimos años el desarrollo de la técnica de micropropagación ha tenido gran éxito y permite obtener grandes volúmenes de plantas libres de plagas y enfermedades las cuales poseen mayor vigor y homogeneidad genética (Hurtado y Merino, 1994).

Dadas las ventajas que el cultivo de tejidos representa para la agricultura se realizó este trabajo con los siguientes objetivos:

- 1- Estudiar el efecto del hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones sobre la desinfección de ápices caulinares de quequisque.
- 2- Estudiar el efecto del BAP (6-Bencil Amino Purina), sobre la tasa de crecimiento de los ápices caulinares de quequisque.
- 3- Estudiar el efecto posterior del hipoclorito de sodio, ANA (Acido Naftalenacético), BAP y su influencia en la tasa de crecimiento de los ápices caulinares de quequisque.
- 4- Estudiar el efecto de la sacarosa en distintas concentraciones sobre la tasa de crecimiento de quequisque.
- 5- Estudiar el efecto de la consistencia del medio (sólido, líquido) sobre la tasa de ahijamiento de quequisque.
- 6- Estudiar el efecto del AIA en diferentes concentraciones sobre la tasa de enraizamiento de quequisque.
- 7- Observar el comportamiento de las *in vitro* plantas en su adaptación a condiciones de vivero.

## II MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), Facultad de Agronomía (FAGRO) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) ubicada en el km. 12 y 1/2 carretera norte, Managua en el período comprendido entre los meses de febrero a octubre de 1994.

### 2.1 *Manejo de semilla para la reproducción de plantas madres*

Con el objetivo de aumentar la cantidad de plantas madres (plantas donadoras de explantes) para el establecimiento de cultivo *in vitro* se procedió a multiplicar los mismos en condiciones de vivero. Se realizaron dos propagaciones. La primera se realizó en canteros de arena de río. Previo al establecimiento de la semilla la arena se esterilizó aprovechando la luz solar. Para alcanzar altas temperaturas, primeramente se humedeció la arena y posteriormente se procedió a cubrir el cantero con un plástico transparente logrando alcanzar temperaturas de 75 °C en las horas de mayor radiación solar, el tratamiento se mantuvo por 8 días. Seguidamente se realizó la siembra de las yemas utilizándose para tal fin trozos de cormelos de quequisque con peso de 200 g aproximadamente, que contenían dos yemas. La siembra se realizó a una profundidad de 2 cm y a una distancia de 5 cm entre cormelo y cormelo, se aplicó riego diariamente. Debido a las dificultades que presentó la arena en la retención de humedad lo cual afectó en la primera siembra la germinación y crecimiento, se procedió a realizar otra siembra con manejo similar a la anterior donde las yemas de quequisque se establecieron en maceteras de barro y plástico usando como sustrato una mezcla 1:1 de tierra y arena.

### 2.2 *Esterilización de materiales y equipos*

La esterilización de pinzas, placas petri, escalpelos y tubos de ensayo se realizó en horno a 170 °C durante 1 hora. Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121 °C y a una atmósfera de presión durante 20 minutos. Antes de realizar la siembra se esterilizaba la cámara de flujo laminar con luz ultravioleta durante 45 minutos. 15 minutos después que se apagaba la luz ultravioleta se iniciaba la siembra *in vitro* para evitar que las radiaciones de la luz ultravioleta ocasionara daños al operario. La cámara de flujo laminar se limpió con alcohol al 70 %. Así mismo éste fue empleado para desinfectarse las manos durante la incubación de los explantes en los tubos de ensayo.

### 2.3 Medios de cultivo

Como medio de cultivo se utilizó el medio de Murashige y Skoog, 1962 (Tabla 1).

Tabla 1. Constituyentes del medio básico de Murashige y Skoog, 1962.

Solución	Constituyentes	Cant/const. Solución madre (g)	MASA Concentración final (g)	Vol/Sol madre/ L de medio basal
1	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	24.75	1650	20
	KNO <sub>3</sub>	28.5	1900	
	Mg SO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	5.55	370	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.55	170	
2	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.62	6.2	10
	MnSO <sub>4</sub>	2.176	22.3	
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O Na <sub>2</sub>	0.86	8.6	
	MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.025	0.25	
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.0025	0.025	
	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.015	0.025	
3	KI	0.075	100 ml/0.83 mg	3
4	CaCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	15	100 ml/440 mg	2.9
5	Na <sub>2</sub> EDTA	1.49	2037.3	5
	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1.1		
6	Tiamina- HCl	0.02	200 (1mg 0.5 mg)	10
7	Mioinositol	100 mg/l	0.01 mg	

Fuente: Murashige y Skoog, 1962.

Los medios de cultivo se prepararon en beakers diluyendo todas las muestras de soluciones madres en el orden que aparecen (Tabla 1) en agua destilada y desionizada. Posteriormente las soluciones se homogenizaron en el agitador electromagnético. El pH se ajustó a 5.7 con adición de soluciones tampón ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 Normal e hidróxido de potasio (KOH) al 0.5 Normal. Para solidificar el medio nutritivo se empleó difco-bacto-agar a razón de 7 g/l, también se le adicionó agua de coco 100 ml/l, sacarosa 30 g/l. Posteriormente se vertieron 10 ml de las variantes de medio en cada tubo de ensayo, de 10 cm de largo por 2 cm de diámetro.

### 2.4 Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección de ápices de quequisque.

Para determinar el efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección se establecieron dos ensayos.

En el primer ensayo se estudiaron 9 concentraciones de Hipoclorito que van desde 2.5% hasta 22.5 % V/V.(Tablas 2).

**Tabla 2. Diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio utilizadas sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque aplicadas en 9 tratamientos.**

Tratamientos	Concentraciones de Hipoclorito de Sodio % V/V
1	2.5
2	5
3	7.5
4	10
5	12.5
6	15
7	17.5
8	20
9	22.5

Como resultado del primer ensayo se estableció un segundo ensayo en el que las concentraciones de Hipoclorito de Sodio iban de 25 %V/V a 100 % V/V (Tabla 3).

**Tabla 3. Estudio de diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque aplicadas en 6 tratamientos.**

Tratamientos	Concentraciones de Hipoclorito de Sodio % V/V
1	25
2	40
3	55
4	70
5	85
6	100

### **Extracción y desinfección del material vegetal**

Para la obtención de los ápices caulinares se seleccionaron plantas provenientes de canteros de arena de 10 a 15 cm de altura que mostraron un buen desarrollo fisiológico, el mismo día de la siembra *in vitro*. Posterior a su selección las plantas donadoras de explantes fueron trasladadas a laboratorio en donde se procedió a retirarles las hojas y raíces luego fueron seccionadas y reducidas a un tamaño aproximadamente de 2 cm de longitud. Seguidamente se enjuagaron con agua de cañería y jabón líquido utilizando un beaker de 1000 ml; ubicando éste bajo el grifo de agua con el objetivo de retirar el polvo y otras partículas. Posteriormente se realizó la desinfección de los explantes. En 9 beakers de 100 ml con cinco explantes dada uno,



se procedió a preparar individualmente las concentraciones de Hipoclorito de Sodio para cada tratamiento (Tablas 2 ). En cada beaker se agregaron dos gotas de shampoo por cada 100 ml de agua, luego se agitaron durante un tiempo de 10 minutos en agitador electromagnético, para aumentar la penetración del Hipoclorito de Sodio en el tejido vegetal. En el segundo ensayo se seleccionaron plantas provenientes de maceteras de barro y plástico; en este ensayo la extracción y desinfección del material fue similar al ensayo anterior con la diferencia que se utilizaron mayores concentraciones de Hipoclorito de Sodio (Tabla 3).

Posteriormente se trasladaron los beakers que contenían los explantes a la cámara de flujo laminar donde se procedió a enjuagar tres veces con agua destilada y esterilizada para eliminar los residuos de shampoo e Hipoclorito de Sodio.

### **Establecimiento de los explantes**

Posterior a la desinfección se inició la inoculación de los explantes realizando la extracción sobre cajas petri estériles con ayuda de pinzas y escalpelos en la cámara de flujo laminar. Cada yema se inoculó individualmente en un tubo de ensayo que contenía 10 ml de medio de cultivo Murashige & Skoog, 1962. Después de la siembra del material vegetativo los explantes se transfirieron al cuarto de crecimiento a temperatura de  $24 \pm 1$  °C, intensidad lumínica de 2500 lux, fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad y humedad relativa del 72 %.

### **Variables evaluadas**

**Tasa de Contaminación:** Para esta variable se procedió a contar el número de explantes contaminados y no contaminados de forma visual. Este conteo se realizó en 3 periodos: 3 días, 5 días y 7 días después de la siembra.

**Diseño experimental y análisis estadístico de los resultados del ensayo de desinfección de ápices caulinares de quequisque.**

Para determinar el efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección de los ápices caulinares de quequisque se realizaron 2 ensayos, los cuales se establecieron a través de los siguientes modelos de regresión:

a) Para el primer ensayo se utilizó el siguiente modelo de regresión múltiple cuya ecuación es:

$$Y = a + b(x_1) + c(x_2) \text{ donde:}$$

Y = porcentaje de contaminación.

$x_1$  = concentraciones de Hipoclorito de Sodio (Tabla 2).

$x_2$  = tres periodos: 3, 5 y 7 días después de la siembra.

La evaluación se realizó en 3 periodos 3, 5 y 7 días después de la siembra con 9 tratamientos y 5 repeticiones. Los resultados se analizaron en el paquete SAS (*Statistical Analysis System*).

b) En el segundo ensayo se utilizó el modelo de regresión simple cuya ecuación es:  $Y = a - bx$ .

Donde:

Y = porcentaje de contaminación.

x = concentraciones de Hipoclorito de Sodio (Tabla 3).

La evaluación se realizó en un periodo de 7 días después de la siembra *in vitro*.

con 6 tratamientos 10 repeticiones. Los resultados se procesaron en el paquete SAS.

**2.5 Efecto del BAP sobre la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque.**

Para este estudio se tomaron *in vitro* plantas provenientes del primer ensayo de desinfección en el cual se evaluaron 4 niveles de BAP (Tabla 4).

**Tabla 4. Concentraciones de BAP estudiadas en la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque.**

Medio Básico	BAP (mg/l)
MS	0.0
MS	0.1
MS	0.5
MS	1.0

***Variables evaluadas en el estudio del efecto de las concentraciones de BAP sobre la tasa de crecimiento***

**Altura de planta (cm):** Se midió con una regla graduada cada *vitro planta* desde la base del tallo hasta la yema apical.

**Análisis estadístico de los resultados del estudio del efecto del BAP sobre la tasa de crecimiento**

Se utilizó el modelo de regresión simple cuya ecuación es:

$$Y = a + b x$$

Donde: Y = tasa de crecimiento

x = tiempo en días

**2.6 Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA, BAP y su influencia en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque.**

Se estudió la relación ANA, BAP e Hipoclorito de Sodio en diferentes concentraciones. Para este estudio se utilizaron *vitro plantas* provenientes del segundo ensayo en el cual se evaluó el grado de desinfección del Hipoclorito de Sodio (Tabla 3).

**Tabla 5. Estudio del efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, BAP y ANA sobre la tasa de crecimiento de ápices caulinares de quequisque**

<b>CONCENTRACIONES DE HIPOCLORITO DE SODIO</b>											
<b>25 % V/V</b>		<b>40 % V/V</b>		<b>55% V/V</b>		<b>70% V/V</b>		<b>85% V/V</b>		<b>100% V/V</b>	
<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>	<b>ANA (mg/l)</b>	<b>BAP (mg/l)</b>
0.3	1	0.3	1	0.3	1	0.3	1	0.3	1	0.3	1
0.6	1	0.6	1	0.6	1	0.6	1	0.6	1	0.6	1
0.9	1	0.9	1	0.9	1	0.9	1	0.9	1	0.9	1
0.3	2	0.3	2	0.3	2	0.3	2	0.3	2	0.3	2
0.6	2	0.6	2	0.6	2	0.6	2	0.6	2	0.6	2
0.9	2	0.9	2	0.9	2	0.9	2	0.9	2	0.9	2

Los medios nutritivos con las diferentes concentraciones de ANA y BAP (Tabla 5) se prepararon en agua destilada y desionizada. Seguidamente las soluciones se homogenizaron a través de un calentador y agitador electromagnético. Se ajustó el pH a 5.7 con ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) al 0.5 N; como gelificante se empleó difco-bacto-

agar a razón de 7 g/l. Posteriormente se vertió 10 ml de variante de medio en cada tubo de ensayo de 10 cm de largo por 2 cm de diámetro.

#### **VARIABLES EVALUADAS**

- **Altura de planta:** Se midió con una regla graduada en centímetros cada *vitro planta* desde la base del tallo hasta la yema apical.
- **Número de hojas:** Se contabilizó visualmente el número de hojas existentes en cada planta.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Se utilizó el modelo de regresión múltiple cuya ecuación es:

$$Y = a + bx_1 + cx_2 + dx_3$$

Donde:

Y = tasa de crecimiento

x<sub>1</sub> = cloro

x<sub>2</sub> = ANA

x<sub>3</sub> = tiempo

#### **2.7 Efecto de las sacarosa sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque**

Se estudió el efecto de las concentraciones de sacarosa (23 g, 30 g, 37 g y 44 g). Los medios nutritivos con las diferentes concentraciones de sacarosa se prepararon en un beaker diluyendo todos los constituyentes en agua destilada y desionizada. Seguidamente las soluciones se homogenizaron a través de un calentador y agitador electromagnético, el pH se ajustó a 5.7 con soluciones tampón de ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) al 0.5 N. Como gelificante se empleó difco-bacto-agar a razón de 7 g/l; también se le agregó 100 ml de agua de coco. Posteriormente se vertió 10 ml de variante de cada medio nutritivo en cada tubo de ensayo.

### Extracción y desinfección del material vegetal

Las plantas utilizadas para este estudio procedían del campo. Los procedimientos de extracción y desinfección del material vegetal fueron similares a los utilizados en el ensayo de desinfección. A diferencia que se utilizaron las concentraciones de Hipoclorito de Sodio V/V de concentraciones de 55-70 % que resultaron ideales en el segundo ensayo en el cual se logró una buena desinfección de los ápices de quequisque sin que éstos provocaran daños al tejido.

### Establecimiento de los explantes

Posterior a la desinfección se inició la inoculación de los explantes realizando la manipulación de éstos sobre cajas petri estériles con ayuda de pinzas y escalpelos en la cámara de flujo laminar. 40 explantes se sembraron de forma individual en tubos de ensayo, los cuales fueron flameados antes y después de la inoculación del explante.

Los tubos de ensayo se depositaron en gradillas y se trasladaron al cuarto de crecimiento donde permanecieron 4 semanas a temperatura de  $24 \pm 1$  °C, intensidad lumínica de 2500 lux, fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad y humedad relativa del 72 %.

### Variables evaluadas

**Altura:** Se midió con una regla graduada cada *vitro planta* desde la base del tallo hasta la yema apical, por un período de 4 semanas.

**Número de hojas:** Se enumeró visualmente la cantidad de hojas existentes en cada planta.

**Color de las hojas:** Se contabilizó visualmente todas las hojas completamente verdes y desarrolladas.

### 2.8 Efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia de 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque.

Para la realización de este ensayo se procedió a micropropagar cada *vitro planta* desarrollada en el ensayo anterior.

**Tabla 6.** Consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) estudiadas sobre la tasa de ahijamiento.

Medio nutritivo	BAP (mg/l)	Consistencia
MS	3	semisólida
MS	3	líquida

Los medios de cultivo con las concentraciones de BAP (Tabla 5) se prepararon en beakers diluyendo todos los constituyentes en agua destilada y desionizada. Seguidamente las soluciones se homogenizaron a través un calentador y agitador electromagnético y se les ajustó el pH a 5.7 con ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) al 0.5 N. Al medio de consistencia semisólida se le agregó difco-bacto-agar a razón de 7 g/l el cual fue disuelto en calentador y agitador electromagnético hasta su ebullición. Inmediatamente se vertió 30 ml de variante de medio en cada frasco. El medio de consistencia líquida se disolvió en agua esterilizada y desionizada, vertiéndose 30 ml de variante en cada frasco.

### **Establecimiento del material vegetal**

Las *in vitro* plantas se dividieron en secciones de tejidos de 1.5 - 2 cm aproximadamente, se les eliminó las hojas y raíces dejando únicamente las secciones de tejidos con yemas axilares y apicales. Esta operación se realizó en la cámara de flujo laminar. Se inició la inoculación manipulando los explantes sobre cajas petri, apoyados con pinzas y escalpelos. Se sembraron dos secciones de tejidos en frascos de 11 cm de longitud por 6.8 cm de diámetro y magentas de 6.5 cm de base y 7.5 cm en la parte superior con dos medios nutritivos.

### ***Diseño Experimental y Análisis Estadístico***

El ensayo se estableció en un Diseño Completamente al Azar (D.C.A.)

### **Variables evaluadas en el efecto del BAP en la tasa de ahijamiento**

**Número de yemas:** Se contabilizaron todas las yemas completamente desarrolladas.

### **Análisis estadístico de los resultados del estudio del efecto del BAP en la tasa de ahijamiento**

Se utilizó una prueba de separación de medias t-student al 0.5 % de significancia.

## 2.9 Efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque

Tabla 7. Concentraciones de AIA estudiadas en la tasa de enraizamiento.

Medio básico	AIA (mg/l)	Consistencia
MS	0.0	semisólida
MS	0.05	semisólida
MS	0.1	semisólida

Los medios de cultivo con las diferentes concentraciones de AIA (Tabla 7) se prepararon con agua destilada y desionizada, seguidamente las soluciones se homogenizaron a través de un calentador y agitador electromagnético, se ajustó el pH a 5.7 con ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) al 0.5 N. Como gelificante se empleó difco-bacto-agar a razón de 7 g/l, también se le agregó agua de coco 100 ml/l. Posteriormente se vertió 10 ml de variante de medio en cada tubo de ensayo de 10 cm de largo por 2 cm de diámetro.

### Establecimiento del material vegetal

Con el objetivo de obtener plantas para su posterior adaptación a condiciones ambientales o de campo, se procedió a la extracción de las yemas de los frascos obtenidos en el ensayo anterior las cuales fueron seccionadas e inoculadas en los tubos de ensayo. Esta operación se realizó tomando en cuenta todas las medidas asépticas descritas en los ensayos anteriores.

**VARIABLES EVALUADAS EN EL EFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE AIA SOBRE LA TASA DE ENRAIZAMIENTO DE QUEQUISQUE**

**Número de raíces:** Se contabilizaron de manera visual todas las raíces existentes mayores de 0.5 cm a las 4 semanas de establecidos los explantes.

### Diseño experimental y análisis estadístico

El ensayo se estableció en un diseño completamente al azar (DCA) con tres tratamientos y 10 repeticiones. Los resultados obtenidos fueron transformados mediante la forma:

$$Y = \sqrt{n} + 0.5$$

### **2.10 Adaptación de las vitro plantas de quequisque a condiciones de vivero.**

Se seleccionaron 30 vitro plantas con el objetivo de conocer el grado de adaptabilidad de éstas en condiciones de vivero. Las plantas con hojas bien desarrolladas se extrajeron de los tubos de ensayo y se lavaron con agua corriente para eliminar los residuos del agar, luego se plantaron en bolsas de polietileno de 1 kg que contenían tierra. Para evitar la pérdida de humedad éstas fueron transferidas a una cámara de plástico con el objetivo de no exponerlas a la luz directa del sol, después de 3 días se les retiró la cámara plástica, las plantas se dejaron en la sombra. Durante 4 semanas se les suministró riego cada 2 días. Se fertilizaron con la fórmula completa 12 - 30 - 10 una vez por semana. El fertilizante se diluyó a razón de 4 g/l de agua. Cuatro semanas después de haberles retirado la cámara húmeda, las plantas fueron expuestas a la luz solar directa, para que éstas alcanzaran su tamaño y uniformidad antes de que se sembraran en el campo definitivamente.



### III RESULTADOS

#### 3.1 Efecto de las diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de desinfección en ápices caulinares de quequisque

En el análisis estadístico realizado a los datos obtenidos en la variable tasa de desinfección se observó que existe una relación directa en el efecto de las concentraciones de Hipoclorito de Sodio y el tiempo de exposición sobre la reducción de la tasa de contaminación en los ápices caulinares de quequisque (Tablas 1A y 2A).

Mediante el análisis de regresión se observó que concentraciones de 2.5 % de Hipoclorito de Sodio se encontró el mayor porcentaje de contaminación en los tres períodos evaluados. Al tercer día después de la siembra *in vitro* los niveles de contaminación fueron del 36.5 %; a los 5 días después de la siembra *in vitro* estos niveles aumentaron hasta un 50.8 %, y a los 7 días después de la siembra los niveles de contaminación alcanzaron mayores porcentajes hasta llegar a un 67 % de contaminación. A diferencia de concentraciones mayores de 22.5 % de Hipoclorito de Sodio en el que al tercer día estos niveles disminuyeron a un 3.8 %; a los 5 días a un 9 % y a los 7 días a un 17 %. Es importante observar en la (Figura 1) que la tasa de contaminación refleja valores más altos en relación a concentraciones bajas de Hipoclorito de Sodio y mayor tiempo de exposición.

De acuerdo a los resultados obtenidos no es conveniente evaluar el porcentaje de contaminación a los 3 días después de la siembra *in vitro*, ya que es difícil determinar la tasa de contaminación en las primeras 72 horas.

Es importante hacer notar que en este experimento los resultados obtenidos no fueron satisfactorios en cuanto a la reducción de la tasa de contaminación relacionados al tiempo de evaluación por lo que fue necesario realizar un segundo estudio donde se tomó como punto de referencia el tiempo óptimo de evaluación 7 días después de la siembra *in vitro* con la diferencia de que en este segundo estudio se evaluaron concentraciones mayores de Hipoclorito de Sodio.

Los resultados de este estudio se muestran en la (Figura 2.) donde se puede apreciar como disminuyen los porcentajes de contaminación con respecto a las diferentes concentraciones evaluadas y al tiempo. En las concentraciones de 70% V/V y 85 % V/V de Hipoclorito de Sodio los porcentajes de contaminación se reducen al 0 %. No obstante se determinó que las concentraciones ideales para lograr un normal crecimiento y desarrollo de las *vitro plantas* son de 55 % V/V y 70 % V/V de Hipoclorito de Sodio. Concentraciones mayores del 70 % hasta 100 % resultaron ser perjudiciales a las *vitro plantas* ya que éstas presentan una reducción en el crecimiento y desarrollo de los explantes.

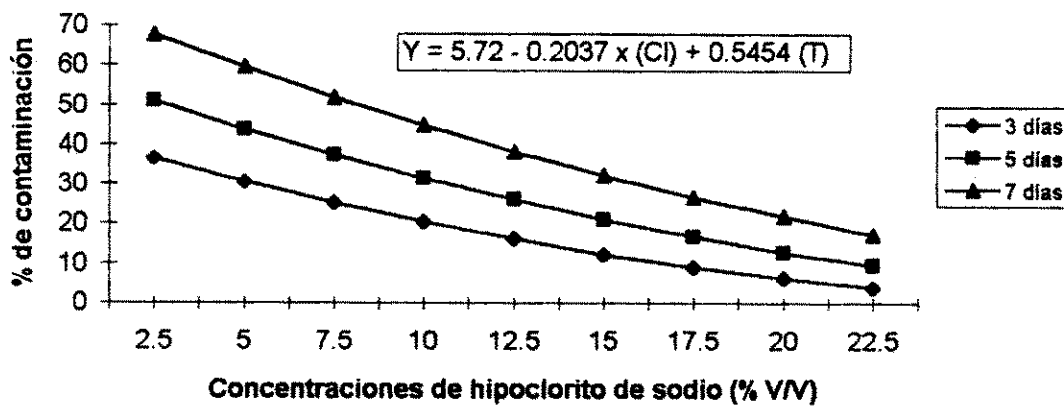


Figura 1. Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la desinfección de ápices de quequisque en tres periodos.

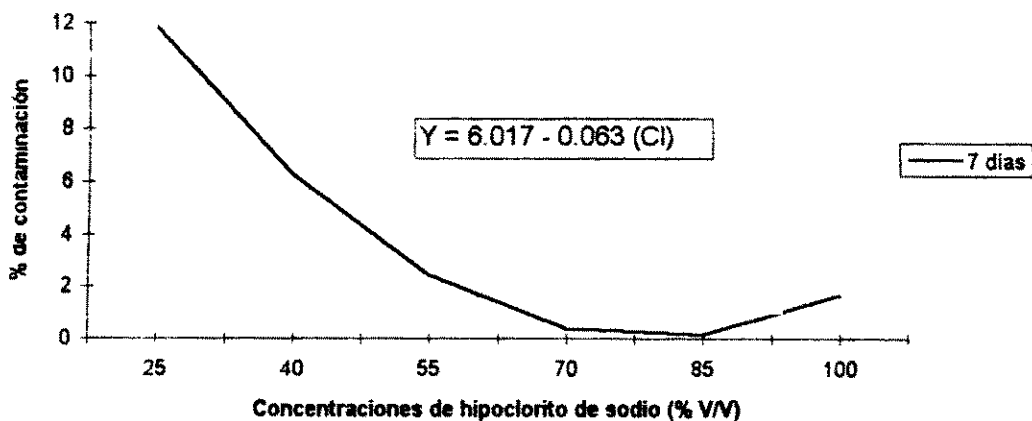
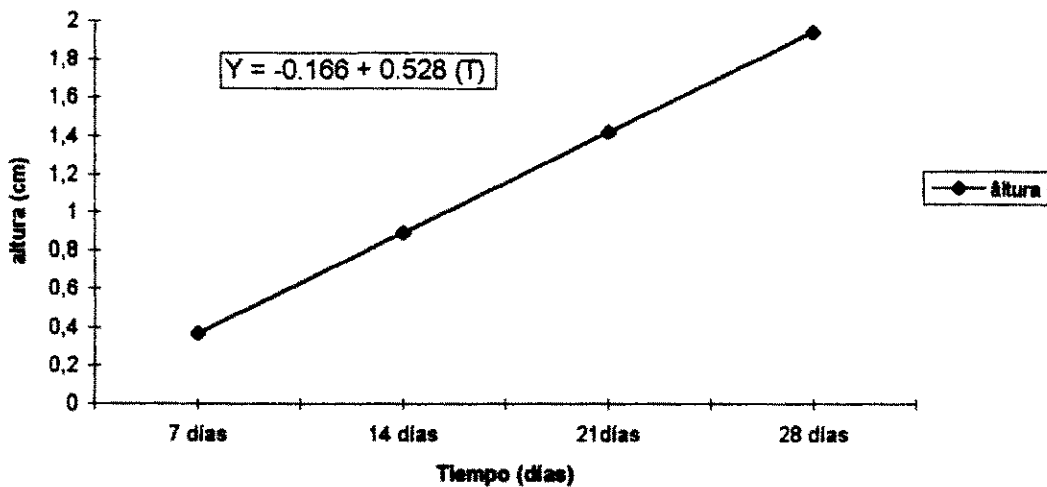


Figura 2. Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de desinfección de ápices caulinares de quequisque en un período de 7 días después de la siembra.

### 3.2 Efecto de las concentraciones de BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque

El análisis de regresión realizado a los datos de la variable altura determinó diferencias altamente significativas con respecto al tiempo no así en las concentraciones de BAP en su influencia sobre el crecimiento (Tabla 3A). El tiempo está relacionado con la variable altura. Se puede observar que a medida que se incrementa el tiempo el incremento en altura es mayor, por el contrario las diferentes concentraciones de BAP utilizadas no ejercen ninguna influencia en el crecimiento.



**Figura 3. Influencia del tiempo sobre la tasa de crecimiento**

La figura muestra la expresión del crecimiento a una velocidad logarítmica con respecto al tiempo.

### ***3.3 Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP, con respecto al tiempo y su influencia en la tasa de crecimiento***

En el análisis realizado a la variable altura de planta se observaron diferencias altamente significativas en relación al Hipoclorito de Sodio, ANA y tiempo. Estadísticamente el BAP no influyó significativamente el crecimiento. Concentraciones de BAP y ANA están directamente relacionadas con la tasa de crecimiento. Numéricamente la adición de 1 y 2 mg/l de BAP y concentraciones bajas de ANA (0.3 mg/l) reflejan una mayor altura sobre la tasa de crecimiento. Es una característica de las auxinas el que a concentraciones bajas estimulen el metabolismo y desarrollo. Se muestra un efecto negativo en el crecimiento al aumentar las

concentraciones de ANA, esto se debe a que concentraciones altas de auxinas se deprime el proceso metabólico por ende el crecimiento y desarrollo de la planta (Tabla 4A).

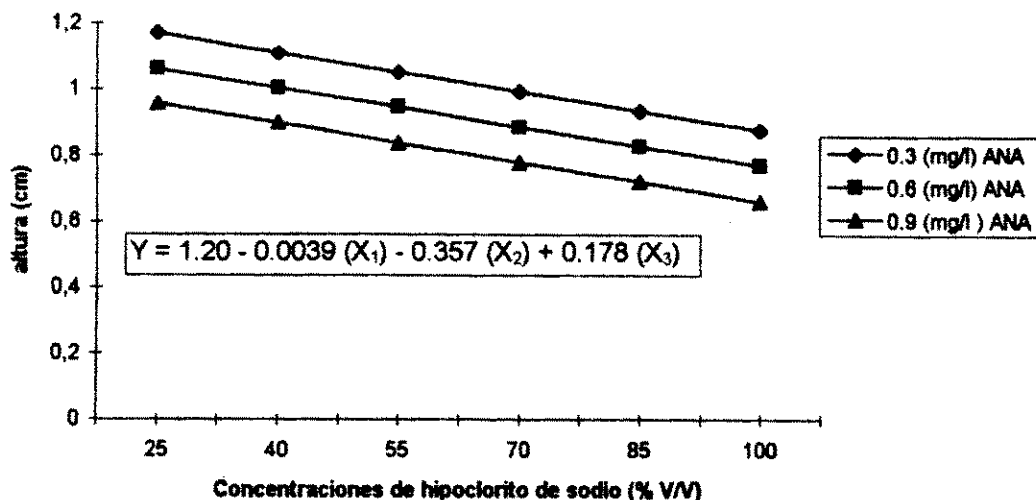
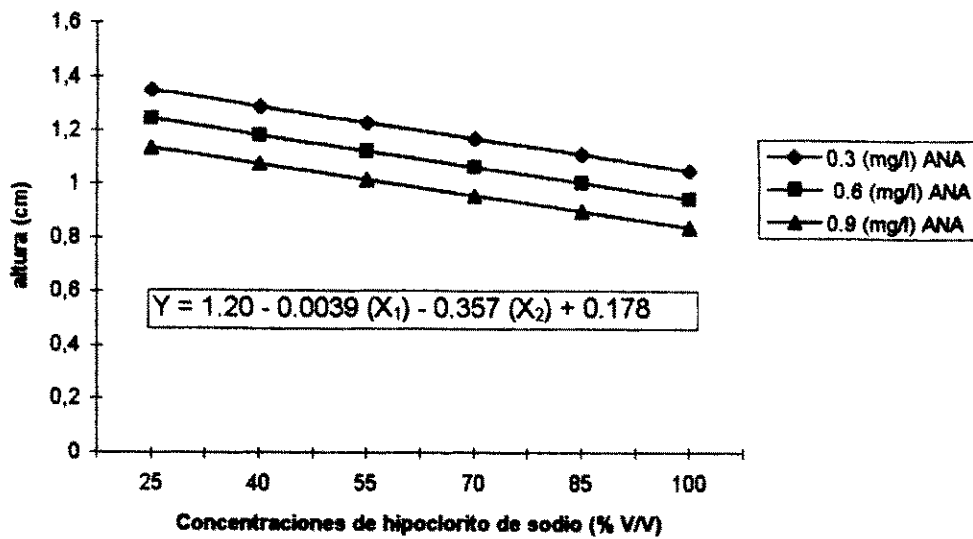
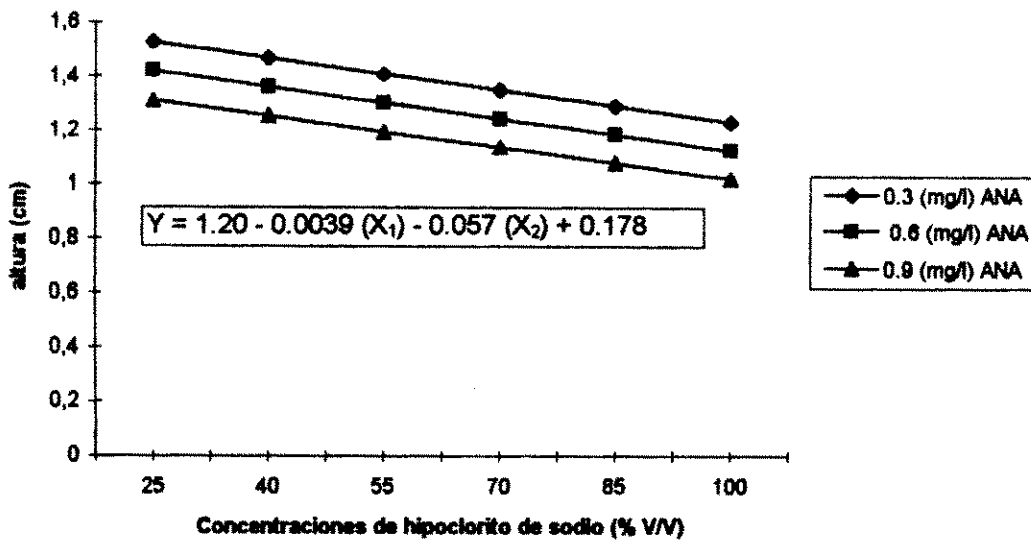


Figura 4. Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en la primer semana después de la siembra.

La tasa de crecimiento es influenciada por las concentraciones de Hipoclorito de Sodio y ANA. En la figura se observa que bajas concentraciones de ANA (0.3 mg/l) estimulan un mayor crecimiento. La velocidad de crecimiento va disminuyendo en relación con las concentraciones de Hipoclorito de Sodio. El crecimiento es mayor en concentraciones de 25 % y disminuye a medida que éstas se van aumentando. A concentraciones del 100 % de Hipoclorito de Sodio se inhibe el crecimiento de la planta. Resultados similares se reflejan en la segunda y tercera semana después de la siembra (Figuras 5 y 6).



**Figura 5. Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en la segunda semana después de la siembra.**



**Figura 6. Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en la tercera semana después de la siembra.**

### 3.4 Efecto de la sacarosa en diferentes concentraciones sobre el incremento en altura de ápices caulinares de quequisque.

En el análisis estadístico realizado a la variable altura de planta no reflejó ninguna diferencia estadística. No existe relación entre la concentración de sacarosa y la variable altura, la altura está determinada por el factor tiempo. Sin embargo los mayores valores en altura se presentaron con la adición de concentraciones de 30 g y 44 g de sacarosa en relación a las otras concentraciones de sacarosa en estudio (Figura 7).

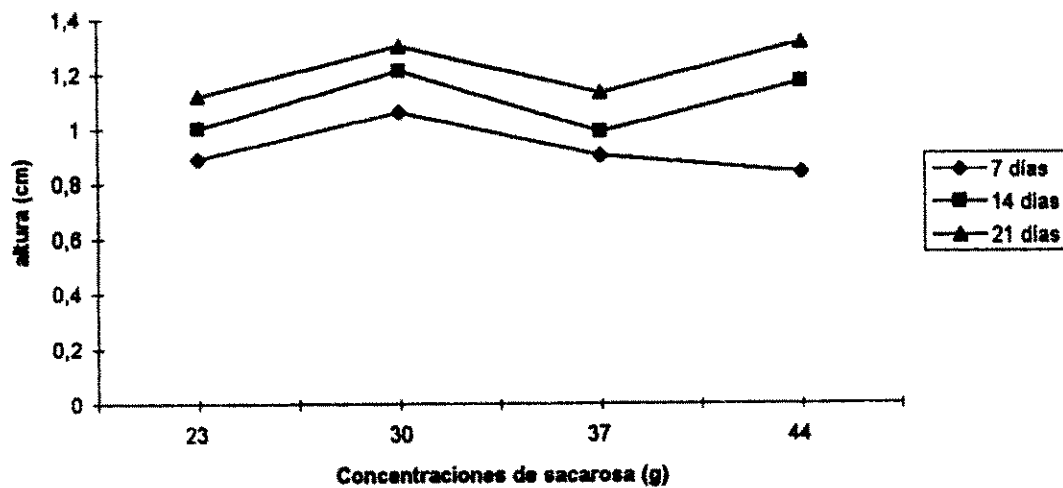


Figura 7. Efecto de la sacarosa en diferentes concentraciones sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque.

**3.5 Efecto de las consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia de 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque.**

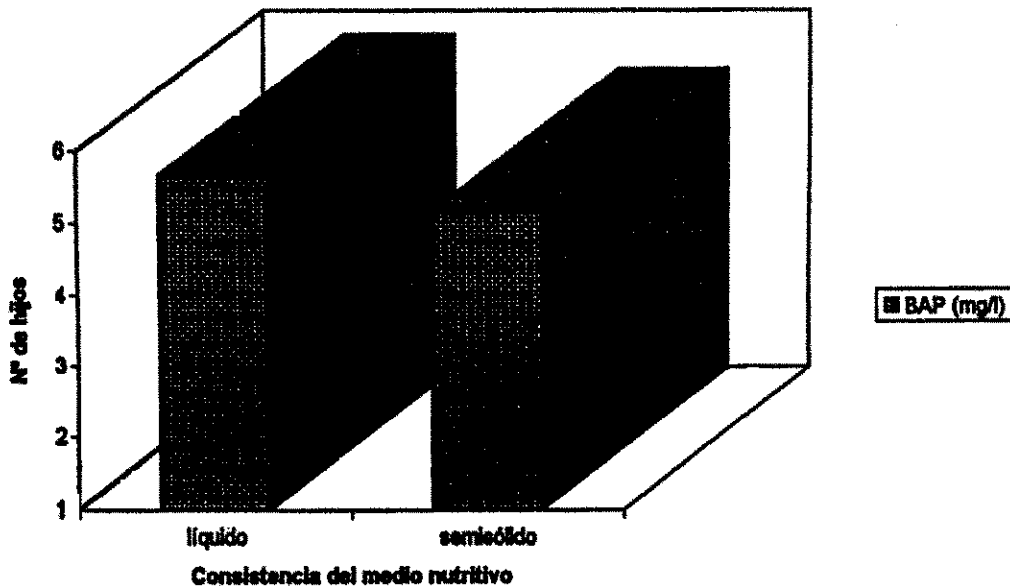
**3.5.1 Número de yemas**

El análisis realizado a la variable número de yemas mediante una prueba de t-student no reflejó ninguna diferencia entre medias en relación al número de hijos en dos medios nutritivos (semisólido y líquido), sin embargo numéricamente los datos reales muestran un mayor número de hijos en el medio líquido con 5.66 yemas/planta (Tabla 6A y 8).

**Tabla 8. Comportamiento del número de yemas para el efecto de las consistencias de los medios nutritivos.**

Consistencia del medio	Nº de yemas promedio/pta.	Medio nutritivo
semisólido	5.116 a*	MS + BAP + 7 g/l agar
líquido	5.66 a	MS + BAP

\* Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de t-student.



**Figura 8. Efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque.**



La figura 8 muestra las diferencias entre las consistencias líquida y semisólida donde la consistencia líquida influye en mayor magnitud en el número de hijos presentando un promedio de 5.66 yemas/planta. Lo contrario sucede en la consistencia semisólida con 5.116 yemas/planta

### 3.6 Efecto del AIA en la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque

#### 3.6.1 Número de raíces

El análisis estadístico realizado a la variable número de raíces no presentó diferencias significativas (Tabla 7A).

En la gráfica se observa como actuaron las concentraciones de AIA incorporadas al medio de cultivo como tratamiento sobre la variable número de raíces en las *vitro plantas* en estudio, el mayor número de raíces se presentó cuando se adicionó 0.05 mg/l de AIA, presentando un promedio de 18 raíces por planta. Resultados similares se obtuvieron con la adición de concentración de 0.1 mg/l de AIA. De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que el número de raíces está relacionado a la adición de AIA al medio de cultivo.

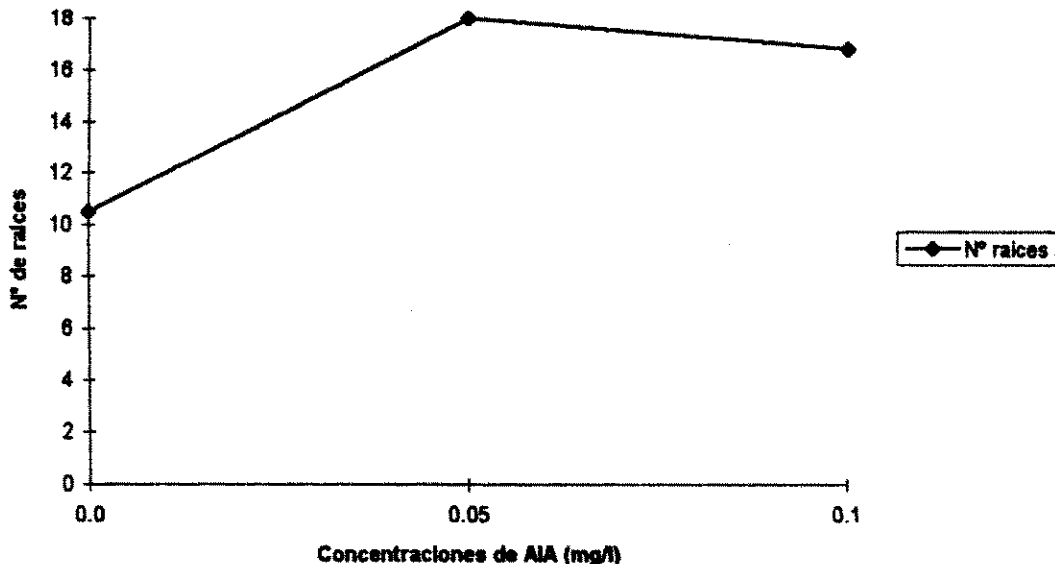


Figura 9. Efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque.

### **3.7 Adaptación de las plantas de quequisque a condiciones de vivero**

El estudio realizado sobre el cultivo *in vitro* de ápices caulinares de quequisque reflejó resultados satisfactorios. Las *in vitro plantas* de quequisque presentaron una buena capacidad de adaptación, de las 30 *in vitro plantas* seleccionadas el 85% sobrevivieron a las condiciones del medio ambiente sin ningún problema, presentando un normal crecimiento y desarrollo. Cabe mencionar que estas plantas están en un nuevo estudio de tesis.

## IV DISCUSION

### 4.1 Efecto del Hipoclorito de Sodio sobre la tasa de contaminación de ápices caulinares de quequisque

Uno de los principales problemas en cultivo de tejido vegetales es la desinfección del explante.

El grado de dificultad de la desinfección de los tejidos o cultivos *in vitro* van a depender de la especie con la que se esté trabajando; de la edad de la planta madre (plantas de las que se extraen las yemas que se vayan a inocular en los tubos de ensayo); de las condiciones en la que se desarrollan las plantas madres, del tipo de desinfectante que se utilice y tamaño del explante (Villalobos & Thorpe, 1991; Hughes, 1982; Fossard, 1979; Hu & Wang, 1983).

Aunque la mayoría de los microorganismos presentes en la superficie del explante no son patogénicos bajo condiciones de campo, en condiciones *in vitro*, y en presencia de un medio nutritivo rico en sales minerales y en compuestos orgánicos el crecimiento de éstos es rápido, limitando el desarrollo de las yemas o ápices caulinares.

Para eliminar de la superficie de los tejidos vegetales se recomienda utilizar desinfectantes que eliminen cualquier tipo de microorganismos, pero que a la vez sea fácil de retirarlo de los tejidos vegetales.

Hu & Wang, (1983) mencionan que entre los desinfectantes más utilizados en el cultivo de ápices o meristemos están: El Hipoclorito de Sodio, generalmente se utiliza el Cloro comercial que tiene una concentración de 5 % a 6 %; el Hipoclorito de Calcio y el Cloruro de Mercurio. El Hipoclorito de Sodio tiene la ventaja de no ser tóxico y de ser de fácil acceso en nuestro país.

Las concentraciones de Hipoclorito de Sodio utilizadas en la desinfección de los tejidos *in vitro*, como se mencionó anteriormente dependen de la especie, del tamaño del explante y otros factores.

Hughes, (1982) recomienda que para la desinfección de plantas ornamentales se utilice 5 % a 6 % de Hipoclorito de Sodio.

Skirvin, (1982) menciona que para la desinfección de árboles frutales se utiliza Hipoclorito de Sodio al 10 % V/V.

López, (1994) recomienda que para la desinfección de los tejidos de camote (*Ipomoea batata* L.) se utilice el Hipoclorito de Sodio al 3 % durante dos minutos.

Conger, (1982) señala que muchos cultivos agronómicos de interés como cereales, leguminosas, cultivos forrajeros, oleaginosas y textiles generalmente son desinfectados mediante una rápida inmersión en etanol al 70 % y una desinfección posterior con Hipoclorito de Sodio en concentraciones que van del 5 % - 15 % V/V.

Martínez, (1995) citando a diversos autores, refiere que en la desinfección de los explantes iniciales, se han empleado comúnmente soluciones de Hipoclorito de Sodio (Na O Cl) en concentraciones entre 0.5 - 5 % y que las soluciones de hipoclorito de Calcio (Ca O Cl) son activas como las del sodio. Los tiempos de duración de los desinfectantes oscilan entre 5 y 45 minutos.

Martínez, (1995) menciona que en el anteproyecto de norma técnica (1992) que rige el funcionamiento de las biofábricas de plátanos en Cuba, se establece la desinfección de los explantes con Hipoclorito de Sodio al 3 % durante 20 minutos.

Según los datos obtenidos a través del ensayo de desinfección los que se pueden observar en las Figuras 1 y 2 el Hipoclorito de Sodio resultó ser efectivo en la eliminación de los microorganismos de la superficie de los explantes de quequisque. El porcentaje de contaminación de los explantes es inversamente proporcional al aumento de las concentraciones de Hipoclorito de Sodio y directamente proporcional al aumento del tiempo de evaluación (3, 5 y 7 días).

Otro aspecto muy importante que se observó en el ensayo de desinfección fue la dinámica del desarrollo de los microorganismos los cuales mostraron su máximo crecimiento y desarrollo a los 7 días posteriores de la inoculación de los tejidos (Figura 1).

En la (Figura 2), se puede observar que la tasa de contaminación de los ápices caulinares de quequisque, se reduce notablemente, en la medida que se van incrementando las concentraciones de Hipoclorito de Sodio. Concentraciones de Hipoclorito de Sodio entre el 25

% - 40 % mostraron un porcentaje de contaminación entre el 5.8 % - 12 %; concentraciones entre el 55 % y 70 % de Hipoclorito de Sodio redujeron la tasa de contaminación entre el 0.5 % y 2.5 %. Los menores niveles de contaminación se observaron al utilizar concentraciones de Hipoclorito de Sodio entre el 85 % -100 % donde se obtuvo una tasa de contaminación entre el 0.5 -1.6 %. Sin embargo se pudo notar que concentraciones de Hipoclorito de Sodio mayores del 70 % trajeron consecuencias negativas al crecimiento y desarrollo de los ápices caulinares de quequisque debido a que las altas concentraciones de Hipoclorito de Sodio provocan toxicidad en los tejidos lo cual se refleja posteriormente en una necrosis y muerte de los mismos.

Aunque en la literatura consultada se reporta el empleo de bajas concentraciones de Hipoclorito de Sodio (6 % - 15 %) para la desinfección de los explantes, sin causarles daño a los tejidos, la sobrevivencia de los ápices de quequisque a mayores concentraciones de Hipoclorito de Sodio (70 % - 100 %) se debe a la morfología de éstos y al tamaño del explante utilizado al momento de desinfectarlo. Posiblemente la cantidad y disposición de los primordios foliares que están protegidos por una capa cerosa, evita que el Hipoclorito de Sodio alcance el meristemo y en consecuencia su muerte.

Por lo tanto las concentraciones entre 55 % y 70 % resultaron ser las más eficientes para la desinfección de los ápices caulinares de quequisque en el presente ensayo.

#### ***4.2 Efecto de las concentraciones de BAP en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque***

Según Rojas & Ramírez, (1991); Vázquez & Tórrez, (1987) afirman que las citocininas tienen efectos fisiológicos en la planta sobre la división celular, alargamiento celular, iniciación y crecimiento de raíces y brotes foliares entre otros.

Weaber, (1984); Krikorian, (1991) consideran que la inducción *in vitro* de órganos por las citocininas está encaminada a la formación de yemas, las cuáles son obtenidas en base a una proporción citocinina alta con respecto a las auxinas.

Roca, (1980) considera que una buena fuente de citocininas es el BAP. Concentraciones bajas de BAP de (002 - 005 mg/l) favorecen la iniciación de yemas en el cultivo de yuca.

Martínez, (1995) citando a diversos autores refiere que concentraciones de BAP por debajo de 10 mg/l, en Musáceas disminuye la formación de brotes y que concentraciones de 5 mg/l de BAP son consideradas como óptimas para la inducción de brotes, sin la formación de raíces.

Lethan, (1967); Linsmaier & Skoog, (1965) señalan en los bioanálisis de citocininas en cultivo de tejidos que deben de agregarse auxinas al medio basal debido a que esas hormonas ejercen acción sinérgica en la inducción de la división celular y el crecimiento no diferenciado de los cultivos de tejidos.

Estudios realizados por Skoog & Miller, (1957) en la médula del tabaco reflejan que los tipos de reguladores de crecimiento (Citocininas y Auxinas) parecen actuar no solo por su concentración en valor absoluto sino principalmente por la reducción entre sus concentraciones.

En el estudio realizado se pudo observar que el BAP en concentraciones de 0.0 mg/l, 0.1 mg/l, 0.5 mg/l y 1.0 mg/l no ejercieron ningún efecto sobre la tasa de crecimiento de los ápices caulinares de quequisque. Al comparar el tratamiento testigo con 0.0 mg/l y los otros tratamiento donde se aplicó BAP en concentraciones de 0.5 mg/l éstos reflejaron alturas similares al tratamiento testigo. Estudios realizados por Roca, (1980) apoyan estos resultados en donde se demostró que concentraciones entre 0.2 mg/l - 0.5 mg/l de BAP aunque favorecen la iniciación de yemas retardan el crecimiento de los meristemos de yuca.

Shabdé & Murashige, (1977) consideran que los cultivos requieren auxina exógena, por el contrario las citocininas pueden ser o no necesarias en el cultivo *in vitro*.

La presencia del BAP independientemente de su concentración en el medio nutritivo no tiene ningún efecto en la tasa de crecimiento de las plantas de quequisque. Sin embargo puede ser que los niveles endógenos de citocininas sean suficientes para estimular el crecimiento y desarrollo del explante a diferencia de la mayoría de las especies mencionadas anteriormente.

#### ***4.3 Efecto posterior del Hipoclorito de Sodio, ANA y BAP con respecto al tiempo y su influencia en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque***

Los requerimientos para el crecimiento de yemas o meristemos varían con el tamaño del explante, el genotipo de la planta y el estado fisiológico de éstos. Un factor muy

importante para estimular el desarrollo de yemas o meristemas es el medio nutritivo y al cual generalmente se le adiciona reguladores de crecimiento para estimular el desarrollo y formación de órganos (Cisne, 1988).

Litz y Jarret, (1991) también mencionan que es importante adicionar al medio nutritivo de forma proporcional auxinas y citocininas para inducir la formación de órganos *in vitro*. Por ello Margara, (1988) recomienda que es importante definir las concentraciones, combinaciones y las secuencias en que se deben de usar los reguladores de crecimiento en el proceso de propagación *in vitro* de las plantas.

Armas *et al.*, (1988) señalan que cuando uno de los dos reguladores se aplica en una concentración muy elevada el otro regulador se hace limitante lo cual indica que sus efectos se complementan en el crecimiento y desarrollo del explante.

Concentraciones altas de ANA presentan valores bajos en la tasa de crecimiento.

Para este estudio se tomaron concentraciones de 1 y 2 mg/l de BAP y 0.3, 0.6 y 0.9 mg/l de ANA respectivamente, presentándose la mayor tasa de crecimiento en la menor concentración de ANA (0.3 mg/l) con la adición de 1 y 2 mg/l de BAP. Esto es debido a que la relación ANA-BAP influye directamente en las expresiones del crecimiento ya que estos reguladores de crecimiento son los encargados de estimular el metabolismo y desarrollo porque intervienen en los procesos de división y alargamiento celular.

Ayudando estos resultados (Rojas & Ramírez, 1991) afirman que es una característica de las auxinas el que a concentraciones bajas estimulan el metabolismo y desarrollo y a concentraciones altas lo deprimen.

La tasa de crecimiento de los ápices caulinares está influenciada por las diferentes concentraciones de Hipoclorito de Sodio y el ácido naftalenacético (ANA). El crecimiento de las *in vitro plantas* es mayor a bajas concentraciones de Hipoclorito de Sodio. Es notorio observar en la (Figura 4, 5 y 6) que a bajas concentraciones de ANA (0.3 mg/l) se presentó una mayor tasa de crecimiento. Sin embargo, esto está relacionado a las concentraciones mayores de Hipoclorito de Sodio que provocaron una disminución en la tasa de crecimiento en relación a bajas concentraciones de ANA.

El efecto negativo del Hipoclorito de Sodio sobre el crecimiento de los ápices de quequisque posiblemente se deba a que esta sustancia daña los tejidos más externos de los explantes desfavoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plantas *in vitro*.

#### **4.4 Efecto de la sacarosa sobre la tasa de crecimiento**

Crecimiento y desarrollo dependen en gran medida de la luz. Fotosíntesis y morfogénesis están influenciadas por la luz. La fotosíntesis llevada a cabo por las plantas *in vitro* es relativamente baja dependiendo de los cultivos principalmente la sacarosa adicionada al medio (Cisne, 1988).

La presencia de la sacarosa en concentraciones de 23 g/l, 30 g/l, 37 g/l y 44 g/l no reflejó ninguna diferencia en altura con respecto a la tasa de crecimiento. Sin embargo los mayores valores en altura se presentaron con la adición de 30 g/l y 44 g/l de sacarosa teniendo una altura de 1.31 cm respectivamente (Figura 7). Es importante hacer notar que es necesario adicionar sacarosa al medio nutritivo debido a que los tejidos cultivados *in vitro* carecen de una fuente proporcionadora de energía.

Muy pocos cultivos *in vitro* son autótrofos y por lo tanto es necesario agregar al medio una fuente de carbono. La sacarosa (2 % a 5 %) es el carbohidrato que más se utiliza en el cultivo *in vitro* de plantas (Cisne, 1988).

Margara, (1988) señala que los tejidos en cultivos *in vitro* son altamente heterótrofos con respecto al carbono debido a la ausencia o insuficiencia de asimilación clorótica en las células de reserva del explante en el cultivo de quequisque.

Resulta pues indispensable añadir sacarosa a los medios de cultivo. El aporte de ésta no tiene por objeto exclusivo optimizar el crecimiento de los tejidos, igualmente la falta de sacarosa es con frecuencia un factor limitante.



#### **4.5 Efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido) en presencia del 3 mg/l de BAP sobre la tasa de ahijamiento en ápices caulinares de quequisque**

La inducción *in vitro* de órganos por las citocininas está encaminada a la formación de yemas las cuales son obtenidas en base a una proporción citocinina alta con respecto a las auxinas (Weaber, 1984; Krikorian, 1991).

Se puede inducir la formación de brotes y raíces ajustando la relación auxina-citocinina exógena. Sin embargo, este procedimiento no es de ninguna manera universalmente efectivo para todas las especies vegetales.

Villalobos, (1985) considera que las citocininas combinadas con las auxinas estimulan la división celular interactuando en la determinación de la ruta que seguirá la diferenciación celular. En cultivo *in vitro* las citocininas inducen la formación de órganos iniciando el desarrollo de yemas. Según Rojas & Ramírez, (1991); Vázquez & Torrez, (1987) afirman que las citocininas tienen efectos fisiológicos en la planta sobre la división celular, alargamiento celular, iniciación y crecimiento de raíces y brotes foliares entre otros.

Según los datos obtenidos en este estudio se determinó que el medio líquido en comparación con el medio semisólido reflejaron los mismos valores en número de yemas promedios por planta. Aunque numéricamente el medio líquido presentó un reducido incremento de 5.66 yemas/planta comparados con 5.16 yemas/planta que presentó el medio semisólido (Figura 8). Esta respuesta posiblemente se deba a que el medio utilizado tiene suficiente concentración de sales minerales que favorecen de igual manera el crecimiento y desarrollo del cultivo del quequisque *in vitro* tanto en el medio semisólido como en el medio líquido. Por otra parte se pudo observar que el quequisque tiene una alta capacidad para formar raíces lo que le facilita absorber los nutrientes en las dos consistencias de medios evaluados. Por otro lado el tamaño del explante utilizado permitió que éste tuviera acceso al oxígeno en el medio de cultivo líquido absorbiendo fácilmente los elementos minerales y favoreciendo el crecimiento y desarrollo del explante.

#### **4.6 Efecto del AIA en la tasa de enraizamiento en ápices caulinares de quequisque**

El proceso de enraizamiento de los brotes propagados *in vitro* requiere generalmente el trasplante a un medio de cultivo con menos concentración de sales y una mayor concentración de auxinas.

El medio de Murashige & Skoog, (1962) diluido al 50 % ha dado resultados positivos en diferentes especies. Así mismo se requiere cambiar el balance hormonal, es decir disminuir las concentraciones de citocininas y aumentar las concentraciones de auxinas exógenas.

En algunas especies la eliminación de las citocininas exógenas ha sido suficiente estímulo para la diferenciación del sistema radical (Thorpe, 1980).

Las auxinas promueven el agrandamiento y alargamiento celular, sin embargo, se ha encontrado al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos (Krikorian, 1991), además de estimular la iniciación de raíces (Weaber, 1984; Krikorian, 1991).

En el presente ensayo se observó que el quequisque tiene una alta capacidad para formar raíces. Sin embargo requiere la adición de concentraciones de AIA que estimulen aún más la tasa de enraizamiento. Es notorio apreciar (Figura 9) que concentraciones de 0.0 mg/l de AIA el número de raíces/planta es menor (10 raíces/planta). El número de raíces/planta aumenta al aplicar AIA al medio nutritivo. En este ensayo el mayor número de raíces se presentó cuando se adicionó 0.05 mg/l de AIA presentando un promedio de 18 raíces/planta. Sin embargo con la adición de 0.1 mg/l de AIA se presentó un resultado similar al anterior de 17 raíces/planta.

## **V CONCLUSIONES**

- 1. Concentraciones de 55 % y 70 % de Hipoclorito de Sodio son eficaces para reducir notablemente la tasa de contaminación de los ápices de quequisque sin provocar daños a los tejidos, permitiéndole un normal crecimiento y desarrollo.**
- 2. Las concentraciones de Hipoclorito de Sodio y ANA en estudio influyeron sobre la tasa de crecimiento de los ápices caulinares de quequisque.**
- 3. El ANA en bajas concentraciones (0.3 mg/l) presentó los mejores resultados en la tasa de crecimiento de los ápices de quequisque.**
- 4. Las concentraciones de sacarosa (23 g, 30 g, 37 g y 44 g) no ejercieron ningún efecto sobre la tasa de crecimiento. Sin embargo es necesario añadir al medio nutritivo sacarosa como fuente de energía.**
- 5. En la consistencia líquida del medio nutritivo, las concentraciones 0.1 mg/l y 0.5 mg/l de BAP provocaron un aumento en el número de yemas.**
- 6. El mayor número de raíces se presentó al adicionar 0.05 mg/l de AIA al medio nutritivo.**
- 7. Las *vitroplantas* de quequisque presentaron una buena capacidad de adaptación a condiciones de vivero reflejando resultados satisfactorios en el presente estudio.**

## **VI RECOMENDACIONES**

1. Utilizar Hipoclorito de Sodio en concentraciones de 55% V/V y 70% V/V como desinfectante de los explantes de quequisque por no causar daños a los tejidos y por ser accesible en el mercado local.
2. Utilizar el ANA en bajas concentraciones (0.3 mg/l) dado que estimulan una mayor tasa de crecimiento.
3. Utilizar consistencia líquida del medio nutritivo en la fase de ahijamiento, por las ventajas que ésta presenta en relación a la consistencia semisólida: Mayor número de hijos, fácil manipulación y menor costo.
4. Estudiar en futuros experimentos, factores como el tamaño óptimo del explante y su comportamiento *in vitro* entre variedades de quequisque.

## VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Armas, V. R., Ortega D. E. & Rodes, G. R. 1988. Fisiología vegetal. La Habana, Cuba, Ed. Pueblo y Educación. 324 pp.
- Blanco N. M. 1987. Raíces y tubérculos. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias (ISCA). Managua, Nicaragua. 112 pp.
- Cisne, C. J.D. 1988. Introducción a la técnica del cultivo de tejidos vegetales. Tesis Ing. Agr. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. Managua, Nicaragua. 92 pp.
- Cisne, J. A.; Marín, F. V. & Castrillo V. S. 1994. Estudio sobre el comportamiento de clones de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium*), Malanga (*Colocasia esculenta*) y Jengibre (*Zingiber officinalis*). Managua, Nicaragua Proyecto de Desarrollo Integral de Río San Juan. C.E.A.R. 43 p.
- Conger, B. V. 1982. Agronomic Crops in cloning agricultural plants via *in vitro* techniques. Ed. B. V. Conger. Department of Plant and Soil Science University of Tennessee. U.S.A. Florida. Pp 141-164.
- Fossard, R.A. 1979. Tissue culture for plant propagators department of Botany, the University of New England. Armidale, Austria. 52 pp.
- Giacometti D. & León, J. 1992. Yautia o malanga (*Xanthosoma sagittifolium*). In: Cultivos marginados otra perspectiva de 1992. Ed. by J. E. Hernández Bermejo y J. León. FAO, Roma. Pp 250-253.
- Hu, C. Y. & Wang P.J. 1983. Meristem shoot tip and bud cultures. In Handbook of plant cell culture. Ed. D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato, Y. Yamada. Macmilliam Publishers. London, Inglaterra. Pp 177-227
- Hurtado, M. D. & Merino M. M. E. 1994. Cultivo de tejidos vegetales. Trillas, México, 3 ed. 232 pp.

- Hughes, K. W. 1982. Ornamental species. In Cloning Agricultural Plants via *in vitro* Techniques. Ed. B. V. Conger. Department of Plant and Soil Science University of Tennessee. U.S.A. Florida. Pp 5-30
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 1989. Compendio de Agronomía Tropical, Tomo II. San José, Costa Rica. 693 pp.
- Krikorian, A. D. 1991. Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación *En: Cultivo de tejidos vegetales en la agricultura, fundamentos y aplicaciones.* Ed. por William M. Roca & Luis G. Mroginski; CIAT. Cali, Colombia. Pp 143-172.
- Lethan, D. S. 1967. Chemistry and physiology of kinetin like compounds. *Ann, Rev. Plant Physiol.* 18: 394-364
- Linsmaier. E. M. & Skogg, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol plantarum.* (EE.UU) 18: 100-127
- Litz, R. E & Jarret, R. L. 1991. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: Embriogénesis somática y organogénesis. *In: Cultivo de tejidos en la agricultura; fundamentos y aplicaciones.* Ed por William M. Roca & Luis Mroginski. CIAT. Cali, Colombia. Pp 143-172.
- López, V. M. 1994. Conservación *in vitro* a tasas mínimas de crecimiento del clon camote N-1437 (*Ipomoea batata* L.) durante dieciseis semanas. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Managua, Nicaragua. Pp 3-5.
- Margara, I. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*; los meristemas y la organogénesis 24. Ed. por Mateo Box J. M & Urbano Terrón P. Madrid Mundiprensa.
- Martínez, M. S. 1995. Perfeccionamiento de la tecnología para la micropropagación *in vitro* de plátanos y bananos (*Musa spp*). Universidad Central de las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tesis Magister Scientiae. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. Pp 10-11.

- Ministerio de Desarrollo Agropecuario y Reforma Agraria (MIDINRA). 1984. Recursos genéticos situación actual y propuestas. Managua, Nicaragua. 37 pp.
- Montaldo, A. 1983. Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. IICA. San José Costa Rica. 284 pp
- Montaldo, A.; Arias, O. & Ramírez, P. 1984. Obtención de plantas de tiquisque blanco (*Xanthosoma sagittifolium* L.), de tiquisque morado (*Xanthosoma violaceum*) por medio de cultivo *in vitro* de ápices. Agron Costar., 11: 71-79.
- Murashige, T. & Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Roca, W. M. 1980. Cultivo de meristemas de yuca. CIAT. Cali, Colombia. Pp 1-40.
- Rojas, G. M. & Ramírez, H. 1991. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Fisiología, tecnología, experimentación. 2<sup>da</sup> Ed. México, Limusa. Pp 27-39.
- Salazar, S. 1991. Micropropagación de aráceas comestibles. In: Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Ed. by William M. Roca & Luis A Mroginski. Colombia. Pp 469-480
- Shabdé, M.N. y Murashige, T. 1977. Hormonal requeriments of excised *Dianthus caryophyllus* L. Shoot apical meristem *in vitro*, *Am. J. Bot.*, 64: 443-448 p.
- Skirvin, M. R. 1982. Fruit crops in cloning. Agricultural plants via *in vitro* techniques. Ed. B.V. Conger. Florida, EE. UU. Pp 51-140.
- Skoog, F. & Miller, C. O. 1957. Chemical regulation of growth and formation *In: Plant tissue cultured in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol 11: 118. 130.
- Thorpe, T. A. 1980. Organogénesis *in vitro* structural physiological and biochemical aspects. Internacional review of cytology suplement. 114. Academic Press. Nueva York. Pp 71-111.

- Vázquez, B. E. & Torres, G. S. 1987. Fisiología vegetal 2<sup>da</sup> ed. Pueblo y Educación, La Habana, Cuba. 463 pp.
- Villalobos, Arámbula, V. M. & Thorpe, T. A. 1991. Micropropagación: Conceptos, metodología y resultados *In*: Cultivo de tejidos vegetales en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed. por William M. Roca & Luis G. Mroginski. CIAT. Cali, Colombia. Pp 127-141.
- Villalobos, A. V. M. 1985. Las bases morfogénicas en la micropropagación de especies perennes. Ed. por Manuel Loyola en El cultivo de tejidos vegetales en México. 1 Ed. México D. F. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Pp 55-64.
- Weaber, R. J. 1984. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Trad. por A. Contin. 3<sup>a</sup> ed. México, Trillas. Pp 41-171.
- Zada, L. M. Becalli, V.E. ; López, F.R. 1995. Raíces y tubérculos. Editorial Pueblo y Educación. Pp 98-100



## ANEXOS

**Tabla 1A.** ANDEVA realizado a los datos del efecto del hipoclorito de sodio en concentraciones de 2.5 % a 22.5 % sobre la desinfección en ápices caulinares de quequisque en el primer subcultivo.

PARAMETRO	ESTIMADO	Pr > F
INTERCEPTO	5.916740	0.0001
CCL	-0.203686	0.0001
TIEMPO	0.545384	0.0028
C. V. = 35%		R <sup>2</sup> = 0.35 %

**Tabla 2A.** ANDEVA realizado a los datos del efecto del hipoclorito de sodio en concentraciones de 25 % a 100 % sobre la desinfección de ápices caulinares de quequisque en el primer subcultivo.

FUENTE	GL	SC	CM	Pr > F
CCL	1	15.722566	15.727566	0.0369
ERROR	4	6.626489	1.656622	
TOTAL	5	22.394055		
PARAMETRO		ESTIMADO		Pr>F
INTERCEPTO		6.017048		0.0122
CI		-0.063190		0.0369

Tabla 3A. ANDEVA realizado a los datos del efecto del BAP sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el segundo subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Pr > F
BAP	1	0.021431	0.021431	0.0035
TIEMPO	1	10.906517	10.966517	0.001
ERROR	157			
TOTAL	159			
C.V. = 127.40126		R <sup>2</sup> = 35 %		

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Pr > F
TIEMPO	1	10.906517	10.906517	0.0035
ERROR	158	20.21510	0.127943	0.001
TOTAL	159	31.121181		

PARAMETRO	ESTIMADO	Pr > F
INTERCEPTO	-0.166041	0.0035
TIEMPO	0.528816	0.001

Tabla 4A. ANDEVA realizado a los datos del efecto posterior del hipoclorito de sodio, ANA y BAP con respecto al tiempo y influencia en la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el tercer subcultivo.

FUENTE	GL	SC	CM	Pr > F
CLO	1	2.009015	2.009015	0.0001
ANA	1	1.554024	1.554502	0.0003
BAP	1	0.200768	0.200768	0.1868
TIEMPO	1	7.956640	7.956640	0.0001
ERROR	195	22.307873	0.114399	
TOTAL	199	34.028800		
C. V. = 23 %		R <sup>2</sup> = 35 %		

B

FUENTE	GL	SC	CM	Pr > F
CLO	1	2.009015	2.009015	0.0001
ANA	1	1.554024	1.554502	0.0003
TIEMPO	1	7.956640	7.956640	0.0001
ERROR	196	22.307873	0.114399	
TOTAL	199	34.028800		

PARAMETRO	ESTIMADO	TIEMPO (semanas)
INTERCEPTO	1.19742	0.0001
CLO	-0.003912	0.0001
ANA	-0.357494	0.0001
TIEMPO	0.178410	0.0001

Tabla 5A. ANDEVA realizado a los datos del efecto de la sacarosa sobre la tasa de crecimiento en ápices caulinares de quequisque en el cuarto subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Pr > F
SACAROSA	1	0.017792	0.017792	0.4604
TIEMPO	1	1.485000	1.485000	0.0001
ERROR	96	3.108924	0.032384	
TOTAL	98	4.611717		
C. V. = 16 %		R <sup>2</sup> = 0.325864%		

PARAMETRO	ESTIMADO	Pr > F
INTERCEPTO	0.713528	0.0001
GL	0.001747	0.4604
TIEMPO	0.021428	0.000

Tabla 6A. Prueba de t-Student realizada a los datos del efecto de la consistencia del medio nutritivo (semisólido y líquido en presencia de 3 mg/l de BAP).

TRATAMIENTO	N	MEDIA	STD DEV	STD ERROR	MINIMO	MAXIMO
1	6	5.166	2.9268	1.1948	1.0000	9.0000
2	6	5.666	2.58198	1.054	3.0000	10.0000

Tabla 7A. ANDEVA realizado a los datos del efecto del AIA sobre la tasa de enraizamiento en el sexto subcultivo en ápices caulinares de quequisque.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC	CM	Pr > F
AIA	2	195.94	97.772	0.3817
ERROR	15	1426.33	95.08	
TOTAL	17	1621.77		
C.V. = 64.53 %		R <sup>2</sup> = 0.12 %		