

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ESCUELA DE PRODUCCION VEGETAL

TRABAJO DE DIPLOMA

EFEECTO DEL ASA, MANITOL E INTENSIDAD LUMINICA

SOBRE EL CRECIMIENTO DE APICES *in vitro*

DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz).

OBSERVACIONES PRELIMINARES

Autor : Lilliam Adela Rodríguez Osorno

Asesor: Ing. José Dolores Cisne

Managua, Nicaragua, 1990

DEDICATORIA

A la memoria de mi querida abuela:

Adela

A mis padres Lilliam y Fernando,
que con su cariño me incentivaron a la culminación
de este trabajo

A mi pequeña hija Ariana,

Con todo Amor.

Lilliam Adela Rodríguez.

C O N T E N I D O

	Página
CONTENIDO	i
INDICE DE CUADROS	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	5
2.1 Localización del experimento	5
2.2 Material Vegetal	5
2.3 Procedimiento de cultivo	5
2.4 Obtención de los explantes para la etapa experimental	8
2.5 Evaluación	8
2.6 Análisis de datos	10
III. EXPERIMENTO 1 . Efecto del ASA	11
3.1 Resultados	11
3.2 Discusión	14
IV. EXPERIMENTO 2. Efecto del Manitol	16
4.1 Resultados	16
4.2 Discusión	16

V.	EXPERIMENTO 3. Efecto de diferentes intensidades lumínicas	20
	5.1 Resultados	20
	5.2 Discusión	20
VI.	CONCLUSIONES	25
VII.	RECOMENDACIONES	26
VIII.	BIBLIOGRAFIA	27
IX.	ANEXO	

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Medio básico Murashige y Skoog (1962)	7
2	Diferentes tratamientos realizados en los experimentos: Acido acetyl salicilico, Manitol e Intensidad Lumínica.	9
3	Análisis de Varianza para el experimento 1 (ASA), en las variables altura, número de hojas y número de yemas.	13
4	Análisis de Varianza para el experimento 2 (Manitol), en las variables altura, número de hojas y número de yemas.	18
5	Análisis de Varianza para el experimento 3 (Luz), en las variables altura, número de hojas y número de yemas.	21

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Efecto de 4 niveles de ASA en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca <u>in vitro</u> a las 8 semanas.	12
2	Efecto de 4 niveles de Manitol en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca <u>in vitro</u> a las 8 semanas.	17
3	Efecto de 4 intensidades Lumínicas en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca <u>in vitro</u> a las 8 semanas.	22

RESUMEN

En el presente estudio se trató de determinar la influencia de 3 factores: Acido Acetil Salic/lico (ASA), Manitol e intensidad de la Luz, sobre el crecimiento de plantas de yuca (Manihot esculenta) in vitro. Se trabajó con explantes de la variedad M-Col 22 con una edad promedio de 7 meses. Los explantes fueron yemas apicales que se inocularon en el medio básico Murashige y Skoog. Los cultivos fueron mantenidos en un cuarto de incubación a $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 3000 lux y un fotoperíodo de 16 horas. Cuando las plantas alcanzaron 3 cm de altura aproximadamente a los 120 días, fué realizada la inoculación de las yemas en los diferentes medios para los experimentos programados. Se efectuaron 4 tratamientos para el factor ASA, siendo estos 0, 2, 5 y 10 mg/l de ASA. Para el factor Manitol 0, 100, 300 y 500 mg/l, y finalmente para luz fueron probadas 4 intensidades 500, 1000, 1500 y 2500 lux. Se observó buen resultado en todos los tratamientos, sin embargo aunque los 3 factores estudiados inhibieron el desarrollo de plantas de yuca in vitro, se observó mejor efecto con el factor ASA. La adición de 2 mg/l de este ácido resultó ser una concentración altamente inhibitoria para las 3 variables estudiadas (altura, número de hojas y número de yemas). La concentración de 100 mg/l de Manitol inhibió el crecimiento de las plantas en forma más eficiente que los demás tratamientos. En el caso del efecto de la Intensidad lumínica, se observó que 500 lux fué el tratamiento más efectivo en la reducción del crecimiento.

I. INTRODUCCION.

La yuca (Manihot esculenta Crantz) es una de las plantas tropicales de importancia, difundidas en todos los continentes. Existen diversas opiniones acerca del centro de origen de esta especie, sin embargo, gran número de botánicos y ecólogos, entre ellos Domínguez (1987), consideran la yuca como una planta originaria de América tropical, y del nor este del Brasil.

Coursey y Haynes (1970), compararon diferentes cultivos y observaron que la yuca era potencialmente una de las plantas más eficientes como fuente de carbohidratos dentro de los cultivos alimenticios. Según CIAT (1981), es una fuente importante de calorías para 500 millones de personas en Africa, América Latina y Oceanía.

La yuca también es utilizada en la alimentación animal como fuente principal de energía en dietas para cerdos, pollos y ganado vacuno (Phillips, 1974; Coursey y Halliday, 1974; Anónimo, 1977).

La producción anual de yuca a nivel mundial, según CIAT (1981), se estimó en 130 millones de toneladas métricas, mientras que en Nicaragua, según la misma fuente, fue de 20 mil toneladas métricas, de las cuales el 100 por ciento se destinaron al consumo humano.

El beneficio social de incrementar la producción de yuca es muy grande, e incluye el incremento en la producción agrícola y la reducción en la importación de granos, mejorando la suficiencia en la producción de alimentos; además potencialmente puede llegar a ser un recurso energético en forma de alcohol carburante (Pachico y Linam, 1981), también mejora el nivel nutricional de los grupos de bajos ingresos y hace productiva la tierra y la mano de obra que no se está utilizando en el sector agrícola (CIAT, 1981).

Las características botánicas de M. esculenta muestran una amplia variabilidad, que indica un alto grado de hibridación interespecífica, por la cual existen numerosos cultivares de esta especie que garantizan un enorme potencial genético. El CIAT posee una colección de 3 mil clones, sin embargo, a pesar del potencial genético y económico, no se han realizado trabajos significativos en el mejoramiento de la yuca (CIAT, 1981).

La base del mejoramiento de un cultivo radica en su diversidad genética: diversidad en su respuesta a mejores prácticas agronómicas, en su resistencia a plagas y enfermedades y en muchas otras características. La utilización eficiente de la diversidad depende básicamente de una colección bien mantenida que sea representativa de la variabilidad genética dentro de la especie; facilitando as

el intercambio de germoplasma a través de las fronteras internacionales (Cock, 1974).

Hay varias formas de conservar el germoplasma, cada una con sus problemas particulares. Por ejemplo, las colecciones vivas ocupan mucho espacio y mano de obra; además los riesgos por pérdidas, ya sea, por ataque de plagas y enfermedades, fenómenos naturales o errores humanos, son muy elevados. Surge entonces la conservación in vitro como una opción factible para eliminar y corregir algunos de estos problemas.

Los métodos actualmente utilizados para la conservación de cultivos in vitro, según Roca et al (1982), son los siguientes:

Crecimiento cont/nuo a tasas normales.

Limitación del crecimiento a tasas m/nimas.

Supresión total del crecimiento y metabolismo.

De éstos el que más se adapta a nuestras condiciones y posibilidades, es el método de limitación del crecimiento a tasas m/nimas. Dicho método consiste en someter los cultivos a diferentes factores tales como: temperatura; nutrimentos orgánicos e inorgánicos (reguladores de crecimiento y concentración osmótica del medio); intensidad lum/nica. Estos factores, provocan la disminución de la tasa de crecimiento de los cultivos

in vitro, permitiendo extender al máximo el intervalo de transferencia a medios frescos.

En el presente trabajo se llevaron a cabo tres experimentos, tomando en cuenta algunos de los factores mencionados como limitantes del crecimiento. En este caso se utilizaron: la intensidad lumínica, empleada por Roca, W. M. et al (1982) y Espinoza, N. et al (1984); el osmoregulador, Manitol utilizado en diferentes cultivos por Roca, (1982) y otros; y el ácido acetil salicílico, empleado por Delgado (1989), en la conservación de germoplasma in vitro de papa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el posible efecto de los 3 factores mencionados anteriormente en la limitación de la tasa de crecimiento in vitro de plantas de yuca. Además, dejar constancia de que la metodología seguida en este trabajo puede constituir una guía para investigaciones más específicas en esta área.

II. MATERIALES Y METODOS

Localización del experimento.

El trabajo experimental fué realizado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Recursos Genéticos de Nicaragua (REGEN), Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua.

La investigación se efectuó en el periodo comprendido entre Septiembre de 1989 y Febrero de 1990.

Material vegetal.

Se utilizaron plantas de yuca de la Variedad M-Col 22, con una edad promedio de 7 meses.

El material vegetal fué colectado en el Banco de Germoplasma REGEN-UNA. El tipo de explante utilizado fueron yemas apicales.

Procedimiento de cultivo.

Inmediatamente después de colectado el material se procedió a su desinfección. Para ta efecto los explantes fueron depositados en un beaker con agua corriente, vertiéndose en este 5 gotas de jabón l/quido por cada 100 ml de agua,

manteniéndose en agitación por 5 minutos. A continuación se enjuagaron con agua del grifo. Posteriormente los explantes fueron desinfectados mediante su permanencia en agitación en una solución de cloro (3% v/v) durante 3 minutos. Los explantes fueron llevados a la cámara de flujo laminar donde se lavaron 3 veces con agua destilada estéril, quedando éstos listos para su disección e inoculación la cual se realizó de la siguiente forma:

Primeramente los instrumentos (pinzas y bisturíes) fueron flameados después de introducirlos en alcohol al 70%. Luego, en placas petri previamente esterilizadas (el instrumental se esterilizó en autoclave a 15 lbs de presión y 121°C durante 20 minutos), se colocaron los explantes. Con la ayuda de pinzas y escalpelo se cortaron las hojas exteriores del brote, hasta dejar la yema apical con un número aproximado de 5 a 7 primordios foliares y un tamaño de 0.5 cm. Una vez obtenidas las yemas apicales, estas fueron inoculadas en tubos de ensayo de 80x15 mm conteniendo alícuotas de 10 ml de medio básico semi-sólido de Murashige y Skoog (1962). (Cuadro 1) suplementado con 3% de sacarosa y reguladores de crecimiento. El pH del medio fue ajustado a 5.7.

Cuadro 1. Medio básico Murashige and Skoog (1962)

Compuestos Inorgánicos	
Micronutrientes	mg/l
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
KL	0.83
H_3BO_3	6.2
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Na_2EDTA	37.3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8

Compuestos Orgánicos	
	mg/l
Sacarosa	3000
Myo-inositol	100
Ac. Nicot/nico	50
Piridoxina HCL	50
Tiamina HCL	0.4
Glicina	2

Los cultivos se mantuvieron en un cuarto de incubación a 26 +/- 2C, 3000 lux y un fotoperiodo de 16 horas.

Las yemas apicales permanecieron por espacio de 120 días en estas condiciones hasta la obtención del material necesario para los diferentes experimentos.

Obtención de los explantes para la etapa experimental.

Una vez logradas plantas de aproximadamente 3 cm de altura (4 meses), se realizó la misma operación que en la siembra inicial, y cada yema así obtenida fué recultivada de acuerdo al tratamiento correspondiente, en su respectivo medio de cultivo (Cuadro 2).

En esta etapa se tomaron como explantes los entrenudos de las plantas in vitro, con un tamaño aproximado de 0.5 cm., inoculando éstos en el medio de cultivo Murashige y Skoog con los tratamientos mencionados en el cuadro anterior. El medio de cultivo fué esterilizado en autoclave bajo las mismas condiciones que el instrumental.

Evaluación.

Una vez cumplidas 8 semanas de cultivo en el medio de conservación y para cada uno de los experimentos se realizaron las siguientes evaluaciones:

Cuadro 2. Diferentes tratamientos realizados en los Experimentos: Acido Acetil Salicilico, Manitol e Intensidad Lumínica.

ASA (mg/l)	
T0	- 0
T1	- 2
T2	- 5
T3	- 10

MANITOL (mg/l)	
T0	- 0
T1	- 100
T2	- 300
T3	- 500

INTENSIDAD LUMINICA (lux)	
T0	- 2500
T1	- 1500
T2	- 1000
T3	- 500

a. Altura de planta.

Esta fué tomada con una regla milimétrica a partir de la base de la planta (sin tomar en cuenta las raíces) hasta el ápice terminal de la misma.

b. Número de hojas.

Se tomaron en cuenta el total de hojas.

c. Número de yemas.

Se tomó como yemas cada entrenudo de la planta.

d. Presencia de raíces.

Únicamente se observó la existencia o ausencia de ellas

e. Color de la hoja.

Se observaron los colores verde intenso, verde pálido y clorótico.

Análisis de datos.

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (BCA). Cada tratamiento contó con siete repeticiones. Se transformaron datos para las variables, número de hojas y número de yemas de tratamiento ASA.

Se realizó análisis de varianza para cada uno de los tratamientos. Para determinar la significancia estadística de las variables, se utilizó la prueba DUNCAN a los niveles 5% y 1% de probabilidad.

III. EXPERIMENTO 1

Efecto del ASA.

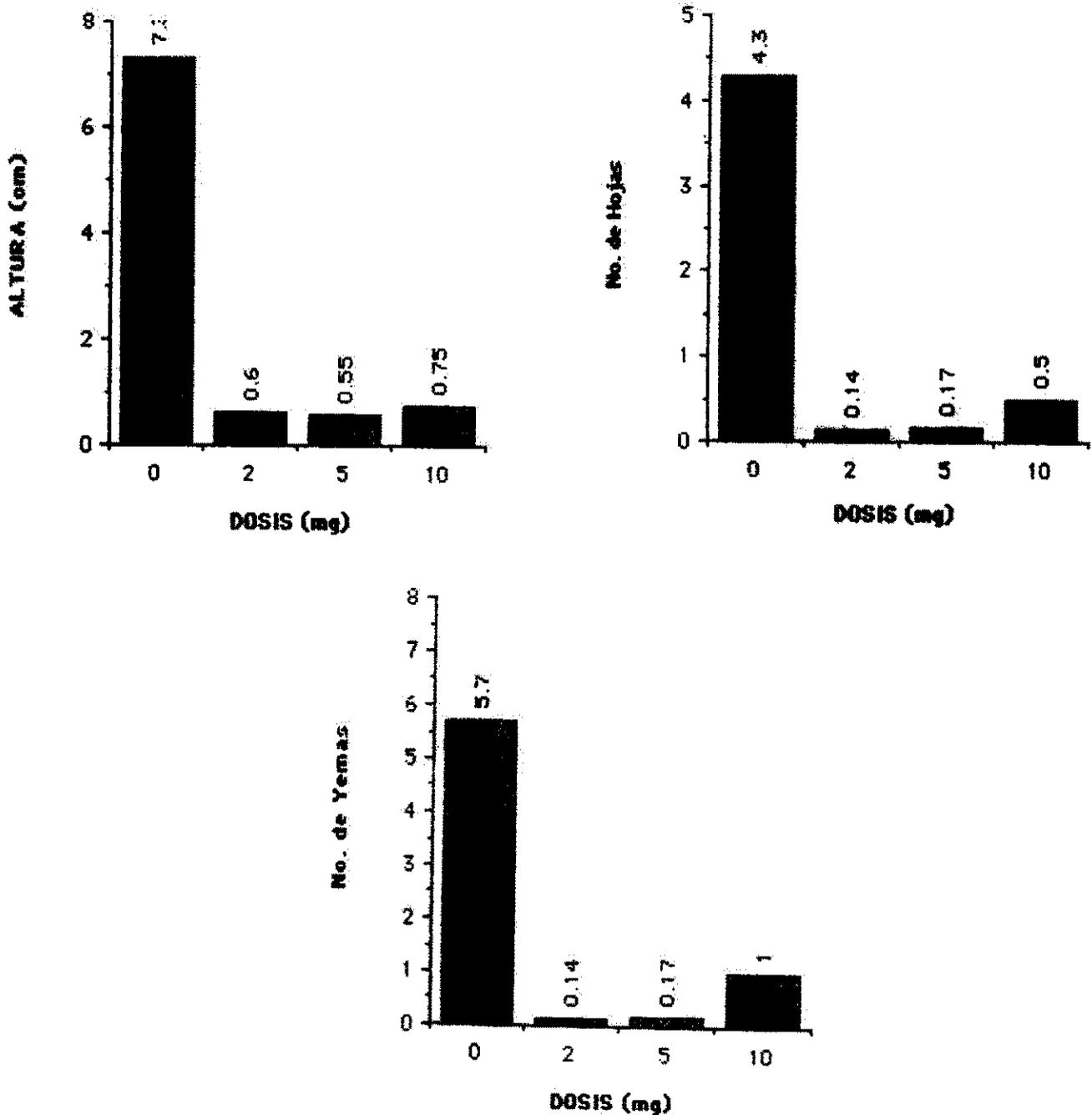
3.1 RESULTADOS

En la Fig. 1, podemos observar que el tratamiento testigo (0 mg/l de ASA) presentó los máximos valores, en comparación a los demás tratamientos (2, 5 y 10 mg/l). Se observa también un aumento del número de yemas al utilizar concentraciones mayores a los 2 mg/l.

El análisis de varianza reveló diferencia significativa del 1% para la fuente de variación tratamiento en las variables número de hojas, altura de planta y número de yemas (ver Cuadro 3).

Aunque se nota un ligero incremento de los valores en las variables altura, número de yemas y número de hojas (Fig. 1), para el tratamiento 10 mg/l de ASA, el análisis de separación de medias de DUNCAN (véase anexo) con un nivel de significancia del 1% mostró que los tratamientos 2, 5 y 10 mg, son iguales teniendo diferencia significativa solamente con el testigo.

Figura 1. Efecto de 4 niveles de ASA en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca in vitro a las 8 semanas.



Cuadro 3. Análisis de varianza del Experimento 1 (ASA), para las variables, número de hojas y número de yemas.

ALTURA

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	72.713	6	2.119	0.855	0.547
Trat	223.274	3	74.425	30.036	0.000 **
Error	39.645	16	2.478		

** significativo al 1%

NUMERO DE HOJAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	0.354	6	0.059	0.375	0.884
Trat	8.580	3	2.860	18.174	0.000 **
Error	2.518	16	0.157		

** significativo 1%

NUMERO DE YEMAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	0.925	6	0.154	1.452	0.256
Trat	12.368	3	4.123	38.832	0.000 **
Error	1.699	16	0.106		

** significativo 1%

3.2 DISCUSION

La presencia de ASA, independientemente de su concentración en el medio nutritivo (2, 5 y 10 mg/l), reduce visiblemente la tasa de crecimiento en plantas de yuca. Este comportamiento también es observado en las variables número de hojas y número de yemas (Fig. 1).

Al comparar el tratamiento testigo con el tratamiento 2 mg/l de ASA, se observó una gran diferencia, encontrándose esta dosis altamente inhibitoria. El comportamiento fué similar en las 3 variables estudiadas.

Sin embargo, al comparar los tratamientos con presencia de ASA, vemos como a medida que aumenta la concentración del ácido, hay un aumento en el número de yemas. Se llega a un determinado nivel en que aunque la concentración de ASA sea mayor, ésta no actúa causando un efecto de limitación del crecimiento, sino posiblemente haya sinergismo con otros reguladores endógenos estimulándose la brotación. Estos resultados son similares a los encontrados por Lee y Skoog, (1965); Johri, (1978), donde plantean que el ASA podr/a afectar el crecimiento e inducir brotación, por disminuir los niveles de auxinas, y también podr/a actuar favoreciendo la

producción de etileno en las etapas iniciales del cultivo (Lieberman, 1979).

Según Audus, (1972) y Larqué-Saavedra, A. (1978), este ácido, perteneciente al grupo de los silicilatos, interfiere en la fosforilación oxidativa que estimula la respiración subcelular, pudiendo esto afectar la concentración de dióxido de carbono dentro de la célula, induciendo al cierre de estomas.

López, (1987) formula la hipótesis de que el ASA afecta determinadas actividades enzimáticas. Apunta que el ASA puede inhibir el crecimiento, favoreciendo la producción de enzimas que degradan o inactivan a las auxinas endógenas y que esta inhibición del crecimiento está en función de la concentración de ASA presente.

IV. EXPERIMENTO 2.

Efecto del Manitol.

4.1 RESULTADOS

El tratamiento testigo (0 mg/l de Manitol), alcanzó los mayores valores en relación al resto de tratamientos, teniendo similar comportamiento en las tres variables estudiadas: altura de planta, número de hojas y número de yemas (ver Fig. 2).

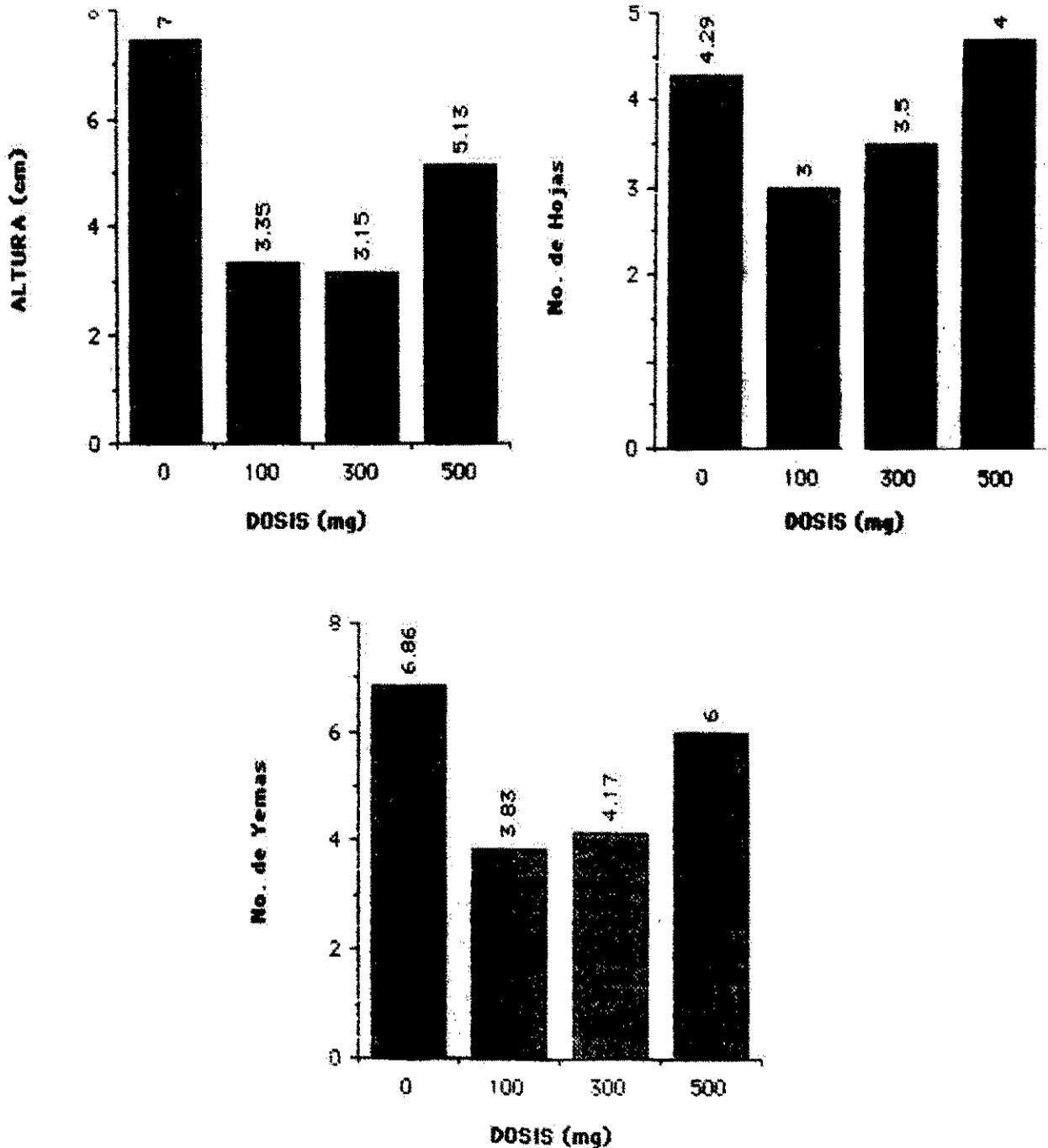
El análisis de varianza (Cuadro 4) resultó no significativo en las 3 variables, aunque se observó una ligera disminución en los valores del tratamiento 100 mg/l para las variables número de hojas y número de yemas.

Los valores de altura, número de hojas y número de yemas se incrementan nuevamente en el tratamiento 500 mg/l. En este tratamiento se observaron plantas con buen enraizamiento y coloración verde intensa.

4.2 DISCUSION

Claramente se observó que la sola adición de Manitol en el medio de cultivo provoca cierta inhibición en el crecimiento del material vegetal.

Figura 2. Efecto de 4 niveles de Manitol en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca in vitro a las 8 semanas.



Cuadro 4. Análisis de varianza del Experimento 2 (Manitol), para las variables altura, número de hojas y número de yemas.

ALTURA

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	85.902	6	14.317	1.602	0.211
Trat	70.975	3	23.658	2.647	0.084
Error	143.017	16	8.039		

NUMERO DE HOJAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	18.455	6	3.076	0.85	0.551
Trat	13.265	3	4.422	1.222	0.334
Error	57.902	16	3.619		

NUMERO DE YEMAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	46.685	6	7.781	1.686	0.189
Trat	40.078	3	13.359	2.895	0.068
Error	73.839	16	4.615		

Aunque no se encontró diferencia significativa en los tratamientos que incluyen Manitol, se observa mayor crecimiento en el tratamiento 500 mg/l, al compararlo con los tratamientos 100 mg/l y 300 mg/l. Esto puede deberse a que se ha encontrado que concentraciones de Manitol al actuar en combinación con la sacarosa del medio de cultivo provoca reducción o incremento en la tasa de crecimiento de diferentes cultivos (Tissue Culture, Cassava Program, Ann. Report, 1983).

Los factores de variación para el crecimiento de los cultivos pueden tener diversos niveles de influencias. Para nuestro ensayo interesa que provoquen un proceso inhibitorio o retardante del crecimiento, que incida directamente en los procesos metabólicos que transcurren en la planta.

El Manitol es un osmoregulador que al mismo tiempo provoca un efecto retardante, esto significa que el estrés que causa en las plantas debería de afectar la estructura celular por los niveles de concentración en el intercambio de sustancias, lo que afecta el metabolismo de las mismas.

En este caso consideramos que 100 mg/l de Manitol son suficientes para reducir el crecimiento en las plantas de yuca conservando éstas además con esta concentración una coloración verde intensa y un buen número de raíces.

V. EXPERIMENTO 3

Efecto de diferentes intensidades lumínicas.

5.1 RESULTADOS

El análisis de Varianza (Cuadro 5) mostró diferencia significativa al 5% para la fuente de variación tratamiento, solamente en la variable altura.

Al hacer el análisis de separación de medias de DUNCAN al nivel de significancia de 5%, se observó diferencia significativa del testigo (2500 lux), con el tratamiento de 500 lux. Este último resultó ser igual a los tratamientos 1000 lux y 1500 lux.

Al observar la Fig. 3 vemos como los menores valores son alcanzados por el tratamiento 500 lux. Las plantas de este tratamiento presentaban en su mayoría, buen enraizamiento y coloración verde pálido sin llegar a clorótica y sin causar caída de hojas.

Cuadro 5. Análisis de varianza del Experimento 3 (Luz), para las variables altura, número de hojas y número de yemas.

ALTURA

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	19.897	6	3.316	0.464	0.826
Trat	69.237	3	23.079	3.227	0.047 *
Error	128.723	18	7.151		

* significativo al 5%

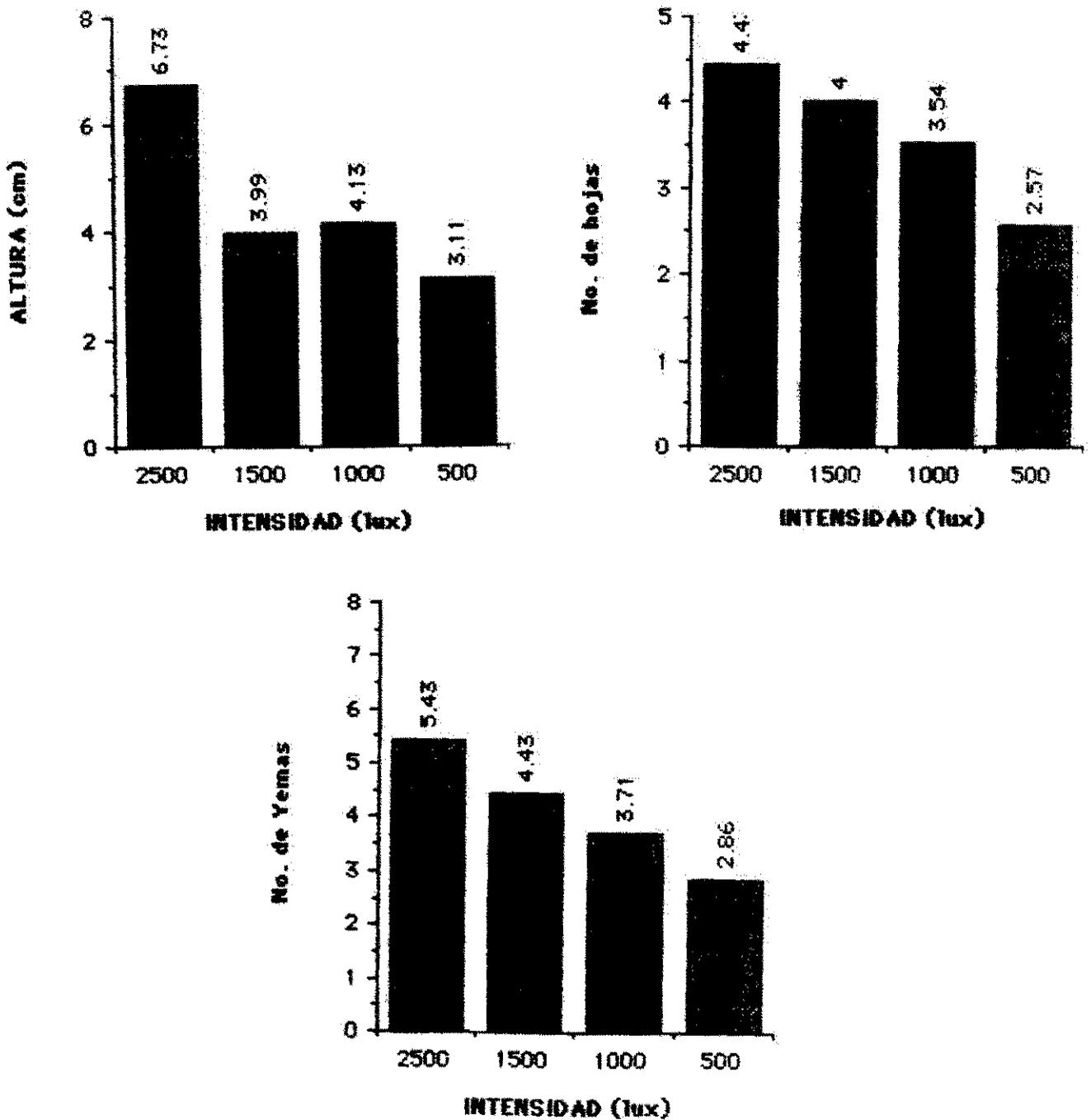
NUMERO DE HOJAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	29.714	6	4.952	1.300	0.307
Trat	14.679	3	4.893	1.284	0.310
Error	68.571	18	3.810		

NUMERO DE YEMAS

FUENTE	SC	GL	CM	FV	P
Bloque	3.128	6	0.521	1.111	0.394
Trat	3.522	3	1.174	2.502	0.092
Error	8.447	18	0.469		

Figura 3. Efecto de 4 intensidades Luminicas en las variables altura, número de hojas y número de yemas en plantas de yuca in vitro a las 8 semanas.



5.2 DISCUSION

Se han realizado diferentes experimentos para inhibir el crecimiento en buen número de materiales vegetales. Según Schafer, A. los procesos de crecimiento son reducidos al mínimo, en el cultivo in vitro de papa, combinando 2 factores físicos como son la luz y la temperatura. Así mismo Roca, W. M et al (1982) y Espinoza, N et al (1984), informaron la conservación de material vegetal, manteniendo los cultivos a temperaturas e intensidades lumínicas reducidas.

Debido a no contar con cuartos de crecimientos de baja temperatura, este experimento solamente tomó en cuenta el factor luz.

A través de los resultados se observó similar comportamiento en las diferentes variables, reduciéndose de igual manera la altura de planta como el número de hojas y número de yemas al disminuir la intensidad lumínica.

Murashige, T. (1974), considera como niveles óptimos de iluminación en la propagación de ápices de diferentes tipos de plantas es 1000 lux, sin embargo, la disminución de la intensidad lumínica no afecta la formación de órganos en

las plantas, ya que la actividad fotosintética realizada por la mayoría del material vegetal in vitro es relativamente baja, y los cultivos dependen principalmente de un suplemento externo de carbohidratos (Murashige, 1974; Hughes, 1981), por lo que la intensidad lumínica de 500 lux redujo el crecimiento, manteniéndose a pesar de esto buenas condiciones en el cultivo, como coloración verde y presencia de raíces.

VI. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales de este ensayo el Acido acetil-salic/lico, el Manitol y la reduccion de la intensidad lum/nica, disminuyeron el crecimiento de plantas de yuca in vitro.

Al comparar los resultados de los 3 factores estudiados, se observó, mejor efecto en la disminucion del crecimiento, con el factor ácido acetil-salic/lico.

La concentración 2 mg/l de ASA resultó ser altamente inhibitoria para las 3 variables estudiadas.

La menor concentración de Manitol (100 mg/l) inhibió el crecimiento de plantas de yuca in vitro en forma más evidente

Se observó que el tratamiento 500 lux, fue la intensidad lum/nica mas efectiva en la reduccion del crecimiento.

VII. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio se sugiere:

Continuar las investigaciones con el uso de los tres factores estudiados in vitro, pero aumentando los tiempos incubación del material.

Utilizar concentraciones menores de 2 mg/l de ASA.

Realizar un experimento donde interactúen el ASA y el Manitol.

Después de un periodo de permanencia in vitro, bajo el efecto de factores que inhiben el crecimiento, analizar el comportamiento de las plantas en condiciones de campo.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Anónimo. 1977. Cassava export potential and market requirements. Geneva. Int. Tr. Centre, UNCTAD/GATT. 65 pag.
- Audus, L.J. 1972. Plant Growth Substances. Leonard Hill Books. London. 533 pag.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1987. Yuca: Investigación, producción y utilización. Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo. Cali, Colombia. 660 pág.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1978. Informe anual. 1974. CIAT. Cali, Colombia.
- Cock, J.H. 1974. Agronomic Potential for Cassava production. In: Proceedings of the Cassava Processing and Storage Workshop. Int. Develop. Res. Centre. IDRC - 031 e.
- Cock, J.H. et al. 1979. The ideal cassava plant for maximum yield. Crop sci. 19: 271-279.
- Coursey, D.G. and P.H. Haynes. 1970. Root crops and their Potential as food in the Tropics. Word crops. 22: 261-265.
- Coursey, D.G. and D. Halliday. 1974. Cassava as animal feed. Outlook Agric. 8, 273.
- Espinoza, N. et al. 1984. Tissue Culture Micropropagation, Conservation, and Export of Potato Germplasm. Specialized. Technology. Document 1. International Potato Center. 20 p.

- Johri, M.M. 1978. Regulation of morphogenesis. En: Frontiers of the plant tissue culture cap.3. Thorpe, T.A. Ed. Ind. Assoc. Plant Tissue Culture. 26-37.
- Larqué-Saavedra, A. 1978. Studies on hormonal aspects of growth in relation to chemical environmental treatments. ph.D. Thesis, London University.
- Lee, T.T. and Skoog, F. 1965. Effects of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18: 386-401.
- Lieberman, M. 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: 533- 591.
- López, D., H.A. 1987. Efecto del Acido acetil salic/lico en el crecimiento de yemas de Solanum cardiophyllum (Lindl) cultivadas in vitro. Tesis Msc. Colegio de Postgraduados. México. 86 p.
- Mora, M.I. 1987. Uso de osmoreguladores e inhibidores qu/micos para la conservación del germoplasma in vitro de Musa sp. (Tesis). CATIE. Programa de Produccion Vegetal. Turrialba. Costa Rica. 95 p.
- Murashige, T. and Skoog, F. A revised medium for r a p i d growth and biossay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* 15: 473-497.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through Tissue Culture. *Ann. Rev. Plant physiol.* 25, 135-66.
- Pachico, D. and J.K. Lynam. 1981. Cassava Production, Marketing and Utilization. In Latin American Agriculture: Trends in CIAT Commodities. In ternal Document Econ. 16, May. 1981. 69-124.

Phillips, T.P. 1974. Cassava utilization and potential markets. Ottawa. International Development Research Centre, IDRC - 020 e, 182 pag.

Roca, W.M., Hidalgo, R. and Alvarez, G. 1982. Genetic Resources Unit. Annual Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 29-36.

Schafer, A. 1984. In vitro techniques. Propagation and Long Storage. Alemania. 149-154 pp.

Tissue Culture, Cassava Program. Ann. Report, 1983.

ANEXO

Experimento 1. Efectos del ASA. Evaluación a las 8 semanas para las variables altura, no. de hojas y número de yemas

TRAT	BLOQUE	ALTURA	Nohojas	NoYA
1	1	1	1	1
2	1	0.7	0	0
3	1	0.5	0	0
4	1	1	1	1
1	2	9	5	7
2	2	0.5	0	0
3	2	0.5	0	0
4	2	0.7	0	1
1	3	7	5	7
2	3	0.5	0	0
3	3			
4	3	0.8	0	1
1	4	8.5	3	6
2	4	0.5	0	0
3	4	0.5	0	0
4	4	0.8	2	2
1	5	9.5	5	6
2	5	0.5	0	0
3	5	0.5	0	0
4	5	0.5	0	0
1	6	7	8	7
2	6	0.5	0	0
3	6	0.5	0	0
4	6	0.7	0	1
1	7	9	3	6
2	7	1	1	1
3	7	0.8	1	1
4	7			

Experimento 2. Efecto del Manitol. Evaluación a las 8 semanas para las variables altura, No. de hojas y No. de yemas

TRAT	BLOQUE	ALTURA	Nohojas	NoYA
1	1	7.2	5	6
2	1	0.5	0	0
3	1	0.5	0	0
4	1	4.5	5	5
1	2	8.5	4	7
2	2			
3	2	3.3	4	6
4	2	0.7	1	2
1	3	10	5	8
2	3	0.5	0	0
3	3	8.3	6	6
4	3	2.2	5	6
1	4	9.5	4	9
2	4	0.5	3	5
3	4	0.8	4	3
4	4	5.7	6	9
1	5	1.5	3	4
2	5	1.3	6	5
3	5	1.5	3	4
4	5	6.5	5	6
1	6	6.3	6	8
2	6	8.3	5	6
3	6	4.5	4	6
4	6	8.5	5	7
1	7	9	3	6
2	7	9	4	7
3	7			
4	7	7.8	6	7

Datos cualitativos a las 8 semanas

TRAT	BLOQUE	RAIZ	COLOR
1	1	1	2
1	2	1	1
1	3	1	2
1	4	1	1
1	5	1	0
1	6	1	1
1	7	1	2
2	1	0	1
2	2		
2	3	0	1
2	4	1	2
2	5	1	2
2	6	1	2
2	7	1	2
3	1	0	1
3	2	1	2
3	3	1	2
3	4	0	1
3	5	1	1
3	6	1	2
3	7		
4	1	1	2
4	2	0	1
4	3	1	2
4	4	1	2
4	5	1	2
4	6	1	2
4	7	1	2

Datos Cualitativos a las 8 semanas

TRAT	BLOQUE	RAIZ	COLOR
1	1	1	2
1	2	1	2
1	3	1	2
1	4	1	2
1	5	1	2
1	6	1	2
1	7	1	2
2	1	1	1
2	2	1	1
2	3	1	2
2	4	1	1
2	5	1	1
2	6	0	1
2	7	0	1
3	1	0	1
3	2	0	1
3	3	1	2
3	4	1	1
3	5	1	1
3	6	1	2
3	7	0	1
4	1	1	2
4	2	1	0
4	3	1	2
4	4	1	2
4	5	1	2
4	6	1	2
4	7	0	1

Separación de medias. DUNCAN al 1% para el experimento ASA

ALTURA			HOJAS (T)			YEMAS (T)		
1	7.3	a	1	4.3	a	1	5.7	a
4	0.75	b	4	0.5	b	4	1.0	b
2	0.6	b	3	0.17	b	3	0.17	b
3	0.55	b	2	0.14	b	2	0.14	b

Separación de medias. DUNCAN al 5% para el experimento diferentes intensidades luminicas.

ALTURA		
1	6.73	a
3	4.13	ab
4	3.99	ab
2	3.11	b