

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
PROGRAMA RECURSOS GENETICOS NICARAGUENSES



ESTABLECIMIENTO Y MICROPROPAGACIÓN DE JENGIBRE
(*Zingiber officinale* Roscoe) COLECTADO EN EL
DEPARTAMENTO DE CARAZO

AUTORES:

Br. Marcia Lissethe Incer Rocha
Br. Victor Alexander León López

ASESORES:

Ing. Agr. MSc. Guillermo Reyes Castro
Ing. Agr. Marbell Aguilar Maradiaga

MANAGUA, NICARAGUA
OCTUBRE, 1998

DEDICATORIA

Las semillas que hoy presento en forma de esfuerzos y esmero y que mañana germinarán y enriquecerán a mi patria Nicaragua, son símbolo de mi corazón entusiasta y agradecido, que quiere ser promesa, de no dejar marchitar jamás la flor de la formación y superación personal de perseverancia diaria y esfuerzo sincero frente a las metas que me señala el deber.

Dedico este trabajo a quienes siempre estuvieron conmigo:

A Dios que me inspiró la elección de mi carrera y me fue conduciendo y despejando el camino para avanzar hacia mi meta, a mis padres que fueron mis grandes maestros y mi mayor inspiración, a mis hermanos que en todo momento me apoyaron y me estimularon con su ejemplo de tesón y constancia, a Guillermo que con su cariño estuvo junto a mí durante la realización de este trabajo apoyándome y ayudándome; y de una manera muy especial a mi hermano Iván quien fue una columna valiosa en el edificio de mi formación profesional.

Mi fervor ha de ser transformar los campos en germen de vida, para la vida.

Marcia Lissethe Incer Rocha

DEDICATORIA

A mi madre, como un pequeño reconocimiento a todos sus esfuerzos y sacrificios por hacer de mi lo que soy, por haberme dado la gracia de la vida y el pan de la enseñanza.

A la memoria de mi padre (q.e.p.d.), cuyo ejemplo de perseverancia y disciplina tanto en los estudios como en la vida son el estandarte de los valores que me han sido inculcados.

A mi familia, por esa confianza depositada en mi y ese apoyo incesante en todo momento, todos ellos con su actitud y ejemplo me han enseñado el verdadero significado de la familia.

Al Hno. Juan Antón por haberme inculcado con su ejemplo los valores cristianos que unen y destacan a la familia lasallista, por ser el padre que bien aconseja y el amigo que nunca falta.

A Joyce por haberme apoyado y motivado en la recta final y por haberle dado un significado especial a mi vida.

A todos y cada uno dedico este trabajo.

Víctor Alexander León López.

AGRADECIMIENTOS

De manera especial agradecemos a nuestros asesores Ing. Agr. MSc. Guillermo Reyes Castro y el Ing. Agr. Marbell Aguilar quienes nos brindaron la oportunidad de realizar el presente estudio, por haber depositado toda su confianza en nosotros y haber compartido sus amplios conocimientos y experiencias en la técnica de cultivo de tejidos.

Al equipo de trabajo del laboratorio de cultivo de tejidos por la valiosa y espontánea cooperación brindada.

Al Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses por haber facilitado los materiales y recursos necesarios para la realización de este estudio.

Al equipo de trabajo del CENIDA y la biblioteca de Sanidad Vegetal por su colaboración permanente en la adquisición de bibliografía.

A la Escuela de Producción Vegetal y docentes de la Universidad Nacional Agraria que contribuyeron en nuestra formación profesional y que con su ejemplo nos inculcaron el amor y dedicación a las ciencias agrarias.

A todos y cada uno de nuestros compañeros de estudios con los que hemos compartido esta etapa tan especial de nuestras vidas.

INDICE GENERAL

CONTENIDO	Pagina No.
INDICE GENERAL	i
INDICE DE TABLAS	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
I INTRODUCCION	1
II MATERIALES Y METODOS	8
2.1 Fase de establecimiento del cultivo libre de patógenos	9
2.1.1 Variables evaluadas	11
2.2 Fase de micropropagación	11
2.2.1 Variables evaluadas	13
2.3 Diseño estadístico	14
III RESULTADOS Y DISCUSION	15
3.1 Fase de establecimiento del cultivo <i>in vitro</i>	15
3.2 Fase de micropropagación	16
3.2.1 Altura de planta	16
3.2.2 Número de hojas	20
3.2.3 Número de hijos	23
3.2.4 Número de raíces	26
3.2.5 Longitud de raíces	29
IV CONCLUSIONES	34
V RECOMENDACIONES	36
VI REFERENCIAS	38
VII GLOSARIO.....	42
VIII ANEXOS.....	45

INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Variantes del medio de cultivo básico (MS) (1962) suplidos con diversas concentraciones de 6-BAP y en dos consistencias del medio (sólido y líquido).	12
2.	Porcentaje de contaminación bacteriana y fungosa encontrada en los explantes de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) desarrollados en la fase de establecimiento.	15
3.	Estadios de desarrollo de los explantes de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) durante la fase de establecimiento.	16
4.	Altura promedio (cm) de planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.	17
5.	Número promedio de hojas de planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.	20
6.	Número promedio de hijos de plantas jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivadas en tres variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	23
7.	Número promedio de raíces de plantas de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	27
8.	Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivadas en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.	30

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Altura promedio (cm) de planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio de básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	19
2.	Número promedio de hojas por planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	21
3.	Número promedio de hijos por planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	24
4.	Número promedio de raíces de planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	28
5.	Longitud de raíces (cm) promedio por planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	31
6.	Valores promedios de altura de planta y número de hijos de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	32
7.	Valores promedios de altura de planta y número de raíces de planta de jengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.	33

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicada en el km 12 ½ de la carretera norte, Managua, Nicaragua. La realización del ensayo abarcó el tiempo comprendido entre los meses mayo y septiembre de 1997. El objetivo del mismo fue lograr el establecimiento de plántulas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) y la definición del medio de cultivo adecuado para la micropropagación de este cultivo. La fase de establecimiento se inició con 16 explantes los cuales se implantaron en un medio de cultivo sólido conteniendo sales minerales Murashige y Skoog (MS) (1962) más 2.5 mg/l de 6-BAP. En la fase de micropropagación se utilizaron diferentes concentraciones de 6-BAP (0.0, 2.5 y 5.0 mg/l) y dos consistencias del medio de cultivo (sólido y líquido), durante 3 subcultivos. El experimento se estableció utilizando el esquema diseño de Bloques Completamente al Azar (BCA). A los datos de las variables cuantitativas se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA). En la fase de establecimiento el 18.75 % de las plantas presentaron contaminación bacteriana, no se observó contaminación con hongos y el 81.25 % se desarrollaron satisfactoriamente. La mayor proliferación de hijos se obtuvo siempre en los medios de cultivo de consistencia sólida durante los 3 subcultivos, se utilizaron 12 repeticiones por tratamiento, en las cuales se evaluaron las variables número de hijos, número de hojas, altura de planta, número de raíces y longitud de raíces. El medio de cultivo que indujo a la producción del mayor número de hijos fue al que se le adicionó 5.0 mg/l de 6-BAP con un promedio de 1.55 hijos por explante. El mayor número de raíces se registró en el medio de cultivo sólido con 2.5 mg/l del regulador del crecimiento 6-BAP, presentando un promedio de 6.19 raíces por planta. Los medios de consistencia líquida favorecieron tanto la altura de las plantas como el número de hojas. No hubo tendencia a aumentar o disminuir el número en las variables altura de planta, número de hijos y número de raíces con respecto al número de subcultivos.

PALABRAS CLAVES: *Zingiber officinale* Roscoe, medio de cultivo, Murashige y Skoog, 6 - BAP, micropropagación.

I.- INTRODUCCION

El jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), es una planta oriunda de Oriente, posiblemente de la India y Malasia, pertenece a la familia de las Zingiberáceas, clase de las monocotiledóneas, es autógama y su número cromosómico es $2n=22$. Esta es una planta herbácea formada por rizomas subterráneos que son utilizadas extensamente en platos de origen oriental, tanto en forma fresca (legumbre), seca (especie) o en conserva, enlatados, etc. La industria médica también utiliza este rizoma para fabricar medicamentos y aromáticos para el tratamiento gastrointestinal y respiratorio y además como afrodisíaco (Revista del Campo, 1996). En el contexto nacional, además de la tradicional "chicha de jengibre", también se utiliza en la preparación de gofios, refrescos, en condimento y en la medicina rural es utilizado como estimulante general (Saavedra M, 1997).

El jengibre es una planta de 30-100 centímetros de altura, que crece a partir de un rizoma del cual parten vástagos aéreos en posición oblicua. Los rizomas son tallos gruesos y duros, lateralmente achatados, enteros o divididos como dedos de manos que tienen un diámetro entre 1.5 - 2.5 cm (Jirón y Fonseca, 1997).

Brandt, citado por Jirón y Fonseca (1997) en Nicaragua existen jengibres de 3 variedades diferentes y distintas combinaciones entre sí.

Los tres tipos de jengibres son:

Jengibre tipo Hawaiano (también conocido como Gran Caimán).

Jengibre tipo Jamaiquino azul.

Jengibre tipo Jamaiquino amarillo.

Los principales países productores son India, que produce cerca del 50 % del total de la producción mundial China, Taiwan, Nigeria, Sierra Leona, Jamaica, Tailandia, Australia y últimamente Brasil. En el área centroamericana, Costa Rica es el país líder en término de volumen exportador de este producto, llegando a mercados como Estados Unidos, Canadá y Europa. Entre los países importadores de jengibre se encuentran Estados Unidos, como el principal importador, seguido de Inglaterra, Japón, Arabia Saudita y Singapur (Guevara, 1997). Las importaciones promedio anuales de jengibre, por parte de los principales mercados demandantes, ascendieron durante el período 1986-1990 a unas 70 mil toneladas métricas (Tm) por año (Revista del Campo, 1996).

En el tercer trimestre de 1996, el precio promedio internacional fue de US\$ 30.70 por caja de 13.6 kilogramos, para un incremento de 14.77 % en relación al mismo período de 1995.

A finales del tercer trimestre de 1996, el total de exportaciones acumuladas es de 916.5 mil dólares representando un incremento sustancial del 165.2 % con relación al acumulado del mismo período de 1995 (US\$ 345 mil). En Nicaragua el jengibre se cultiva principalmente en la región de Nueva Guinea, en un área de 386 hectáreas, lo cual genera empleo a unos 385 trabajadores por ciclo en el sector

agropecuario. En el tercer trimestre de 1996, debido principalmente al uso de semilla infectada, se tuvieron pérdidas de aproximadamente 38.6 hectáreas de jengibre, las cuales fueron irrecuperables en el ciclo 1996 (Revista del Campo, 1996).

La mayor producción de la zona de El Rama se exporta a Costa Rica, que a su vez la comercializa a Estados Unidos y eventualmente a Inglaterra, donde en ocasiones, lo comercializan como producto costarricense. Gran parte de las utilidades totales generadas por el cultivo benefician a los comerciantes costarricenses. El productor vende a 100 córdobas el quintal, mientras que en el mercado de los Estados Unidos el precio del rizoma se cotiza entre unos US\$ 20 y US\$ 21 (Revista del Campo, 1996).

El éxito en el cultivo de jengibre radica en la calidad de la semilla. Se recomienda utilizar como semilla un trozo que tenga un peso no menor a 28.35 gramos y que contenga de 4 a 6 yemas vegetativas sanas (Jirón y Fonseca, 1997). Deben seleccionarse las semillas más brotadas a menos brotadas y sembrar en ese orden, para evitar una heterogeneidad de las plantas. Este método uniformizará el manejo a los lotes sembrados y consecuente disminución de costos (Saavedra C, 1997).

Este tipo de propagación (asexual), tiene la ventaja de mantener la identidad genética en todas las plantas, sin embargo tiene como desventaja la posibilidad de diseminar plagas y enfermedades.

Desde el año 1974 que en Nueva Guinea se inició la siembra del jengibre, los productores producían con la tecnología tradicional, los rendimientos eran aceptables y los costos de producción eran bajos. Las condiciones actualmente han cambiado debido a que los suelos han perdido su fertilidad, el material vegetativo de siembra se ha deteriorado al extremo de no existir semilla de calidad y de una variedad específica. Hay mezcla de variedades, existe alta incidencia de enfermedades fungosas y bacterianas capaces de destruir las plantaciones.

La delegación local del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA) reportó que el 90 % de las 1,764 ha. de jengibre sembradas en Nueva Guinea, se perdieron por enfermedades fungosas y bacterianas, lo que fue un duro golpe para los productores locales (Mena y Olivares, 1997).

Según Monterroso (1996) citado por Góngora y Luna (1996) el orden de importancia de los patógenos que afectan el jengibre del trópico húmedo nicaragüense son: *Fusarium oxysporum* fs. *zingiberi*, *Pseudomonas solanacearum*, *Erwinia caratovora* pv. *atroséptica*, *Meloidogyne* sp. y *Phyllosticta zingiberi*. Aunque también han sido reportados *Curvularia* sp., *Cercospora* sp., *Septoria* sp., *Phytophthora* sp. y *Pratylenchus* sp. Tales agentes causan enfermedades como chancro del fruto, mancha foliar, pudrición del rizoma, pudrición seca, pudrición blanda, agallas y lesiones en el rizoma. Dichas enfermedades causan disminución en el rendimiento del cultivo, sin embargo, la

gravedad del daño de cada uno de ellas dependerá del manejo de cada productor.

Entre las prácticas recomendadas para la prevención se encuentran: selección de semilla sana, tratamiento a la semilla y rotación de cultivo. Sin embargo, dichas medidas no garantizan en un 100 % el que puedan ser eliminadas las enfermedades y tienen el inconveniente adicional de aumentar el costo de producción del cultivo.

Sharman, Sighn y Chautan (1994) reportados por Monterroso (1996), proponen como alternativa para la producción de plantas libres de los principales patógenos que atacan al rizoma la introducción-micropropagación *in vitro* del jengibre.

La técnica de cultivo de tejidos consiste en cultivar asépticamente diferentes explantes constituidos por fracciones de un tejido u órgano que se extrae de la planta, lográndose con esto una multiplicación masiva *in vitro* (Villalobos y Thorpe, 1985).

Según Pérez Ponce (1997) esta técnica ofrece algunas ventajas con respecto a los métodos convencionales de propagación:

- Mayor rapidez en la introducción de productos, esto debido a que se hace una selección individual de plantas élites, los altos coeficientes de propagación, la uniformidad del producto y las elevadas producciones en espacios reducidos.

- Mayor calidad del producto, el valor de las vitroplantas se incrementa como consecuencia de la obtención de plantas libres de enfermedades y de la mejora de su fenotipo.
- Mayor facilidad en la comercialización, lo cual se facilita debido a la flexibilidad en la forma del producto. Facilidades en la transportación y embarque y la producción que se obtiene durante todo el año.

La micropropagación por cultivo de tejido se ha convertido en una herramienta de gran ayuda para la producción rápida de plantas de interés económico para el hombre, así como para limpiar de patógenos los tejidos vegetales (Salazar, 1985). Así mismo la técnica de micropropagación *in vitro* ha sido considerada por muchos investigadores como posible solución para aumentar los volúmenes de producción de material de siembra y mejorar la calidad de la semilla. Esta técnica permite una rápida reproducción del material de siembra, induciendo a la formación de brotes múltiples a partir de un solo meristema, obteniendo semilla asexual en una mayor cantidad y mejor calidad de la que se ofrece tradicionalmente a los productores de jengibre.

En Nicaragua en los últimos diez años el laboratorio de cultivo de tejidos del REGEN, ha realizado investigaciones orientadas a lograr la propagación vegetativa *in vitro* de especies, como quequisque (*Xanthosoma sagittifolium*), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), caña de azúcar (*Saccharum* sp.), camote (*Ipomoea batatas*), piña (*Ananas comosus*), papa (*Solanum tuberosum*) y banano (*Musa* sp.) dirigidas a

determinar los protocolos de propagación de estas especies. De igual manera se han realizado estudios del comportamiento en el campo de plantas de quequisque y banano multiplicadas en el laboratorio, las cuales superan en rendimiento a las plantas de los mismos clones propagados convencionalmente.

La ejecución de una investigación que trate de establecer y micropropagar algunos de los clones de jengibre en producción, abriría nuevas posibilidades y perspectivas, sobre todo en el área de sanidad y calidad de la semilla, tan necesarias para garantizar estabilidad y seguridad en los rendimientos. Con la realización de la presente investigación, se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Lograr la multiplicación masiva y rápida de plantas de jengibre, libres de las principales enfermedades fungosas y bacterianas, a través del uso de la técnica de cultivo de tejidos vegetales.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Lograr obtener plantas establecidas *in vitro* a partir de yemas abultadas de rizomas de jengibre obtenidos en el campo.
2. Definir en cual de los medios de cultivo estudiados se logran los mejores resultados en la micropropagación del jengibre en cuanto al comportamiento de las variables número de hijos, número de hojas, número de raíces, longitud de raíces y altura de planta.

II - MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicada en el km 12 ½ , carretera norte, Managua, Nicaragua. La duración del ensayo abarcó el período comprendido entre mayo de 1997 y septiembre de 1997.

Los materiales y equipos que se utilizaron en el estudio, tanto en la fase de campo como de laboratorio, son los siguientes:

- Ácido clorhídrico (HCL)
- Hidróxido de potasio (KOH)
- Agitadores
- Alcohol
- Autoclave
- Tubos de ensayos (15 x 2.5 cm)
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Hipoclorito de sodio (NaOCl)
- Tapones de goma (# 4)
- Escalpelos y cuchillas
- Regulador de crecimiento (6 - BAP)
- Frascos erlenmeyer
- Soluciones madres (MS)
- Horno
- Marcadores
- Mechero bunsen
- Pinzas
- Pipetas
- Placas petri
- Sacarosa
- Agar
- Papel aluminio
- Masking tape
- Beakers
- Algodón
- Agua destilada
- Agua desionizada

El ensayo se llevó a cabo en 2 fases: establecimiento de las yemas en un medio de cultivo estéril y la micropropagación o multiplicación *in vitro* de los explantes.

2.1 Fase de establecimiento del cultivo libre de patógenos

La primera fase tuvo como objetivo la obtención del material vegetativo libre del ataque de hongos y bacterias, el cual se utilizaría para la posterior siembra *in vitro* de los explantes. En esta fase se incluye la selección de plantas en el campo, la desinfección y establecimiento de ellas bajo condiciones asépticas.

El ensayo se inició con rizomas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), los cuales fueron extraídos de plantaciones de pequeños productores del municipio de Jinotepe en el departamento de Carazo.

a.) En el campo. Los rizomas fueron obtenidos de plantas seleccionadas de pequeñas plantaciones ubicadas en áreas propiedad de campesinos individuales. La selección de las mejores plantas se realizó considerando los aspectos morfológico, vigor y sanidad.

b.) En laboratorio. El material que se trajo del campo se lavó con detergente y fue enjuagado con agua destilada para evitar que quedaran residuos del detergente u otro material contaminante en la superficie de los rizomas. Se seleccionaron las yemas más desarrolladas de cada mano (estado de abultamiento) y se seccionaron

para facilitar su manejo y desinfección. Luego se realizó la primer desinfección con una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5 % durante 5 minutos.

En la cámara de flujo laminar, utilizando escalpelos y pinzas esterilizadas, se eliminaron las últimas capas de las yemas, quedando el explante de un tamaño de 1.0 - 1.5 cm de altura. Luego se realizó la segunda desinfección, siempre con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5 % por 5 minutos y al final se enjuagó con suficiente agua destilada esterilizada para eliminar los residuos de la sustancia y se practicó otra reducción de tamaño hasta dejar el explante entre 0.5 - 1.0 cm aproximadamente.

Posteriormente se realizó la siembra en 16 tubos de ensayo (uno por explante) de 15 x 2.5 cm conteniendo 10 ml del medio de cultivo en estado sólido. Los medios de cultivo se prepararon y esterilizaron previo a la siembra en autoclave a temperatura de 121 °C, durante 25 minutos. El medio de cultivo básico utilizado fue el Murashige - Skoog (1962), el cual se le adicionó 1.3 mg/l de ácido indol acético (AIA)+ 2 mg/l de bencil amino purina (6 -BAP). Este medio de cultivo se utilizó en estudios preliminares realizados en el laboratorio del REGEN.

Después de la siembra, los tubos conteniendo un explante cada uno fueron trasladados a un cuarto de crecimiento donde se establecieron bajo condiciones reguladas con temperatura de 25 ± 1 °C, intensidad lumínica de 2,000 lux, con 16 h luz y 8 h de oscuridad por un período

de cuatro semanas.

2.1.1 Variables evaluadas

Se utilizaron 16 repeticiones, las variables evaluadas fueron el porcentaje de contaminación fungosa, porcentaje de contaminación bacteriana y estado de desarrollo, en el cual se categorizaron los explantes como: necrosados (estadio I), plantas en desarrollo (estadio II) y plantas formadas (estadio III).

2.2 Fase de micropropagación

En esta fase se utilizaron diferentes concentraciones de 6 - BAP (0.0, 2.5 y 5.0 mg/l) y dos consistencias del medio de cultivo (sólido y líquido) durante tres subcultivos.

Se determinó cual medio de cultivo indujo a la mayor proliferación de hijos, raíces, hojas y altura de planta, considerando la influencia que pudiera tener la consistencia física del medio de cultivo, la concentración de 6-BAP y el número de subcultivos.

Para el inicio de este estudio se utilizaron las plantas obtenidas en la fase anterior, seleccionando las de mejor vigor y apariencia. Estas se limpiaron de tejido necrótico y fueron reducidas de tamaño, eliminando las hojas y podando las raíces, entre 0.5 y 1.0 cm de altura, esta operación se realizó en la cámara de flujo laminar. En estas

condiciones las plantas fueron luego establecidas en medio de cultivo basal al cual se le adicionó las diferentes concentraciones de 6-BAP. La siembra se realizó en tubos de ensayo de 15 x 2.5 cm tanto para medio sólido como para el medio líquido, en este último se utilizó papel filtro como soporte de los explantes. Cada subcultivo tuvo una duración de 28 días. Al finalizar este período, se procedió a podar tanto hojas como raíces del material vegetal, así como a la separación de los hijos formados, para posteriormente hacer transferencia individual de cada planta en un medio fresco. Este experimento se estableció de tal manera de que se garantizó que las plantas obtenidas en cada tratamiento fueran sembradas en las mismas condiciones.

Tabla 1. Variantes del medio de cultivo básico (MS) (1962) suplido con diversas concentraciones de 6-BAP y en dos consistencias del medio (sólido-líquido).

Tratamientos	Concentración de 6-BAP (mg/l)	Consistencia del medio de cultivo
1 - S	0.0	Sólido
1 - L	0.0	Líquido
2 - S	2.5	Sólido
2 - L	2.5	Líquido
3 - S	5.0	Sólido
3 - L	5.0	Líquido

2.2.1. Variables evaluadas. Se evaluaron cinco variables durante la fase de micropropagación, esta actividad se realizó al finalizar cada subcultivo. Las variables evaluadas y metodología empleada se detallan a continuación:

a.- Número de hijos por planta. Se efectuó el conteo del número de hijos que presentó cada explante y se calculó el promedio de estos por tratamiento y por subcultivo. Se consideró como hijos a cada uno de los brotes que se diferenciaron a partir del explante establecido inicialmente.

b.- Altura de planta. Medida en centímetros. La medición se realizó considerando la distancia desde la base del rizoma hasta el ángulo de inserción que forman las 2 últimas hojas. Se obtuvo la altura promedio de plantas por tratamiento y por subcultivo.

c.- Número de raíces por planta. Se contabilizó el número de raíces que se lograron desarrollar en cada uno de los explantes. Se obtuvo el promedio del número de raíces por planta, tratamiento y subcultivo.

d.- Longitud de raíces por planta. Se realizó una medición de la longitud de cada una de las raíces en centímetros y se obtuvo el promedio tanto por planta, por tratamiento y por subcultivo.

e.- Número de hojas. Se contabilizó el número de hojas que se lograron desarrollar en cada uno de los explantes, sin incluir las hojas

formadas por los hijos. Se obtuvo el promedio de éstas, tanto por tratamiento como por subcultivo.

2.3 Diseño estadístico.

El experimento de micropropagación se estableció utilizando el diseño estadístico de Bloques Completamente al Azar (B.C.A.). A las variables cuantitativas número de hojas, número de hijos, altura de planta, longitud de raíces y número de raíces se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y separación de medias de tratamiento según Tukey para encontrar las diferencias estadísticas de importancia entre ellos.

El diseño estadístico B.C.A. permite obtener resultados más precisos que en el Diseño Completamente Aleatorizado (D.C.A.) debido a la remoción de variabilidad producto de la manipulación de los explantes por más de un individuo tanto en la fase de establecimiento como en la fase de micropropagación, ya que aunque la técnica utilizada sea la misma, el grado de precisión difiere en cada caso; si alguno de los tratamientos se pierde o rechaza, el análisis sigue siendo efectivo, la pérdida relativa de información debida a los datos faltantes es de menos importancia que en cualquier otro diseño.

III.- RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Fase de establecimiento del cultivo *in vitro*

Los datos de porcentaje de contaminación con hongos y bacterias, así como los estadios de desarrollo de los explantes durante la fase de establecimiento se presentan en las Tablas 2 y 3. El porcentaje de contaminación bacteriana fue de 18.75 % (3 plantas), por otro lado no se presentó contaminación fungosa. El 81.25 % de las plantas (13) logró la adaptación a las condiciones de medio (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de contaminación bacteriana y fungosa encontrada en los explantes de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) desarrollados en la fase de establecimiento.

Total de explantes <i>in vitro</i>	Infección por bacteria	%	Infección por hongo	%	Plantas sanas	%
16	3	18.75	0	0	13	81.25

Aun después de haberse tomado todas las precauciones en cuanto a la desinfección de los explantes y las condiciones asépticas, se presentó contaminación bacteriana, debido a factores endógenos, sin embargo, estos datos son bajos en comparación con los obtenidos por Zelaya (1997), con las Zingiberáceas, jengibre y cardamomo (*Elletaria cardamomum*) y Hosoki y Sagawa (1977), en trabajos de jengibre. La ausencia de hongos en los medios de cultivo se debió

posiblemente al efecto de los desinfectantes utilizados al inicio del establecimiento.

En cuanto al los estadios de desarrollo, no hubo explantes necrosados. 23.08 % de las plantas (3) se encontraban en estadio de desarrollo II y 76.92 % (10 plantas) se formaron satisfactoriamente (estadio III) (Tabla 3).

Tabla 3. Estadios de desarrollo de los explantes de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) durante la fase de establecimiento.

Total explantes	Estadios de desarrollo.					
	I Explante necrosado		II Planta en desarrollo		III Planta formada	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
13	0	0	3	23.08	10	76.92

El hecho de haber logrado el 76.92 % de las plantas desarrolladas, se considera como un éxito, lo cual indica que el jengibre es un cultivo fácil de desarrollarse en medios de cultivos sencillos.

3.2 Fase de micropropagación

3.2.1 Altura de planta

Al realizar el análisis estadístico de los datos de la altura de las plantas desarrolladas en los 6 diferentes tratamientos, se obtuvieron

los siguientes resultados.

En el subcultivo 1 el tratamiento 3-L fue estadísticamente superior a los otros tratamientos con un valor promedio de 2.8 cm de altura, seguido por los tratamientos 1-S, 1-L, 2-S y 2-L con valores de 1.63, 2.08, 1.70 y 1.60 cm de altura respectivamente entre los cuales no existen diferencias estadísticas entre sí, el tratamiento 3-S con promedio de 1.29 cm de altura, fue estadísticamente similar a los tratamientos 1-S, 2-S y 2-L, y diferente a los tratamientos 1-L y 3-L (Tabla 4).

Tabla 4. Altura promedio (cm) de planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.

Tratamiento	Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
1-S	1.63 bc	2.39 a	2.08 b
1-L	2.08 b	1.74 a	3.21 a
2-S	1.70 bc	1.80 a	1.53 bc
2-L	1.60 bc	1.46 a	1.35 bc
3-S	1.29 c	1.36 a	1.13 c
3-L	2.8 a	1.58 a	1.36 bc

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según Tukey al 5 %.

En el subcultivo 2 no se encontró diferencia estadística entre los tratamientos en estudio, la altura de la planta varió entre 2.39 cm para el valor promedio más alto que corresponde al tratamiento 1-S y

1.36 cm que corresponde al tratamiento 3-S que presentó la menor altura promedio por planta.

En el subcultivo 3 el tratamiento 1-L resultó ser estadísticamente superior a los otros tratamientos, con un valor promedio de 3.21 cm , seguido por los tratamientos 1-S, 2-S, 2-L y 3-L con valores de 2.08 1.53, 1.35 y 1.36 cm de altura respectivamente, entre los cuales no existen diferencias estadísticas. En el tercer lugar se ubica el tratamiento 3-S que presentó la menor altura promedio con 1.13 cm , el cual es estadísticamente similar a los anteriores, pero diferentes a los tratamientos 1-S y 1-L.

Al hacer el análisis de la altura de planta en los diferentes medios de cultivo al final de los tres subcultivos estudiados, no se encontró tendencia a aumentar o disminuir la altura según el número de subcultivos (Figura 1).

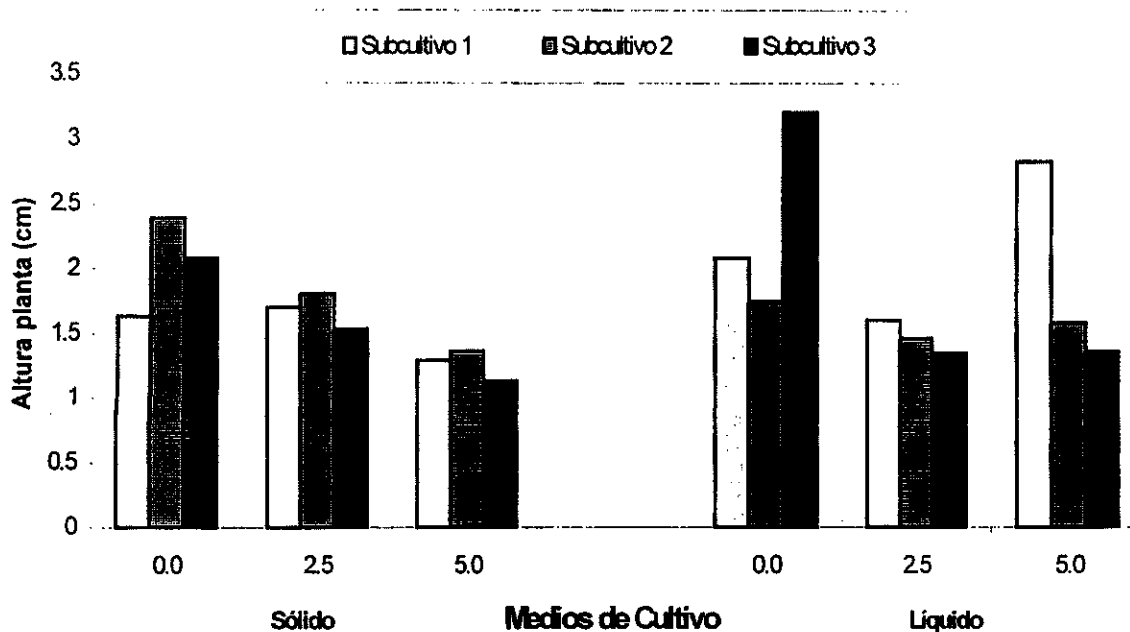


Figura 1. Altura promedio (cm) por planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

La consistencia del medio de cultivo ejerce una influencia importante en la altura de planta desarrollada. La consistencia líquida en el medio de cultivo indujo a una mayor elongación de plantas que el medio sólido.

La mayor elongación de planta se obtuvo cuando no hubo presencia del regulador de crecimiento 6-BAP. Por lo que el mejor medio de cultivo en cuanto a la inducción de la mayor altura fue la combinación de la consistencia líquida del medio y 0.0 mg/l de 6-BAP. Se observó también que el tratamiento más estable fue el 3-S, en el cual los valores no variaron mucho a través de los 3 subcultivos.

3.2.2 Número de hojas

De acuerdo al análisis de varianza realizado a los datos de la variable número de hojas de las plantas desarrolladas en los diferentes tratamientos, se obtuvieron los siguientes resultados: en el primer subcultivo no se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en estudio. El número de hojas promedio varió entre 3.0 para el valor más alto correspondiente al tratamiento 3-L y 1.6 correspondiente al tratamiento 2-L que presentó el menor número promedio de hojas (Tabla 5).

Tabla 5. Número promedio de hojas de planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.

Tratamientos	Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
1-S	2.50 a	2.00 a	1.82 a
1-L	2.42 a	1.25 ab	2.00 a
2-S	1.82 a	1.82 a	2.50 a
2-L	1.60 a	1.40 ab	2.00 a
3-S	2.08 a	0.83 b	1.64 a
3-L	3.00 a	1.63 ab	2.00 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según Tukey al 5 %.

En el segundo subcultivo los tratamientos 1-S (2.0) y 2-S (1.82) fueron superiores en cuanto a la emisión del número de hojas desarrolladas

pero fueron similares estadísticamente a los tratamientos 1-L, 2-L y 3-L cuyos valores promedios fueron de 1.25, 1.40 y 1.63 respectivamente. En cambio el tratamiento que presentó el menor número de hojas fue el 3-S con un promedio de 0.83 hojas por planta, el cual es estadísticamente similar a los tratamientos de consistencia líquida e inferior a los tratamientos 1-S y 2-S.

En el tercer subcultivo no se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en estudio. El número de hojas promedio varió entre 2.50 para el valor más alto correspondiente al tratamiento 2-S y 1.64 para el tratamiento 3-S que presentó el menor número promedio de hojas (Figura 2).

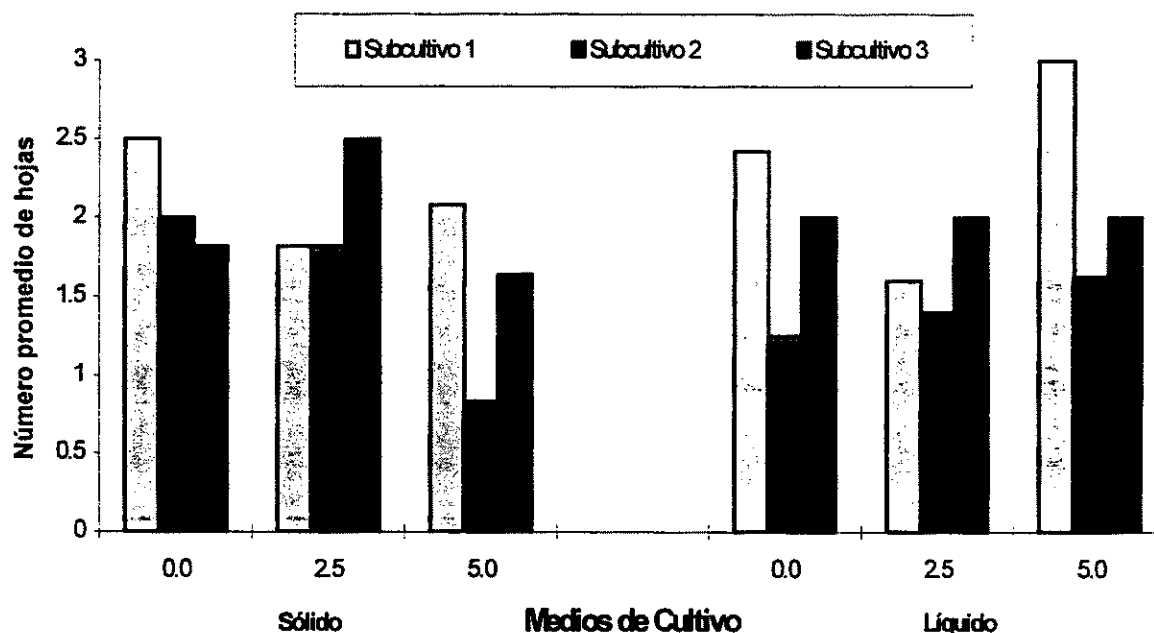


Figura 2. Número promedio de hojas por planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

No se encontró tendencia a aumentar o disminuir en el número de hojas con respecto al número de subcultivos. Además se observó que tanto la consistencia del medio como la concentración del 6-BAP, no influyeron sobre la producción de hojas. Sin embargo, se observó que el tratamiento en el que se indujo mayor número de hojas fue en el cual hubo una combinación de 5 mg/l de 6-BAP con el medio de consistencia líquida. El tratamiento más estable fue el 2-S en el cual el número de hojas promedio por planta no varió mucho durante los 3 subcultivos.

La no existencia de diferencia estadísticas significativas entre los tratamientos en los diferentes subcultivos puede ser explicado considerando el desarrollo ontogénico de las plantas (la aparición del número de hojas está pre-determinado según la especie, como ocurre en los bananos y los plátanos). Stover y Simmons (1987) en estudios de campo con clones de *Musa* reporta que para lograr la iniciación floral, la planta necesita producir entre 29-31 hojas. Reyes (1995), en trabajo de micropropagación *in vitro* con dos genotipos de *Musa* (AAA y AAB) no encontró diferencias en el número de hojas de las plantas desarrolladas en 12 variantes de medios de cultivo durante 5 subcultivos.

3.2.3 Número de hijos

El análisis de varianza realizado a los datos de la variable número de hijos del primer subcultivo no reportó diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. El número de hijos promedio varió entre

2.66 hijos por planta para el valor más alto correspondiente al tratamiento 3-S y 0.50 hijos por planta para el valor más bajo correspondiente al tratamiento 2-L que presentó el menor número de hijos por planta (Tabla 6).

Tabla 6. Número promedio de hijos de plantas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivadas en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

Tratamientos	Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
1-S	1.66 a	0.33 b	0.81 a
1-L	0.75 a	0.50 b	0.18 a
2-S	1.75 a	0.50 b	1.83 a
2-L	0.50 a	0.00 b	0.45 a
3-S	2.66 a	1.75 a	1.27 a
3-L	1.00 a	0.66 b	0.16 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según Tukey al 5 %.

En el segundo subcultivo el tratamiento 3-S fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos, con un valor promedio de 1.75, seguido por los tratamientos 1-S, 1-L, 2-S, 2-L y 3-L con valores respectivos de 0.33, 0.5, 0.5, 0.0, y 0.66 hijos por planta respectivamente y entre los cuales no se encontró diferencia estadística significativa.

En el tercer subcultivo no se encontró diferencia estadística entre los tratamientos en estudio, el número de hijos promedio osciló entre 1.83 hijos por planta para el valor más alto correspondiente al tratamiento 2-S y 0.16 hijos por planta correspondiente al tratamiento 3-L que presentó el menor número de hijos por planta (Figura 3).

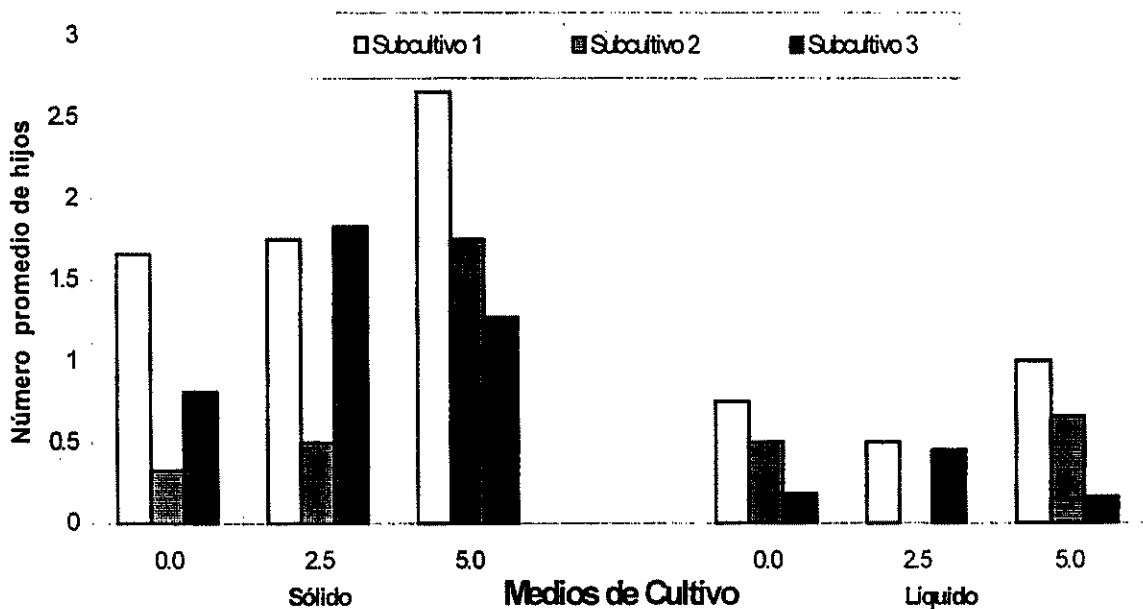


Figura 3. Número promedio de hijos por planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

No se encontró tendencia al aumento o disminución del número de hijos con respecto al aumento del número de subcultivos. Sin embargo, la consistencia del medio de cultivo ejerce influencia en la cantidad de hijos por planta desarrolladas. La consistencia sólida de el medio de cultivo induce a la formación de mayor cantidad de hijos. El mayor número de hijos se formó bajo el efecto del regulador de crecimiento en concentraciones de 5.0 mg/l en combinación con la

consistencia sólida del medio de cultivo, siendo el tratamiento 3-S el más estable en el cual no hubo gran variación en cuanto a sus valores.

Un fenómeno adicional que se observó durante la ejecución del presente estudio fue la aparición de callos en la base de cada una de las plantas, específicamente en los medios de consistencia sólida durante los tres subcultivos. Los callos observados eran blandos y de color verde-amarillo. Estos no fueron utilizados en la continuación del estudio, ya que el objetivo del mismo era obtener plantas a través de yemas abultadas y no a través de callos. Por otro lado Larkin y Scowcroft (1981), reportan que las plantas provenientes de callos presentan diferentes grados de variación, las cuales pueden ser de tipo epigenético o corresponder a mutaciones verdaderas.

La embriogénesis somática es la formación de un embrión a partir de una célula, sin la necesidad de la fusión de gametos (Tisserat *et al.*, 1979). Strasburgues (1878), citado por Gómez (1997), dice que esto no es un fenómeno artificial y es conocido en la naturaleza como una forma de apomixis llamada embrionía adventicia, sin embargo, también reporta que fueron Steward y Reinert *et al.* quienes dieron créditos por primera vez a la descripción de la embriogénesis somática en el año 1958.

Los embriones somáticos son estructuras bipolares con eje radical-apical y no poseen conexión vascular como el tejido materno. Estas estructuras bipolares son capaces de crecer y formar plantas

completas y normales. Este método es ampliamente considerado como el más eficiente para la producción masiva de plantas *in vitro*.

La embriogénesis somática indirecta consiste en diversas divisiones mitóticas que dan lugar a un callo. Esta fue observada por primera vez en suspensiones celulares de zanahoria (*Daucus carota* L.) por Steward *et al.* (1958) y a partir de callos creciendo en medio sólido por Reinert (1959). (Gómez, 1997).

3.2.4 Número de raíces

En los análisis de varianza realizados a los datos registrados del número de raíces promedio por planta se obtuvieron los siguientes resultados. Aunque en el primer subcultivo en los tratamientos 1-L y 3-S se registró un mayor número de raíces con 7.92 y 8.67 raíces por planta respectivamente, fueron similares estadísticamente a los tratamientos 1-S y 3-L con valores respectivos de 6.08 y 5.36 raíces por planta. El menor número de raíces promedio por planta en este subcultivo, se obtuvo en las plantas desarrolladas en los tratamientos 2-S y 2-L con valores de 3.27 y 2.8 raíces por planta, siendo similares estadísticamente a los tratamientos 1-S y 3-L, pero diferente a los tratamientos 1-L y 3-S (Tabla 7).

Tabla 7. Número promedio de raíces de plantas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

Tratamientos	Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
1-S	6.08 ab	5.75 a	6.73 a
1-L	7.92 a	2.75 b	3.45 a
2-S	3.27 b	5.09 a	8.92 a
2-L	2.80 b	0.60 b	3.27 a
3-S	8.67 a	2.58 b	6.82 a
3-L	5.36 ab	2.08 b	2.08 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según Tukey al 5 %.

En el segundo subcultivo los tratamientos 1-S y 2-S resultaron estadísticamente superiores en cuanto al número de raíces desarrolladas con 5.75 y 5.09 raíces promedio por planta respectivamente, seguido por los tratamientos 1-L, 3-S, 3-L y 2-L con valores respectivos de 2.75, 2.58, 2.08 y 0.6 raíces por planta y entre los cuales no existen diferencias estadísticas.

En el tercer subcultivo no se encontró diferencia estadística entre los tratamientos en estudio, el número de raíces por planta varió entre 8.92 para el valor más alto que corresponde al tratamiento 2-S y 2.08 para el tratamiento 3-L que presentó el menor número promedio de raíces por planta (Figura 4).

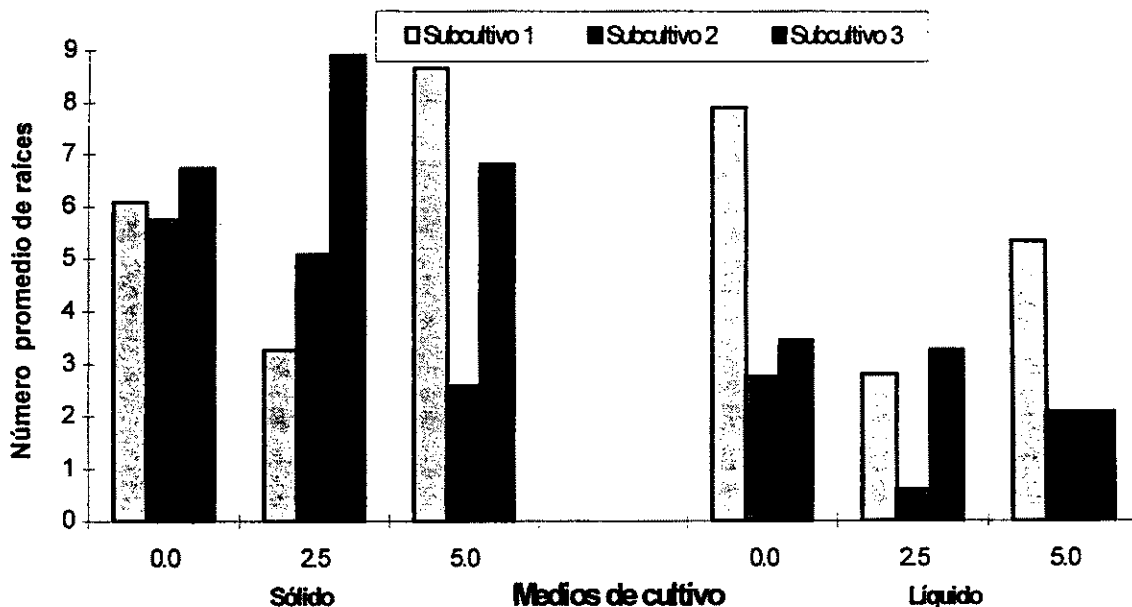


Figura 4. Número promedio de raíces de planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

No se encontró tendencia al aumento o disminución del número de raíces con respecto al aumento del número de subcultivos. La consistencia del medio de cultivo por su parte ejerce una influencia importante en la cantidad de raíces desarrolladas. Se observó que la consistencia sólida del medio de cultivo induce a la formación de mayor cantidad de raíces, en relación a la consistencia líquida. Se obtuvo el mayor número de raíces cuando se aplicó 2.5 mg/l de 6-BAP en el medio de cultivo de consistencia sólida y el menor número de raíces se obtuvo cuando se aplicó 2.5 mg/l de 6-BAP en el medio de cultivo de consistencia líquida. Las plantas desarrolladas en el medio de cultivo 1-S obtuvieron el número de raíces con categorías

superiores durante los 3 subcultivos, lo que además indica que fue el medio de cultivo más estable.

3.2.5 Longitud de raíces

Al hacer el análisis estadístico de la longitud de raíces en las plantas desarrolladas en los 6 diferentes tratamientos se encontraron los siguientes resultados: en el primer subcultivo el tratamiento 3-L fue superior en cuanto a la longitud de raíces emitidas y similar estadísticamente a los tratamientos 3-S, 2-S, y 1-L. En los tratamientos 1-L, 2-S, 2-L y 3-S no se registró diferencias estadísticas entre ellos. El tratamiento que presentó el menor valor fue el 1-S con un valor de 1.78 cm, el cual es diferente estadísticamente a los tratamientos 1-L y 3-L (Tabla 8).

Tabla 8. Longitud promedio de raíces (cm) de plantas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivadas en 3 variantes del medio básico MS (1962) y 2 consistencias del medio de cultivo, durante 3 subcultivos.

Tratamientos	Subcultivo 1	Subcultivo 2	Subcultivo 3
1-S	1.78 c	2.49 b	3.15 ab
1-L	2.73 ab	2.86 b	4.08 a
2-S	2.22 abc	4.39 a	3.81 ab
2-L	1.93 bc	0.16 c	2.17 b
3-S	2.33 abc	2.23 b	3.16 ab
3-L	3.00 a	2.13 b	2.04 b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según Tukey al 5 %.

En el segundo subcultivo el tratamiento 2-S con valor de 4.39 cm de raíces por planta fue estadísticamente superior al resto de tratamientos, seguido por los tratamientos 1-S, 1-L, 3-S y 3-L con valores de 2.49, 2.86, 2.23 y 2.13 cm de raíces por planta respectivamente y entre los cuales no existe diferencias estadísticas entre sí. El tratamiento 2-L fue el que presentó el menor valor para la longitud de raíces por planta con 0.16 cm de raíces por planta.

En el tercer subcultivo en la variable longitud de raíces, se presentó mayor promedio en el tratamiento 1-L, pero resultó similar a los promedios registrados en los tratamientos 1-S, 2-S y 3-S con valores de 3.15, 3.81 y 3.16 cm de raíces por planta respectivamente. En

cambio los tratamientos 2-L y 3-L fueron los que presentaron los menores valores de 2.17 y 2.04 cm de raíces por planta respectivamente, los cuales son similares estadísticamente a los anteriores y diferentes al tratamiento 1-L (Figura 5).

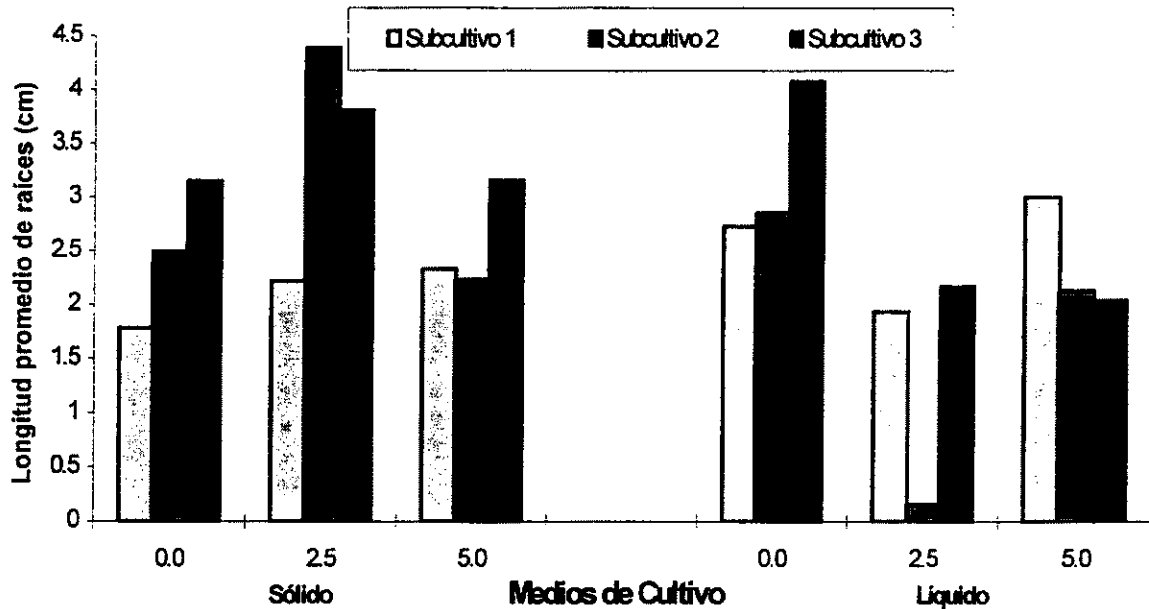


Figura 5. Longitud de raíces (cm) promedio por planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

No se encontró tendencia a aumento o disminución en la longitud de raíces con respecto al número de subcultivos. Por otro lado, la consistencia del medio de cultivo ejerce una influencia importante en la longitud de raíces. La consistencia sólida en el medio de cultivo induce al mayor desarrollo de las raíces en cuanto a longitud que el medio líquido. Tampoco existe una tendencia clara a aumentar o disminuir la longitud de raíces en dependencia de la concentración de

6-BAP. Sin embargo, el medio en que se obtuvo la mayor longitud de raíces fue en el cual se combinó concentración de 2.5 mg/l de 6-BAP con la consistencia sólida del medio de cultivo. Se observó también que el tratamiento más estable fue el 3-L.

De manera general se observó que en el desarrollo de las plantas hubo influencia tanto de la consistencia del medio de cultivo así como de las concentraciones de 6-BAP utilizadas (Figura 6).

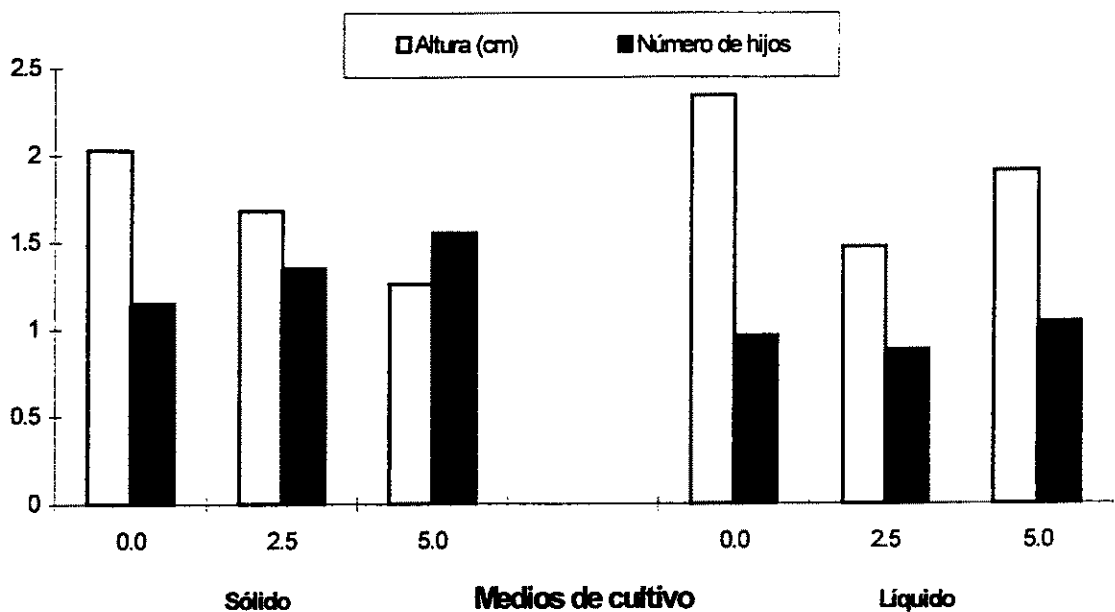


Figura 6. Valores promedios de altura de planta y número de hijos de planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

Los medios de consistencia sólido, favorecieron tanto el número y longitud de raíces, como el número de hijos. Por otro lado en los

medios de cultivo líquido se observó un mayor desarrollo del número de hojas y altura de planta.

Al momento de establecer una estrategia para la micropropagación masiva y comercial de clones de jengibre deben considerarse los presentes resultados. Cuando se requiera de mayor número de hijos durante la fase de micropropagación se prefiere el uso del medio de cultivo de consistencia sólida; y si se necesitan plantas con mayor altura y regular cantidad de raíces, lo que es normal cuando se preparan a las plantas para ser establecidas en campo, se recomienda el uso de medios de cultivo de consistencia líquida (Figura 7).

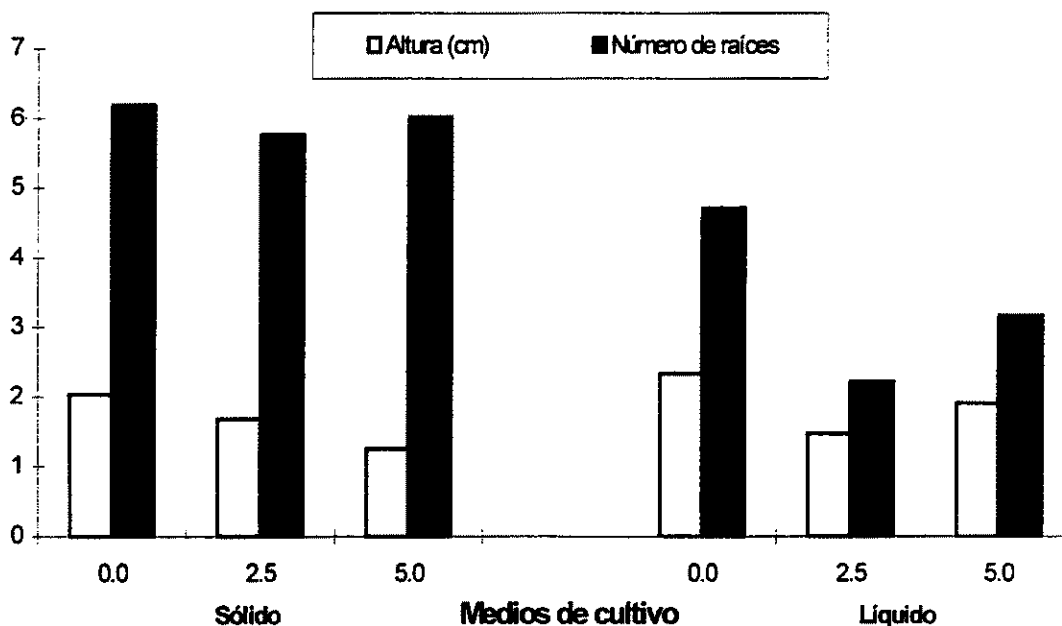


Figura 7. Valores promedios de altura de planta y número de raíces de planta de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivados en tres variantes del medio básico MS (1962) y dos consistencias del medio de cultivo, durante tres subcultivos.

IV.- CONCLUSIONES

Fase de establecimiento

1. La contaminación causada por bacteria fue leve y no se presentó contaminación fungosa alguna.
2. El porcentaje de plantas formadas (estadio III de desarrollo), fue alto al cabo de 28 días de establecido el experimento.

Fase de micropropagación

3. La consistencia sólida del medio de cultivo en combinación con 5.0 mg/l de 6-BAP indujo al mayor número de hijos por planta.
4. El mayor número de raíces promedio por planta se obtuvo con el medio de cultivo sólido y en presencia de 2.5 mg/l del regulador de crecimiento 6-BAP.
5. En la variable número de hojas, no se observó efecto por influencia de la consistencia del medio de cultivo, así como de la concentración de 6-BAP utilizada.
6. La consistencia líquida del medio de cultivo favoreció la altura promedio de planta, independiente de la concentración de 6-BAP utilizada.

7. La consistencia líquida del medio de cultivo favoreció la altura promedio de planta, independiente de la concentración de 6-BAP utilizada.

8. La combinación de medio de cultivo de consistencia sólida con 2.5 mg/l de 6-BAP indujo a la mayor longitud de raíces por planta.

V.- RECOMENDACIONES

1. Utilizar la técnica de micropropagación *in vitro* para la producción masiva del jengibre, considerando los resultados obtenidos en el presente estudio.
2. Utilizar el medio de consistencia sólido en combinación con 5.0 mg/l de 6-BAP cuando se requiera mayor proliferación de hijos, o sea en la fase de micropropagación.
3. Estudiar el comportamiento de las plantas obtenidas en el estudio en condiciones de vivero y de producción.
4. Utilizar en los próximos experimentos material vegetal proveniente de los clones de jengibre que se utilizan en las principales zonas productoras de este rubro (Nueva Guinea y El Rama), con miras a posibilitar la producción material vegetal sano, libre de las principales enfermedades fungosas y bacterianas.

5. Considerando la aptitud para la formación de callos que tiene el jengibre se recomienda estudiar la posibilidad de micropropagar este cultivo aplicando técnicas especiales como la de inmersión temporal con la cual se pueden obtener mayores volúmenes de producción y estudiar el efecto que tiene sobre la aparición de variantes somaclonales.

VI.- REFERENCIAS

- Gómez , R. 1997. Capítulo: Generalidades sobre la embriogénesis somática. Documento básico del I Curso Internacional de Propagación *in vitro* de Especies Vegetativas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba. Pp 93-109.
- Góngora, J. y Luna, J. 1996. Evaluación fitosanitaria del cultivo de jengibre (*Zingiber officinale*) en Nueva Guinea y El Rama. Documento del CATIE - INTA. 14 pp.
- Guevara, R. 1997. Mercado de jengibre. En: Nicaragua for export. Revista del exportador. APENN. Managua, Nicaragua. pp.3-5.
- Hosoki T. y Sagawa Y. 1977. Clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) through tissue culture, En: Hort Science 12 (5) :451- 452.
- Jirón, P. y Fonseca, A. 1997. Jengibre. En: Nicaragua for export Revista del exportador. APENN. Managua, Nicaragua. pp.6-7.

- Larkin, P.J. y Scowcroft, W.R. 1981. Somaclonal variation, a novel source of variability from cell cultures of plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60:1-16.
- Mena, G. y Olivares, Y. 1997. Plagas, hongos y bacterias arrasan campos de jengibre de Nueva Guinea. En: *Diario La Prensa* 12 de diciembre.
- Monterroso, S. D. 1996. Jengibre y quequisque cultivos priorizados en el trópico. Situación actual, pronóstico fitosanitario y propuesta para la implementación del MIP con pequeños productores. CATIE / INTA. 37 pp.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. En: *Physiology Plantarum*. United States of America. pp. 473 - 497.
- Pérez Ponce, J. N. 1997. Capítulo: Introducción. Curso Internacional de Propagación *in vitro* de Especies Vegetativas. Instituto de Biotecnología de las plantas. Santa Clara, Cuba. Pp 1-14.
- Reinert, J. 1959. Über die kontrolle der morphogenese und die induktion von adventiva embryonen an gemebekulturen aus korotten. *Planta* 53: 318 - 333.

- Revista del Campo. 1996. Mercado con sabor a jengibre. Managua, Nicaragua. No. 54 ; Pp 29-33.

- Reyes, G. 1995. Micropropagation and *in vitro* conservation of two *Musa* genotypes: Banana (AAA) and Plantain (AAB). Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden. MSc.Thesis. 42 pp.

- Saavedra, M. 1997a. El jengibre: Una planta de múltiples usos. En: Diario La Prensa, 11 de Agosto.

- Saavedra, C. 1997b. Documento emitido por el Programa de rehabilitación arrocero y desarrollo campesino (PRA-DC-PNDR). Managua, Nicaragua. 6 pp.

- Salazar, S. 1985. Micropropagación de aráceas comestibles. En: Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicaciones. CIAT, Cali , Colombia. Pp 469 - 480.

- Steward, F.C. ; Mapes, M.O. y Mears, K. 1958. Growth and organized development of cultured cells; 2: Organization in cultures grown from freely suspended cells. Amer, J. Bot. 45: 705 - 708.

- Stover, R. H. y Simmons, N. W. 1987. Bananas. Longman Scientific & Technical. 468 pp.

- Tisserat, B. ; Esan, E. B. y T. Murashige. 1979. Somatic Embryogenesis in angiosperms. Hort. Rev. 1: 1-78.

- Villalobos, V. M. y Thorpe, T. A. 1985. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicaciones. CIAT, Cali, Colombia. Pp 127 - 141

- Zelaya, L. P. 1997. Propagación *in vitro* de zingiberáceas. A Scientific and Technical Journal Published by Zamorano. Vol 38 (1) : 68

VII.- GLOSARIO

Acido Indol Acético (AIA)

Regulador de crecimiento, el cual es sintetizado en partes apicales. Estimula el elongamiento celular.

Asepsia

Libre de gérmenes. Procedimiento para preservar de microbios el material quirúrgico.

Bencil Amino Purina (6-BAP)

Regulador de crecimiento, sintetizado en partes radiculares. Estimula la división celular.

Callo

Conjunto de células diferenciadas.

Clon

Individuos genéticamente idénticos entre ellos e idénticos a la planta madre que han sido multiplicados vegetativamente.

Cultivar

Variedad cultivada.

Embrionía adventicia

Proceso de reproducción de las plantas en la cual no se efectúa la doble fecundación.

Embrionía somática

Formación de un embrión a partir de un tejido somático, sin la necesidad de la fusión de gametos.

Epigenético

Cambios que ocurren en el orden de las bases nitrogenadas, estos son de orden temporal.

Explante

Material inicial en cultivo in vitro (tejido vegetal de tallo, hoja, yema, raíz, etc.).

Fitohormona

Hormonas producidas de forma natural en la planta.

Meristema

Tejido vegetal cuyas células tienen la capacidad de dividirse originando nuevas células.

Mitosis

Proceso típico de división nuclear con formación de cromosomas y de huso, teniendo como resultado dos núcleos hijos que presentan el mismo número de cromosomas, el cual a su vez es idéntico al del núcleo parental, dicho proceso es seguido de división celular.

Ontogenia

Historia del desarrollo y crecimiento de un individuo.

Rizoma

Es una estructura de tallo especializada en la cual el eje principal de la planta crece horizontalmente, justo abajo o sobre la superficie del suelo.

Regulador del crecimiento

Fitohormonas producidas sintéticamente.

Totipotencia

Capacidad de una célula vegetal de dar origen a un individuo idéntico a la planta madre.

Variación somaclonal

Alta frecuencia de mutaciones que se da en el cultivo de tejido.

Vigor

Capacidad de las semillas de germinar y emerger en un período determinado de tiempo y en condiciones favorables del medio.

Vitroplanta

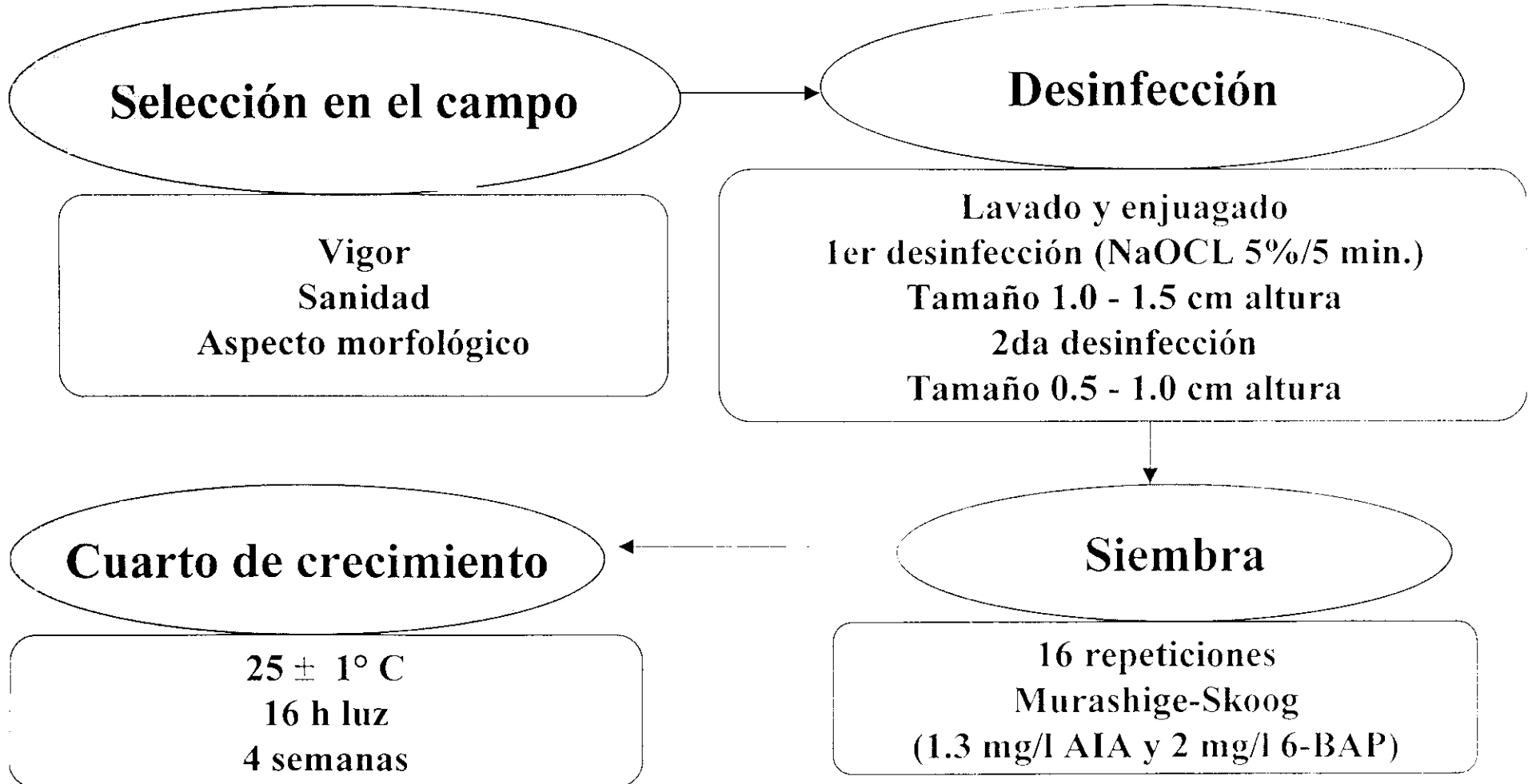
Planta producida *in vitro*.

Yema

Brote de crecimiento o flor rudimentaria.

VIII .- ANEXOS

FASE DE ESTABLECIMIENTO



FASE DE MICROPROPAGACIÓN

