

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ESCUELA DE PRODUCCION VEGETAL

TRABAJO DE DIPLOMA

Estudio de tres concentraciones de GA₃, dos concentraciones de BAP y las consistencias líquida y semisólida del medio nutritivo en la micropropagación de clones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz).

***Autores:* Martín Agenor Rosales Mondragón**

Henry Antonio Zambrana Quezada

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

Managua, Nicaragua, Mayo de 1995

DEDICATORIA

De : **Martín Agenor Rosales Mondragón.**

Dedico con el más profundo cariño el presente trabajo a mis padres:

Agenor Rosales Espinoza y Fausta Mondragón Rodríguez .

Baluartes fundamentales de mi educación y formación profesional.

De igual forma a mi:

Esposa , hijo y hermanos,

que de una u otra manera me apoyaron para finalizar esta etapa en mi vida profesional.

De: **Henry Antonio Zambrana Quezada**

Dedico el presente trabajo:

A las personas que a pesar del desarrollo adverso de sus vidas, logran superarse cada día más.

A mi querida madre:

Miriam del Socorro Quezada Munguía por darme la vida y el apoyo desinteresado y permanente en toda mi formación educativa.

A mi esposa:

Magda E. Sánchez Garache por ser un pilar importante en el vaivén de la vida cotidiana.

A mis queridos hermanos:

Luis Alfonso y Jelennia Massiel, así como a mi abuelita **Eva Munguía**.

Al apreciado matrimonio compuesto por:

Oscar Olivas Narvárez y Alba Sánchez Garache por su grandioso apoyo moral y material.

Por último a mi pequeña y preciosa hija:

Nancy Ninlette Zambrana Sánchez que es la motivación más grande de mi superación.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Mag. Sc. José Dolores Cisne por su valiosa asesoría sin ello hubiese sido difícil finalizar este trabajo.

Al Ing. Agr. Marbell Aguilar Maradiaga, al Ing. Agr. Mag. Sc. Carlos Henry Loaisiga e Ing. Agr. Javier Cruz Marín por sus importantes aportes en la preparación del ensayo, corrección y redacción del presente estudio.

Al programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) por facilitarnos los medios necesarios para desarrollar el estudio sin dificultades.

A la Fundación UNICARAGUA por su indispensable contribución económica, sin este apoyo, no sería realidad la culminación de la carrera profesional, de Henry Zambrana Quezada.

INDICE

Sección	página
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE DE TABLAS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
I INTRODUCCION	1
II MATERIALES Y METODOS	3
2.1 Localización del experimento	3
2.2 Esterilización de materiales y equipos de disección	3
2.3 Fase I: Efecto de las concentraciones de BAP y GA ₃ en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	4
2.3.1 Extracción y desinfección del material vegetativo	4
2.3.2 Medios de cultivo	5
2.3.3 Establecimiento de los explantes	6
2.3.4 Multiplicación de microesquejes	7
2.3.5 Diseño experimental y análisis estadístico	7
2.3.6 Variables evaluadas	8

2.4	Fase II: Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	9
2.4.1	Preparación de los medios de cultivo	9
2.4.2	Siembra del material vegetal	10
2.4.3	Diseño experimental y análisis estadístico	10
2.4.4	Variables evaluadas	11
III	RESULTADOS	12
3.1	Fase I: Efecto de las concentraciones de BAP y GA ₃ en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	12
3.1.1	Primer subcultivo	12
3.1.1.1	Altura de planta	12
3.1.1.2	Número de yemas	13
3.1.1.3	Número de raíces	13
3.1.2	Segundo subcultivo	17
3.1.2.1	Altura de planta	17
3.1.2.2	Número de yemas	18
3.1.2.3	Número de raíces	18
3.1.3	Tercer subcultivo	22
3.1.3.1	Altura de planta	22
3.1.3.2	Número de yemas	23
3.1.3.3	Número de raíces	23
3.2	Fase II: Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	29

3.2.1	Altura de planta	29
3.2.2	Número de raíces	30
IV	DISCUSION	32
4.1	Efecto de las concentraciones de BAP y GA ₃ en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	32
4.2	Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo <i>in vitro</i> de yemas de yuca	38
V	CONCLUSIONES	39
VI	RECOMENDACIONES	40
VII	REFERENCIAS	41
VIII	ANEXOS	44

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	página
1 Constituyentes del medio básico Murashige y Skoog (1962)	5
2 Concentraciones de BAP y GA ₃ estudiadas en el establecimiento y multiplicación acelerada de yemas de yuca	6
3 Factores en estudio realizados en la fase de micropropagación para el efecto de las concentraciones de BAP y GA ₃	8
4 Estudio de las consistencias del medio nutritivo utilizadas en el establecimiento de yemas de yuca	9
5 Factores en estudio realizados en la fase de micropropagación para el efecto de las consistencias de medios nutritivos	10
6 Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA ₃ en el primer subcultivo	14

7	Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del clon y el GA ₃ en el primer subcultivo	16
8	Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA ₃ en el segundo subcultivo	19
9	Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del clon y el GA ₃ en el segundo subcultivo	21
10	Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA ₃ en el tercer subcultivo	24
11	Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del BAP y el GA ₃ en el tercer subcultivo	26
12	Comportamiento de la variable número de raíces cuando interactúan los clones *BAP*GA ₃ en el tercer subcultivo	28
13	Comportamiento de la altura de planta y número de raíces de los clones C6-1141, MCol-1505, MCol-2215 y MMex-59 para el efecto de las consistencias semisólida y líquida de los medios nutritivos	30

1A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en el primer subcultivo	44
2A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas en el primer subcultivo	44
3A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en el primer subcultivo	45
4A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en el segundo subcultivo	45
5A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas en el segundo subcultivo	46
6A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en el segundo subcultivo	46
7A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en el tercer subcultivo	47
8A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas en el tercer subcultivo	47
9A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en el tercer subcultivo	48
10A	Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en la segunda fase del experimento	48

11A Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en la segunda fase del experimento

49

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		página
1	Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland en el primer subcultivo	15
2	Comportamiento de altura de planta, número de yemas y número de raíces en las dos concentraciones de BAP evaluadas en el primer subcultivo	15
3	Efecto de tres concentraciones de GA ₃ sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el primer subcultivo	16
4	Efecto de tres concentraciones de GA ₃ en interacción con los clones sobre el número de raíces en el primer subcultivo	17
5	Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland en el segundo subcultivo	20
6	Efecto de las dos concentraciones de BAP sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca para el segundo subcultivo.	20

7	Efecto de las concentraciones de GA ₃ sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el segundo subcultivo	21
8	Efecto de las concentraciones de GA ₃ en interacción con los clones sobre el número de raíces en el segundo subcultivo	22
9	Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland en el tercer subcultivo	25
10	Efecto de las concentraciones de GA ₃ sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el tercer subcultivo	25
11	Efecto de la interacción BAP*GA ₃ sobre el número de raíces en el tercer subcultivo	27
12	Comportamiento del número de raíces en los clones MCol-22, Okra y Portland en tres concentraciones de GA ₃ y 0.00 mg/l de BAP en tercer subcultivo	28
13	Comportamiento del número de raíces en los clones MCol-22, Okra y Portland en tres concentraciones de GA ₃ y 0.04 mg/l de BAP en el tercer subcultivo.	29
14	Efecto de las consistencias semisólida y líquida sobre altura de planta y número de raíces en el cultivo <i>in vitro</i> de ápices de yuca	31

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Programa Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), ubicado en la Universidad Nacional Agraria (UNA). El experimento se evaluó en dos fases, en la primera fase se estudió el comportamiento *in vitro* de ápices de los clones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) MCol-22, Okra y Portland cultivados en un medio nutritivo MS (Murashige y Skoog, 1962) con concentraciones de 0.00 mg/l y 0.040 mg/l de BAP (6-bencil aminopurina) y concentraciones de 0.05 mg/l 0.10 mg/l y 0.20 mg/l de GA₃ (ácido giberélico). En la segunda fase se evaluó el comportamiento de cuatro clones (C6-1141, MCol-1505, MCol-2215 y MMex-59) en las consistencias de medio nutritivo semisólida y líquida. A través del estudio se determinó que el genotipo es un factor muy importante sobre la respuesta organogénica de los tejidos cultivados *in vitro*. Sin embargo, es posible definir medios nutritivos para grupos de clones, facilitando así el proceso de micropropagación de especies de importancia económica como la yuca. Los clones que sobresalieron en la primera fase fueron el Portland y MCol- 22. Con respecto al efecto del BAP la concentración 0.04 mg/l predominó sobre la concentración 0.00 mg/l, para todas las variables evaluadas en el ensayo. Así mismo, la concentración 0.10 mg/l de GA₃ resultó la más efectiva. Por otra parte, de las consistencias de medios nutritivos evaluados en la segunda fase, se determinó que la consistencia semisólida dió mejor resultado sobre el número de raíces y la consistencia líquida tuvo mayor influencia sobre la variable altura de planta.

I INTRODUCCION

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), pertenece a la familia *Euphorbiaceae* y al género *Manihot*. Existen numerosas opiniones acerca del origen de esta especie. Sin embargo, un gran número de autores, entre ellos Montaldo (1985) y Blanco (1990) citando a Roger y Vavilov, consideran la yuca como una planta originaria de América Tropical y del Nordeste del Brasil.

Según Montaldo (1985) este cultivo representa la fuente más barata de carbohidratos en muchos países del trópico, obteniéndose de él la mayor producción de kilocalorías por hectáreas a nivel mundial, entre cereales y tuberosas.

La yuca es parte fundamental de la dieta humana, es utilizada en la alimentación animal como fuente principal de energía además de la obtención de combustible (CIAT, 1987).

Esta puede propagarse por medio de estacas (asexual) o semilla sexual, en todas las siembras comerciales se usan estacas, pero la propagación por semilla es importante para programas de mejoramiento (CIAT, 1987).

La producción anual de este cultivo a nivel mundial, según FAO (1994) fue de 153.6 millones de toneladas métricas para 1993 con un rendimiento promedio de 9611 kg/ha.

En Nicaragua se sembraron 5000 ha para 1993, obteniéndose una producción de 63,000 toneladas con un rendimiento promedio de 12.6 t/ha. Para 1994 se sembraron 6186 ha en los departamentos de León, Masaya, Granada, Rivas, Carazo y el Atlántico, estimándose una producción de 77,940 toneladas (Berríos, 1994).

A nivel centroamericano, Costa Rica es el mayor exportador del tubérculo. En la actualidad Nicaragua, por la calidad de su producto tiene una mayor aceptación en el mercado internacional, teniendo una tasa de US\$15.50 por caja de 22.2 kg creando grandes expectativas para la producción del rubro, dado que existe demanda durante todo el año (Berríos,1994).

El cultivo de tejidos vegetales, a través de la técnica de micropropagación, es una alternativa para resolver la demanda actual de plantas libres de plagas y enfermedades con mayor vigor y homogeneidad genética, dada las grandes ventajas de ésta en comparación con los sistemas convencionales de propagación (Villalobos & Thorpe, 1991)

En Nicaragua existen instituciones y organismos interesados en la aplicación de esta técnica para el desarrollo agrícola la cual creará las pautas para la propagación de especies de importancia económica del país.

Considerando la importancia de la técnica de micropropagación para la agricultura nos planteamos los siguientes objetivos:

1. Determinar la concentración adecuada de BAP y GA₃ para la micropropagación de diferentes clones de yuca.
2. Estudiar el comportamiento en la micropropagación de diferentes clones de yuca.
3. Determinar la mejor consistencia de medio nutritivo para el cultivo de microesquejes *in vitro* de diferentes clones de yuca.

II MATERIALES Y METODOS

2.1 Localización del experimento

El presente experimento se realizó en el período comprendido de Junio a Octubre de 1994 en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicada en el kilómetro 12½ Carretera Norte, Managua entre los 12° 8' L. N. y 86° 10' L. O. y cuya elevación es de 56 m.s.n.m.

2.2 Esterilización de materiales y equipos de disección.

La esterilización de materiales y equipos de disección se realizó de igual manera para las dos fases. Los frascos (11 cm x 6 cm) y los tubos de ensayo (14 cm x 2 cm) se lavaron con detergente y se enjuagaron con abundante agua, luego se dejaron escurrir y posteriormente se esterilizaron en el autoclave a 121 °C y 2 atmósferas de presión durante 45 minutos. Las placas petri, pinzas y escalpelos se esterilizaron en horno a 175 °C durante 5 minutos, una vez alcanzada esta temperatura. La cámara de flujo laminar se limpió con alcohol al 70 % V/V y se esterilizó con luz ultravioleta durante 30 minutos antes de proceder con la inoculación de los explantes.

El experimento se estableció en dos fases. En la fase I se determinó el efecto de las concentraciones de BAP y GA₃ y en la fase II se determinó el efecto de las consistencias de medios nutritivos en la micropropagación de diferentes clones de yuca.

2.3 Fase I: Efecto de las concentraciones de BAP y GA₃ en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca.

2.3.1 Extracción y desinfección del material vegetativo

Se seleccionaron 180 yemas apicales en buen estado fisiológico de 3 clones de yuca (MCol-22, Okra y Portland) del banco de germoplasma de yuca del REGEN con una longitud de 2 a 3 cm aproximadamente, posteriormente fueron trasladadas al laboratorio. A las yemas apicales se les retiraron las hojas más grandes, luego fueron cortadas y reducidas a un tamaño de 1.5 cm aproximadamente. Seguidamente, se enjuagaron las yemas utilizando un beaker de 1000 ml, ubicando éste bajo el grifo de agua durante dos horas para retirar el polvo y otras partículas.

Posteriormente se realizó la desinfección con el objetivo de evitar las contaminaciones de microorganismos, para el éxito, no solamente en el establecimiento de los explantes, sino en su ulterior incubación y manipulación. La desinfección se realizó de la siguiente manera:

a) En un beaker de 1000 ml, con las yemas inmersas se depositó 100 ml de agua con una solución de hipoclorito de sodio al 5% V/V, agregándole además 5 gotas de jabón líquido para niños por cada 100 ml de agua (para romper la tensión superficial y mejorar la penetración del agente desinfectante), agitándose durante 5 minutos.

b) Posteriormente se trasladó el beaker que contenía los explantes a la cámara de flujo laminar, donde se procedió a enjuagar con agua destilada y esterilizada hasta eliminar los residuos de jabón líquido e hipoclorito. Inmediatamente después se sumergieron los explantes durante 5 segundos en una solución de alcohol al 75 % V/V, luego se enjuagaron con abundante agua

destilada y esterilizada para su posterior inoculación.

2.3.2 Medios de cultivo

Como medio de cultivo se utilizó el medio básico de Murashige & Skoog, (MS 1962) (Tabla 1). Las variantes realizadas al medio MS se observan en la Tabla 2.

Tabla 1. Constituyentes del medio básico Murashige y Skoog (1962).

SOLUCIÓN	CONSTITUYENTES	SOLUCIÓN MADRE (mg/l)	CONC. FINAL (mg/l)	VOL/SOL MADRE Por L medio basal (ml)
1	NH ₄ NO ₃ KNO ₃ MgSO ₄ 7H ₂ O KH ₂ PO ₄	82,500 95,000 18,500 8,500	1650 19000 370 170	20
2	H ₃ BO ₃ MnSO ₄ H ₂ O ZnSO ₄ 7H ₂ O Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O CuSO ₄ 5H ₂ O CoCl ₂ 6H ₂ O	62,000 21,760 8,600 250 25 25	6.2 22.3 8.6 0.25 0.025 0.025	1.0
3	KI	750	0.83	3
4	CaCl ₂ 2H ₂ O	150,000	440	2.9
5	Na ₂ EDTA FeSO ₄ 7H ₂ O	7,460 5,570	37.3	5
6	Tiamina HCl	100	1	10
7	Mioinositol	100	100	

Fuente: M & S. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologi Plantarum*. 15:473-497.

Tabla 2. Concentraciones de BAP y GA₃ estudiadas en el establecimiento y multiplicación acelerada de yemas de yuca

MEDIO BASICO	BAP (mg/l)	GA ₃ (mg/l)	ANA (mg/l)
1 MS	0.04	0.05	0.02
2 MS	0.04	0.10	0.02
3 MS	0.04	0.20	0.02
4 MS	0.00	0.05	0.02
5 MS	0.00	0.10	0.02
6 MS	0.00	0.20	0.02

Los medios nutritivos con las diferentes concentraciones de BAP y GA₃ (Tabla 2) se prepararon en beakers, diluyendo todos los constituyentes en agua destilada y desionizada, seguidamente las soluciones se homogenizaron a través de un calentador y agitador electromagnético y se ajustó el pH a 5.7 con ácido clorhídrico (HCl) a 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) a 0.5 N. Como gelificante se empleó bacto agar a razón de 7 g/l, también se le agregó sacarosa a razón de 20 g/l, como fuente de energía inmediata. Posteriormente se distribuyó 10 ml de medio nutritivo en cada tubo de ensayo.

2.3.3 Establecimiento de los explantes

Posterior a la desinfección se inició la inoculación de los explantes realizando la manipulación sobre cajas petri con ayuda de escalpelos y pinzas, 60 yemas apicales por clon se sembraron de forma individual en tubos de ensayo, los cuáles fueron flameados antes y después de la inoculación del explante.

Los tubos de ensayo se depositaron en gradillas y se trasladaron a un cuarto de crecimiento donde permanecieron por treinta días consecutivos a temperatura de 24 ± 1 °C, humedad relativa (HR) de 72 % e intensidad lumínica de 3000 lux con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad, esta labor se realizó en cada

subcultivo. Los explantes permanecieron en el medio de cultivo Murashige y Skoog hasta que las plántulas se formaron debidamente.

2.3.4 Multiplicación de microesquejes

Cada plántula obtenida de la fase de establecimiento fue seccionada en microesquejes de aproximadamente 0.5 cm de longitud, a los cuales se les eliminó las hojas, conservando cada uno de ellos, una yema axilar en estado dormante. Los microesquejes fueron colocados individualmente en tubos de ensayo (14 cm x 2 cm), y éstos fueron cubiertos con cintas de parafina para evitar la contaminación de microorganismos. Posteriormente se trasladaron al cuarto de crecimiento donde se les suministró las condiciones anteriormente descritas en el acápite 2.3.3. Se realizaron dos multiplicaciones sucesivas cada cuatro semanas, después del establecimiento del cultivo siguiendo los pasos anteriormente descritos, estableciéndose así, tres subcultivos sucesivos.

2.3.5 Diseño experimental y análisis estadístico

Los tratamientos evaluados se establecieron en un diseño completo al azar (DCA) en un arreglo trifactorial (con 18 tratamientos y 10 repeticiones). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA), realizándose una separación de medias de DUNCAN a un nivel del 0.05 % de probabilidad.

Los factores y niveles de la fase I se observan en la (Tabla 3).

Tabla 3 . Factores en estudio realizados en la fase de micropropagación para el efecto de las concentraciones de BAP y GA₃

Factor A: Clon	Factor B: BAP	Factor C: GA ₃
a1 = MCol-22 a2 = Okra a3 = Portland	b1 = 0.00 mg/l b2 = 0.04 mg/l	c1 = 0.05 mg/l c2 = 0.10 mg/l c3 = 0.20 mg/l

2.3.6 Variables evaluadas

a. Altura de planta (cm)

Con una regla milimetrada se midió sobre la superficie del tubo de ensayo, desde la base del tallo hasta la yema apical.

b. Número de yemas

Se contabilizaron visualmente todas las yemas que se observaron morfológicamente normales.

c. Número de raíces

Se contabilizaron visualmente aquellas raíces que medían más de un centímetro de longitud.

Fase II: Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca.

2.4.1 Preparación de los medios de cultivo

En la segunda fase del experimento se evaluó el comportamiento de los clones (C6-1141, MCol-1505, MCol-2215 y MMex-59) introducidos *in vitro* del CIAT, Colombia, en dos consistencias de medio nutritivo: semisólido y líquido.

El medio nutritivo empleado para esta fase, fue el que resultó ser más efectivo en la primera fase del experimento (Tabla 4).

Tabla 4. Estudio de las consistencias del medio nutritivo utilizadas en el establecimiento de yemas de yuca

Medio Básico	BAP (mg/l)	GA ₃ (mg/l)	ANA (mg/l)	Consistencia
1 MS	0.04	0.10	0.02	semisólida
2 MS	0.04	0.10	0.02	líquida

Una vez preparados los medios de cultivo, en los respectivos beakers, se aforaron y se les ajustó el pH a 5.7 con la adición de hidróxido de potasio (KOH) a 0.5 N o ácido clorhídrico (HCl). Al medio de consistencia semisólida se le agregó agar a razón 7 g/l el cual fue disuelto en calentador y agitador electromagnético hasta su ebullición. Inmediatamente se colocó 8 ml de medio semisólido por frasco de 11 cm x 6 cm. Por otra parte el medio de consistencia líquida se disolvió en agua esterilizada y desionizada y se colocaron 25 ml por frasco.

2.4.2 Siembra del material vegetal

Las plantas introducidas *in vitro* se dividieron en microesquejes de 0.5 cm aproximadamente a los cuales se les eliminó las hojas, conservando c/u de ellos una yema axilar en estado dormante. Esta operación se realizó en condiciones de asepsia en la cámara de flujo laminar.

Se inició la inoculación manipulando los explantes sobre cajas petri, apoyados con pinzas y escalpelos. Se sembraron 4 microesquejes con una yema cada uno, en los frascos que contenían medios de consistencia semisólida y líquida.

2.4.3 Diseño experimental y análisis estadístico

El ensayo se estableció en un diseño completo al azar (DCA), en un arreglo bifactorial (con 8 tratamientos y 6 repeticiones). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y se realizó una separación de medias de DUNCAN al 0.05 % de probabilidad. Los factores y niveles del experimento estudiado se observan en la (Tabla 5).

En cada frasco existían 4 plántulas, se levantó el mismo número de datos y se obtuvo la media de la misma. Cada media es el dato de cada repetición.

Tabla 5. Factores en estudio realizados en la fase de micropropagación para el efecto de las consistencias de medios nutritivos.

Factor A: Clones	Factor B : Consistencia
a1 = C6-1141 a2 = MCol-1505 a3 = MCol-2215 a4 = MMex-59	b1 = semisólido b2 = líquido

2.4.4 Variables evaluadas

a. Altura de planta (cm)

Se midió con una regla graduada sobre la superficie del frasco a cada una de las observaciones desde la base hasta la yema apical.

b. Número de entrenudos

Se contabilizó visualmente el número de entrenudos que existían en cada planta

c. Número de raíces

Se enumeró visualmente la cantidad de raíces existentes en cada planta, mayores de un centímetro de longitud.

d. Número de yemas

Se contaron todas las yemas completamente desarrolladas en cada una de las observaciones. Esto se hizo de forma visual.

III RESULTADOS

3.1 Fase I: Efecto de las concentraciones de BAP y GA₃ en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca.

3.1.1 Primer Subcultivo

3.1.1.1 Altura de planta

El análisis de varianza con un 0.05 % de probabilidad realizado a la variable altura, demuestra diferencias significativas en el comportamiento entre clones y los diferentes niveles de BAP, sin embargo, en los niveles de GA₃, así como, en las dobles y triples interacciones no existen diferencias significativas (Tabla 1A).

En la comparación de medias, realizada para la variable altura en el primer subcultivo, el clon Portland presentó el mayor valor con 1,3217 cm, diferenciándose significativamente de los valores obtenidos por el clon MCol-22 que fue de 1,2472 y de el clon Okra que presentó 1,1441 cm. Para los niveles de BAP el que presentó el mejor resultado fue 0.04 mg/l con un valor de 1,3211 cm, seguido por 1,1463 cm, en el nivel 0.00 mg/l de BAP. Por otra parte en los niveles de GA₃, aunque no existieron diferencias significativas, el nivel 0.05 mg/l presentó 1,3132 cm, seguido por 1,2050 y 1,2034 en los niveles 0.20 y 0.10 mg/l respectivamente (Tabla 6; Figuras 1, 2 y 3).

3.1.1.2 Número de yemas

El análisis realizado a la variable número de yemas, demostró que existen diferencias significativas entre los clones y niveles de BAP (Tabla 2A).

De acuerdo a la prueba realizada, a la variable número de yemas, se ubica en primer lugar, el clon Portland superando estadísticamente a los demás clones con un promedio de 1,567 yemas, el segundo lugar corresponde al clon MCol-22 con 1,113 yemas y finalmente el clon Okra con un promedio de 0,661 yemas. Dentro del análisis realizado para los niveles de BAP, se demuestra que el nivel 0.04 mg/l presentó 1,378 yemas superando al nivel 0.00 mg/l que obtuvo 0,829 yemas (Tabla 6; Figuras 1, 2 y 3).

3.1.1.3 Número de raíces

Según el análisis de varianza para la variable número de raíces, se encontraron diferencias significativas entre los clones, diferentes niveles de BAP y GA₃, así como en la interacción clon*GA₃ (Tabla 3A).

La prueba de rangos múltiples, realizada para la variable número de raíces, encontramos que el clon MCol-22 obtuvo 0.887 raíces seguido por los clones Okra y Portland en una sola categoría estadística con valores 0,322 raíces y 0,200 raíces respectivamente. En lo que se refiere a los niveles de BAP, encontramos el nivel 0.04 mg/l con 0,578 raíces, diferenciándose del nivel 0.00 mg/l con 0,244 raíces. Por otro lado encontramos los niveles 0.20 mg/l y 0.10 mg/l de GA₃ ubicados en una sola categoría estadística obteniendo 0,550 y 0,525 raíces respectivamente, seguido del nivel 0.05 mg/l con 0,151 raíces (Tabla 6; Figuras 1, 2 y 3).

Tabla 6. Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA₃ en el primer subcultivo.

CLONES	ALTURA (cm)	BAP (mg/l)	ALTURA (cm)	GA₃ (mg/l)	ALTURA (cm)
Portland	1,3217 a*	0.04	1,3211 a	0.05	1,3132 a
MCol-22	1,2472 ab	0.00	1,1463 b	0.1	1,2024 a
Okra	1,1441 b			0.2	1,2050 a
	N° DE YEMAS		N° DE YEMAS		N° DE YEMAS
Portland	1,567 a	0.04	1,378 a	0.05	1,302 a
MCol-22	1,113 ab	0.00	0,829 b	0.1	1,102 a
Okra	0,661 b			0.2	0,967 a
	N° DE RAICES		N° DE RAICES		N° DE RAICES
MCol-22	0,887 a	0.04	0,578 a	0.2	0,550 a
Portland	0,322 b	0.00	0,244 b	0.1	0,525 a
Okra	0,200 b			0.05	0,151 b

*Prueba de DUNCAN: Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente.

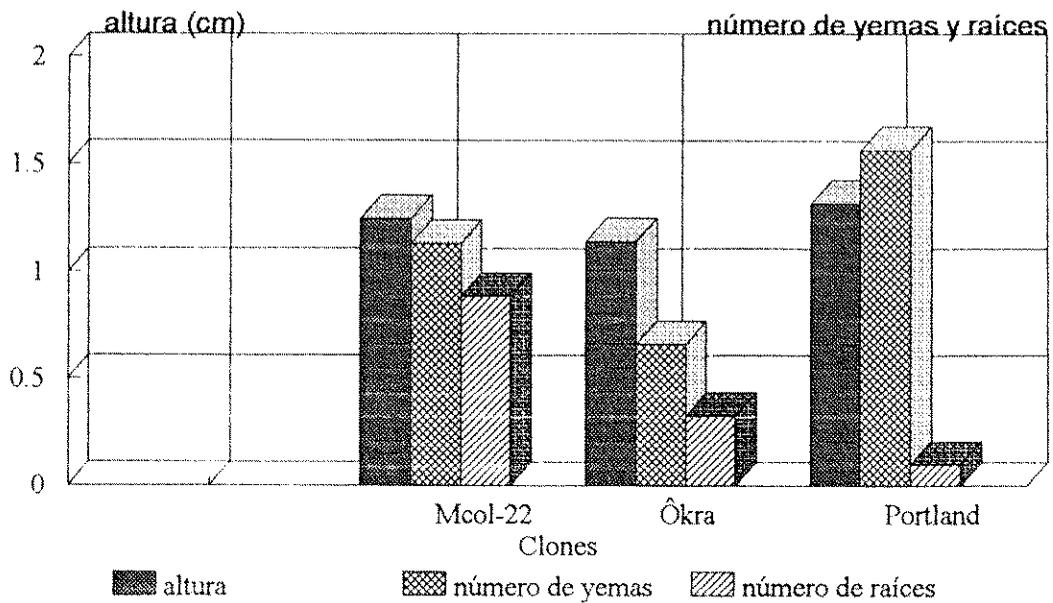


Figura 1. Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland en el primer subcultivo

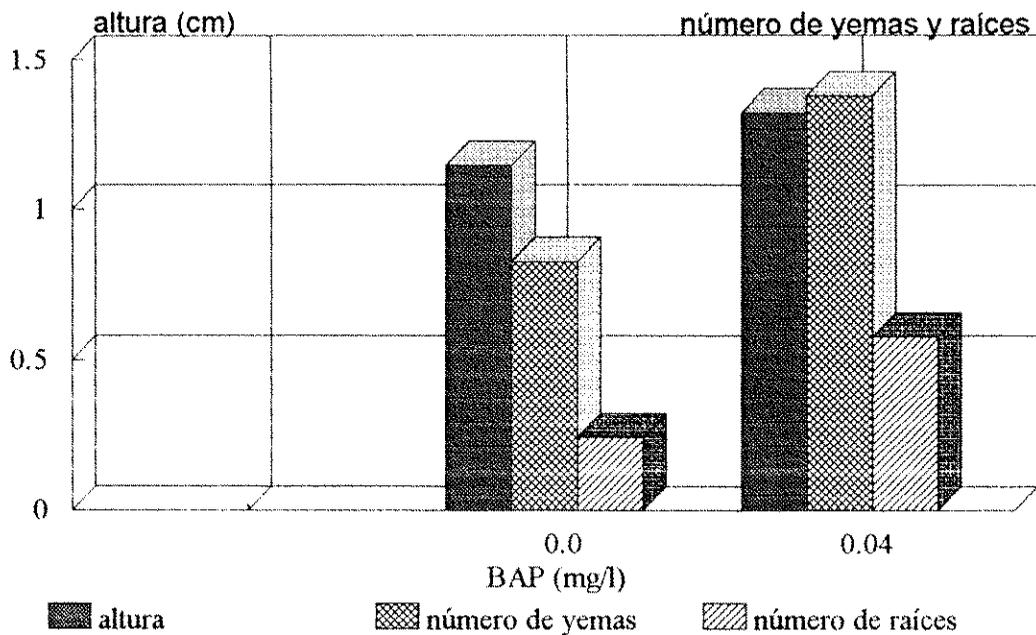


Figura 2. Comportamiento de altura de planta, número de yemas y número de raíces en las dos concentraciones de BAP evaluadas en el primer subcultivo

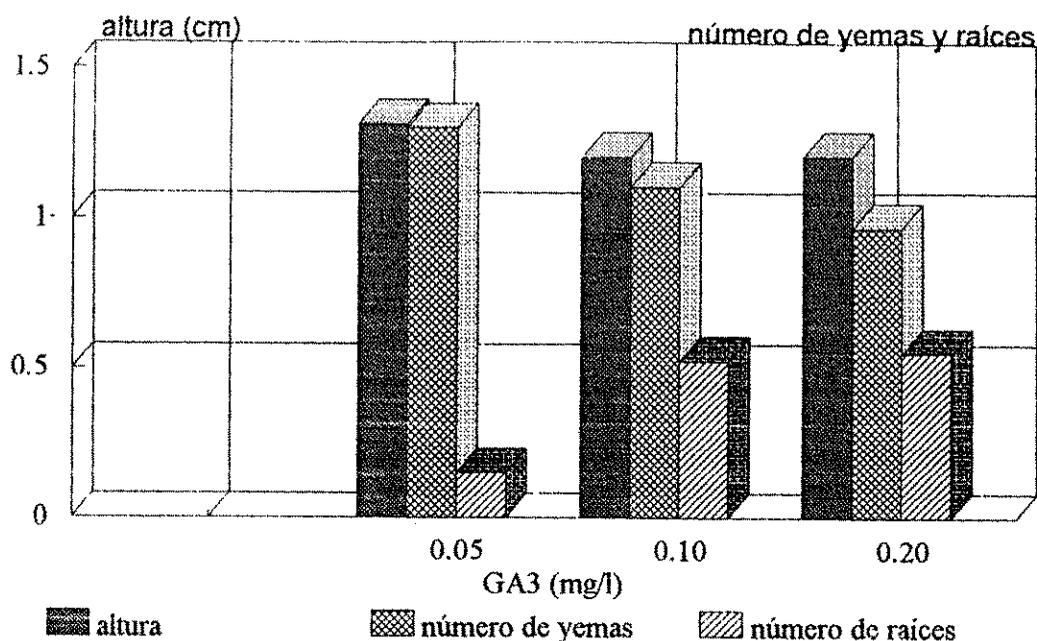


Figura 3. Efecto de tres concentraciones de GA_3 sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el primer subcultivo.

En la interacción clon y concentraciones de GA_3 , se observó que el clon MCol-22 no mostró diferencias significativas en las concentraciones de GA_3 estudiadas donde con 0.05, 0.10 y 0.20 mg/l GA_3 obtuvo 0,29, 1,30 y 0,9 raíces respectivamente, el clon Okra presentó un promedio de raíces significativamente mejor en la concentración 0.20 mg/l GA_3 con 0.5 raíces y en combinación de 0.05 y 0.10 mg/l GA_3 obtuvo 0,21 y 0,2 raíces, por último el clon Portland obtuvo mejores resultados con 0.05 mg/l de GA_3 con 0,5 raíces y 0,05 y 0,2 raíces las obtuvo cuando se combinó con 0.10 y 0.20 mg/l GA_3 respectivamente (Tabla 7; Figura 4).

Tabla 7. Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del clon y el GA_3 en el primer subcultivo

CLON \ GA_3 (mg/l)	0.05	0.10	0.20
MCol-22	0,2931 a*	1,300 a	0,900 a
Okra	0,200 a	0,211 a	0,500 b
Portland	0,500 a	0,050 b	0,200 b

Prueba de DUNCAN: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente

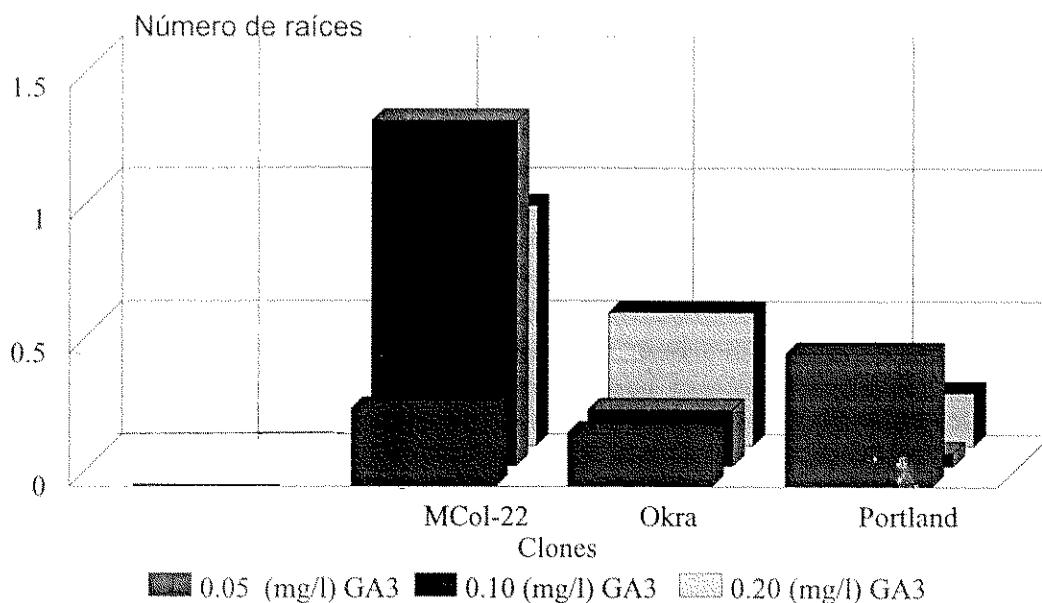


Figura 4. Efecto de tres concentraciones de GA₃ en interacción con los clones sobre el número de raíces en el primer subcultivo.

3.1.2 Segundo subcultivo

3.1.2.1 Altura de planta

En la variable altura de planta, el análisis de varianza determinó que existen diferencias significativas entre los niveles de BAP y GA₃ (Tabla 4A).

Los resultados indican que los dos niveles de BAP comparados pueden separarse en dos categorías estadísticas: En primer lugar el nivel 0.04 mg/l, que presentó la mayor altura con 1,428 cm; en segundo lugar el nivel 0.00 mg/l, que presetó un valor de 0.612 cm. Así mismo, para los diferentes niveles de GA₃, encontramos tres categorías estadísticas. En primer lugar el nivel 0.10 mg/l con 1.5i3 cm, seguido por el nivel 0.05 mg/l con 0.997 cm y por último el nivel 0.20 mg/l con 0.561 cm (Tabla 8; Figuras: 5, 6 y 7).

3.1.2.2 Número de yemas

Los resultados del análisis de varianza de la variable número de yemas indican que sólo existen diferencias significativas entre los diferentes niveles de BAP y GA₃ (Tabla 5A).

La prueba para la variable número de yemas, refleja que para los niveles de BAP el mejor resultado fue 0.04 mg/l con 2,878 yemas. En el caso de los diferentes niveles de GA₃, predomina el nivel 0.10 mg/l con 2,870 yemas; seguido del nivel 0.05 mg/l con 2,582 yemas, y después el nivel 0.20 mg/l con 1,786 yemas (Tabla 8; Figuras: 5, 6 y 7).

3.1.2.3 Número de raíces.

Según el análisis de varianza para la variable número de raíces se determinó que existen diferencias significativas entre los clones y niveles de BAP y entre la interacción clon por GA₃ (Tabla 6A).

En el caso de los diferentes niveles de GA₃, el nivel que presentó el mejor resultado fue 0.10 mg/l con 1.019 raíces seguido del nivel 0.20 mg/l con 0.786 raíces; en tercer lugar el nivel 0.05 mg/l con 0.545 raíces aunque es no significativo según el análisis realizado.

Tabla 8. Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA₃ en el segundo subcultivo

CLONES	ALTURA (cm)	BAP (mg/l)	ALTURA (cm)	GA ₃ (mg/l)	ALTURA (cm)
MCol-22	1,029 a*	0.04	1,428 a	0.1	1,513 a
Okra	1,039 a	0.00	0,612 b	0.05	0,997 ab
Portland	0,988 a			0.2	0,561 b
	N° DE YEMAS		N° DE YEMAS		N° DE YEMAS
MCol-22	2,607 a	0.04	2,878 a	0.1	2,870 a
Okra	2,135 a	0.00	1,940 b	0.05	2,582 ab
Portland	2,456 a			0.2	1,786 b
	N° DE RAICES		N° DE RAICES		N° DE RAICES
MCol-22	1,286 a	0.04	1,171 a	0.05	0,545 a
Okra	0,654 b	0.00	0,398 b	0.1	1,019 a
Portland	0,404 b			0.2	0,786 a

*Prueba de DUNCAN: promedios con letras iguales no difieren estadísticamente

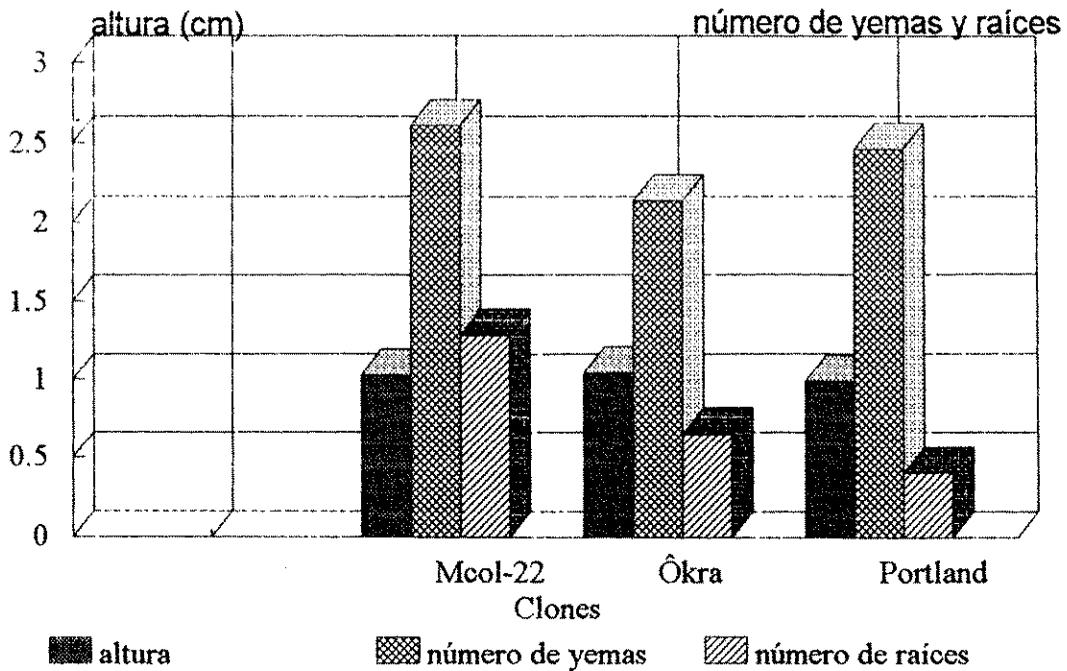


Figura 5. Comportamiento de los clones MCol-22, Ôkra y Portland en el segundo subcultivo

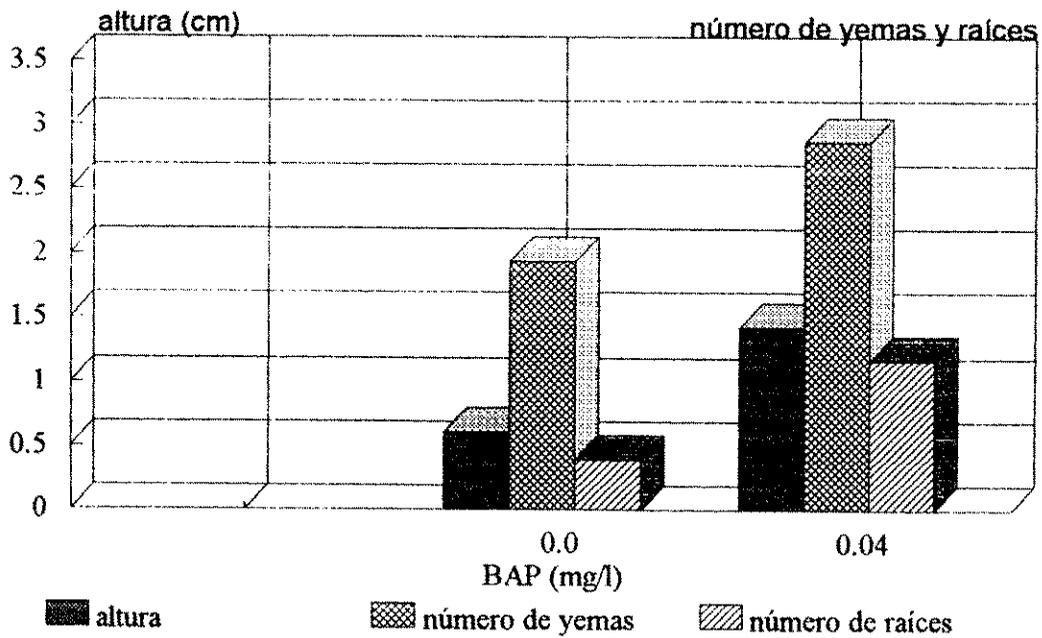


Figura 6. Efecto de las dos concentraciones de BAP sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca para el segundo subcultivo.

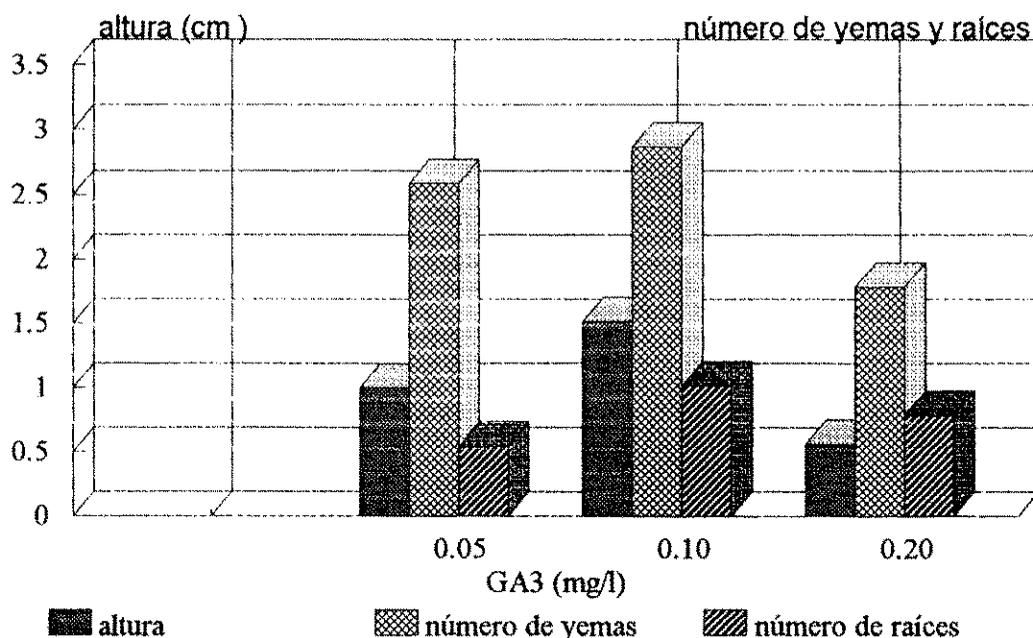


Figura 7. Efecto de las concentraciones de GA₃ sobre la altura de planta , número yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el segundo subcultivo.

La prueba de rangos múltiples para la interacción clon por GA₃ en el segundo subcultivo, nos muestra que el clon MCol-22 con 2,222 raíces obtuvo mejores resultados combinado con 0.10 mg de GA₃ seguido por el clon Okra presentó 0,824 raíces y el clon Portland con la misma concentración de GA₃ obtuvo 0,053 raíces (Tabla 9; Figura 8).

Tabla 9. Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del clon y el GA₃ en el segundo subcultivo.

CLON \ GA ₃	0.05 mg/l	0.10 mg/l	0.20 mg/l
MCol-22	0,650 a *	2,222 a	1,056 a
Okra	0,632 a	0,824 b	0,789 a
Portland	0,313 a	0,053 b	0,526 a

*Prueba de Duncan: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente

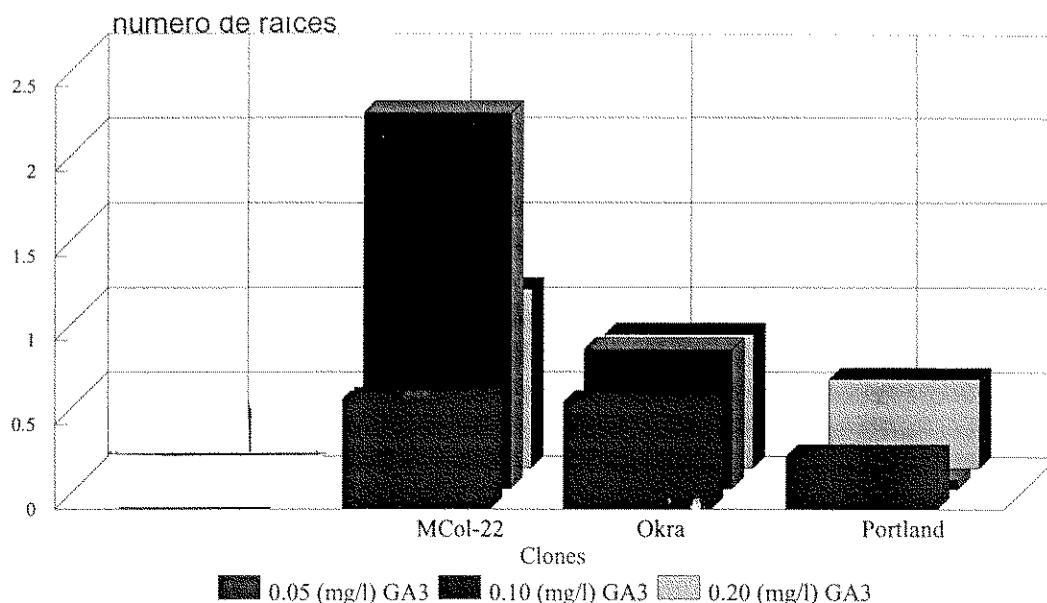


Figura 8. Efecto de las concentraciones de GA₃ en Interacción con los clones sobre el número de raíces en el segundo subcultivo.

3.1.3 Tercer subcultivo

3.1.3.1 Altura de planta

En el análisis de varianza realizado a la variable altura se observan diferencias significativas solamente en el comportamiento entre clones (Tabla 7A).

La prueba de rangos múltiples de separación de medias al 0.05 % de probabilidad nos muestra que el clon Portland proporcionó la mayor altura con 0.864 cm diferenciándose significativamente de los clones Okra y MCol-22 con 0.463 cm y 0.706 cm de altura respectivamente. Los niveles de BAP no tuvieron diferencias significativas en esta prueba, aunque numéricamente la adición de 0.04 mg/l de BAP proporciona la mayor altura con 0.751 cm contra 0.636 cm que es la altura

significativas en esta prueba, aunque numéricamente la adición de 0.04 mg/l de BAP proporciona la mayor altura con 0.751 cm contra 0.636 cm que es la altura cuando no se adiciona esta hormona. Refiriéndonos al GA₃ esta prueba no muestra diferencias significativas pero numéricamente al adicionar 0.05 mg/l da una altura de 0.859 cm haciendo diferencia de los otros niveles de GA₃ con una altura de 0.680 cm y 0.532 cm para 0.20 mg/l y 0.10 mg/l de GA₃ respectivamente (Tabla 10; Figuras 9 y 10).

3.1.3.2 Número de yemas

En el análisis de varianza realizado a la variable número de yemas se muestran diferencias significativas en el comportamiento entre clones, así como, en los distintos niveles de GA₃ (Tabla 8A).

El clon MCol-22 presentó el mayor número, con 2,222 yemas, diferenciándose de forma significativa del clon Portland que obtuvo 1,732 yemas y el clon Okra con 1,261 yemas. Numéricamente la concentración de 0.04 mg/l de BAP tiene mayor efecto provocando 1,920 yemas y 1,617 yemas resulta de no adicionar BAP. En la prueba para esta variable no existen diferencias significativas para los niveles de BAP, pero sí para los de GA₃ donde 0.05 mg/l de concentración da el mayor número de yemas con 2,216 superando a los niveles 0.20 y 0.10 mg/l que dan 1,600 yemas y 1,480 yemas respectivamente (Tabla 10; Figuras 9 y 10).

3.1.3.3 Número de raíces

El análisis realizado a la variable número de raíces mostró diferencias significativas en el comportamiento entre clones, también, en los distintos niveles de GA₃, así como en la interacción de GA₃ y niveles de BAP y la triple interacción

entre clones, BAP y GA₃ (Tabla 9A).

La mayor cantidad, las presentó el clon MCol-22 con 2,648 raíces superando significativamente a los clones Okra y Portland que además de poseer la misma significancia estadística presentan el mismo número con 0,804 raíces. El BAP no tiene influencia sobre el número de raíces aunque numéricamente 0.04 mg/l originó 1,613 raíces contra 1,284 raíces que resultan al no adicionar BAP. Los niveles de GA₃ si ejercen influencia sobre esta variable donde 0.05 mg/l y 0.10 mg/l originan 1,882 y 1,500 raíces respectivamente. Estas dos concentraciones son estadísticamente iguales, contrario de 0.20 mg/l que proporciona 0,982 raíces (Tabla10; Figuras 9 y 10).

Tabla 10. Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces cuando se adicionan diferentes concentraciones de BAP y GA₃ en el tercer subcultivo.

CLONES	ALTURA (cm)	BAP (mg/l)	ALTURA (cm)	GA ₃ (mg/l)	ALTURA (cm)
Portland	0,864 a*	0.00	0,636 a	0.05	0,859 a
MCol-22	0,706 ab	0.04	0,751 a	0.1	0,532 a
Okra	0,463 b			0.2	0,680 a
	Nº DE YEMAS		Nº DE YEMAS		Nº DE YEMAS
MCol-22	2,222 a	0.00	1,617 a	0.05	2,216 a
Portland	1,732 ab	0.04	1,920 a	0.1	1,480 b
Okra	1,261 b			0.2	1,600 b
	Nº DE RAICES		Nº DE RAICES		Nº DE RAICES
MCol-22	2,648 a	0.00	1,284 a	0.05	1,882 a
Portland	0,804 b	0.04	1,613 a	0.1	1,500 a
Okra	0,804 b			0.2	0,982 b

*Prueba de DUNCAN: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente.

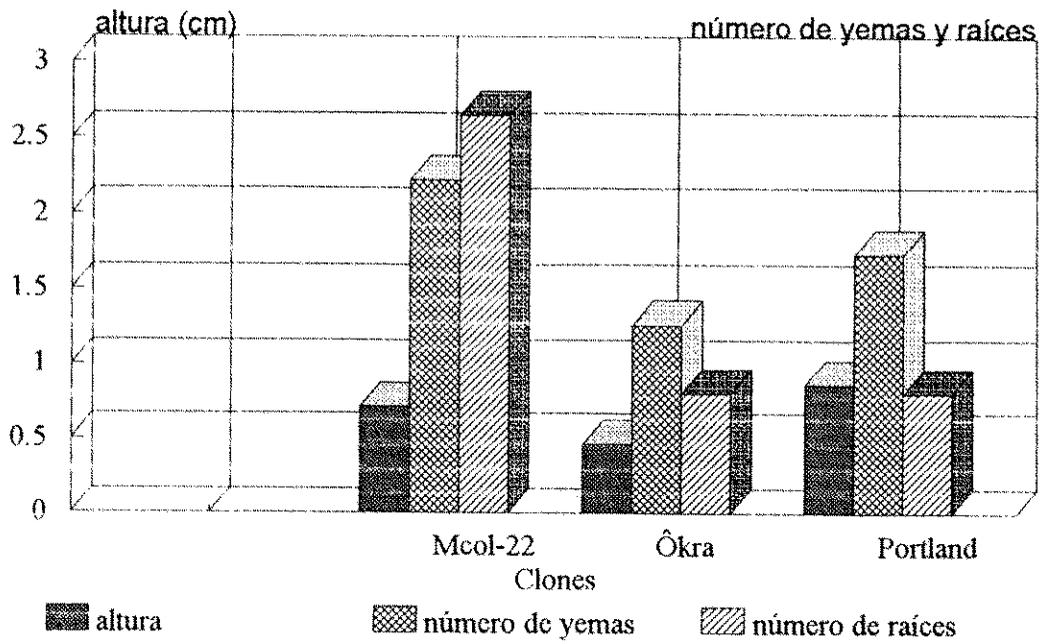


Figura 9. Comportamiento de los clones MCol-22, Okra y Portland en el tercer subcultivo

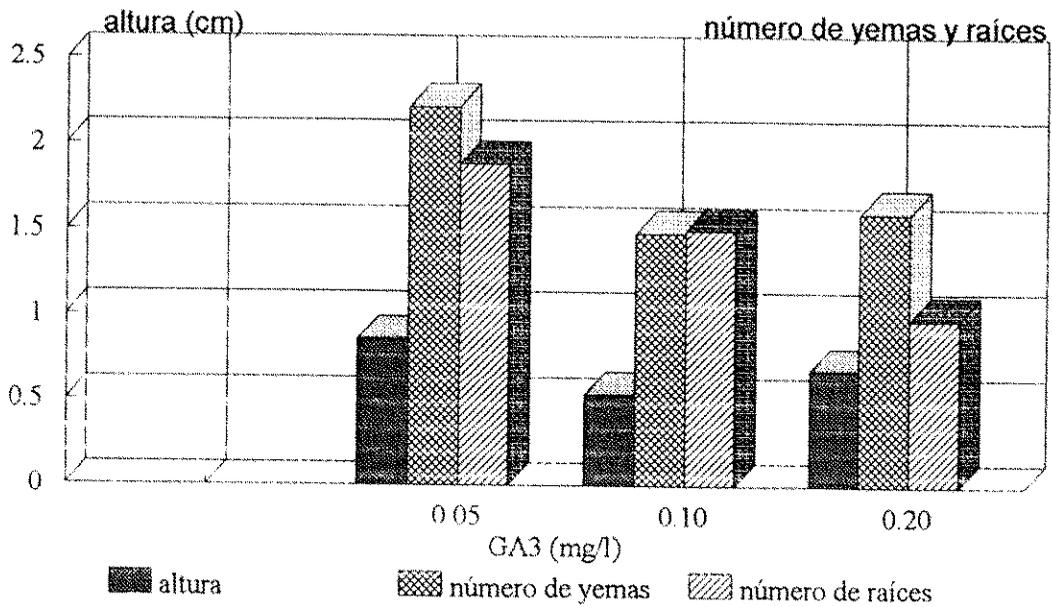


Figura 10. Efecto de las concentraciones de GA₃ sobre la altura de planta, número de yemas y número de raíces en el cultivo de ápices de yuca en el tercer subcultivo.

Para la interacción BAP por GA₃ los resultados que proporciona la prueba de separación de medias refleja que cuando no hay adición de BAP no hay efectos significativos sobre el número de raíces y aplicando una concentración de 0.05 mg/l de GA₃ proporciona 2,261 raíces. Las concentraciones de 0.10 y 0.20 mg/l de GA₃ tienen menor influencia sobre estas variables que además tienen la misma categoría estadística y poseen 1,033 y 0,750 raíces respectivamente.

Por otra parte esta prueba nos determina también que cuando se adiciona 0.04 mg/l de BAP se establecen tres categorías estadísticas siendo la más significativa la que se combina con 0.10 mg/l de GA₃ con 2,200 raíces seguido de 0.05 mg/l con 1,571 raíces por último 0.20 mg/l con 1,222 raíces (Tabla 11; Figura 11).

Tabla 11. Comportamiento de la variable número de raíces bajo la interacción del BAP y e IGA₃ en el tercer subcultivo

BAP \ GA ₃	0.05 mg/l	0.10 mg/l	0.20 mg/l
0.00 mg/l	2,261 a *	1,033 b	0,750 b
0.04 mg/l	1,571 ab	2,200 a	1,222 b

*Prueba de DUNCAN: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente.

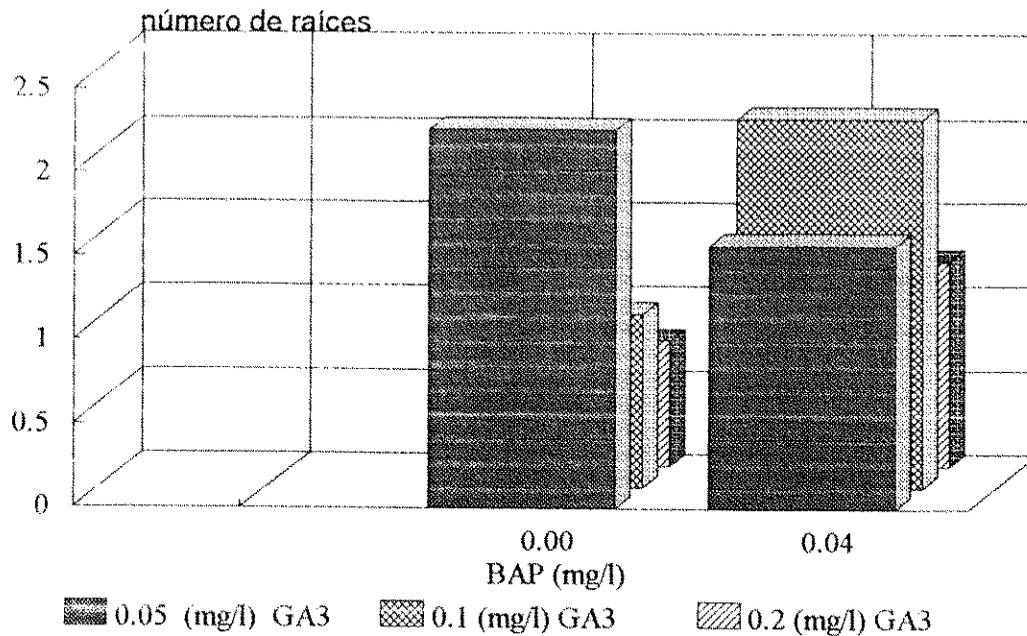


Figura 11. Efecto de la Interacción BAP*GA₃ sobre el número de raíces en el tercer subcultivo.

La separación de medias aplicada a la triple interacción clones* BAP * GA₃ para la variable número de raíces, nos dice que los clones MCol-22 y Okra responden mejor cuando no se adiciona BAP y la concentración de GA₃ es de 0.05 mg/l con 4.00 y 2.33 raíces. Además que estos clones poseen la misma categoría estadística; aunque numericamente el clon MCol-22 presenta los mayores resultados (cantidad de raíces). También podemos decir que el Portland sin adición de BAP y con cualquiera de las concentraciones de GA₃ (0.05 mg/l, 0.10 mg/l y 0.20 mg/l) resultaron sin significancia estadística, de igual manera se comporta el clon MCol-22 con 0.04 mg/l de BAP. El clon Okra con 0.04 mg/l de BAP respondió mejor con 0.10 mg/l de GA₃ proporcionando 2.250 raíces seguido de las concentraciones 0.20 y luego 0.10 mg/l de concentración de GA₃. Por último el clon Portland con 0.04 mg/l de BAP respondió mejor con 0.05 mg/l de GA₃ con 1.444 raíces seguido de

0.10 mg/l de GA₃ y 0.20 mg/l de GA₃ (Tabla 12; Figuras 12 y 13).

Tabla 12. Comportamiento de la variable número de raíces cuando interactúan los clones *BAP*GA₃ en el tercer subcultivo

CLON*BAP \GA ₃	0.05 mg/l	0.10 mg/l	0.20 mg/l
MCol-22*0.0 mg/l BAP	4,000 a*	2,000 b	1,300 b
Okra*0.0 mg/l BAP	2,333 a	0,300 b	0,125 b
Portland*0.0 mg/l BAP	1,000 a	0,800 a	0,700 a
MCol-22*0.04 mg/l BAP	3,100 a	3,778 a	2,125 a
Okra*0.04 mg/l BAP	0,000 c	2,250 a	1,111 b
Portland*0.04 mg/l BAP	1,444 a	0,143 b	0,600 ab

*Prueba de DUNCAN: promedios con letras iguales no difieren estadísticamente.

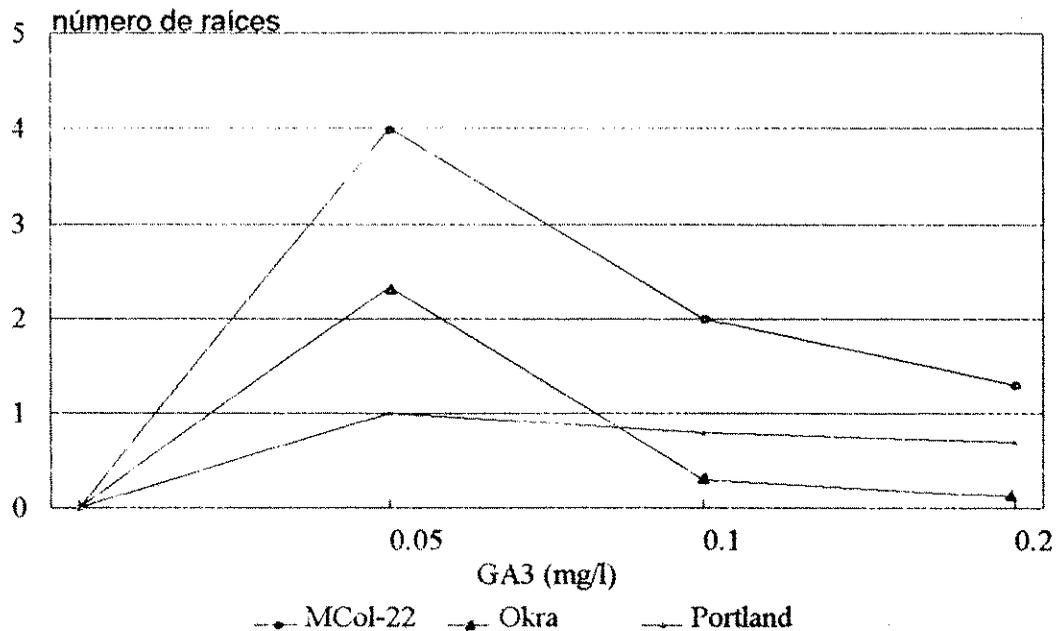


Figura 12. Comportamiento del número de raíces en los clones MCol-22, Okra y Portland en tres concentraciones de GA₃ y 0.00 mg/l de BAP en el tercer subcultivo.

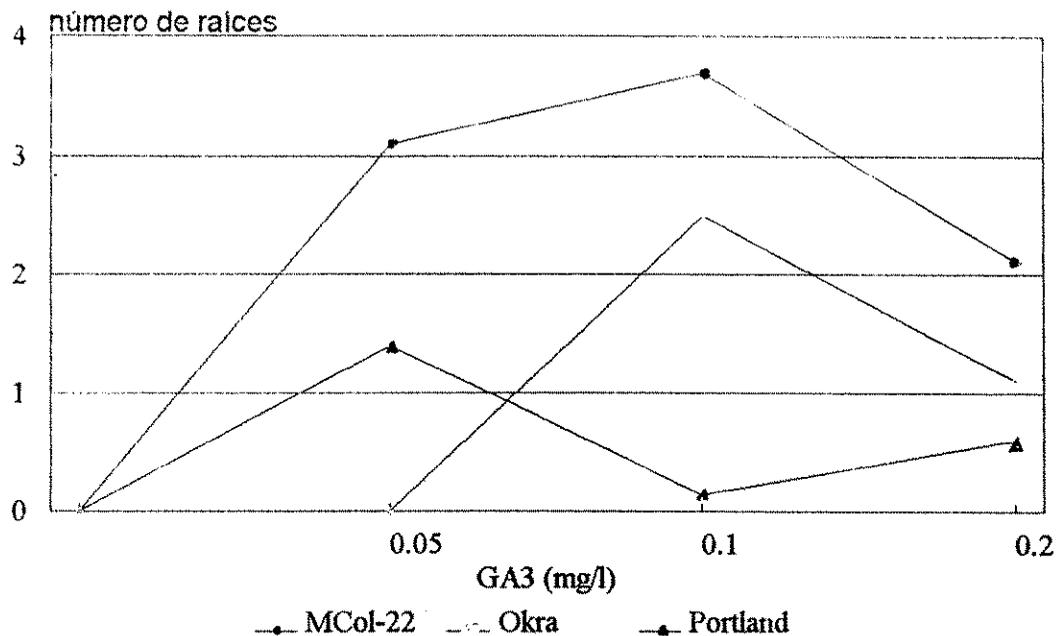


Figura 13. Comportamiento del número de raíces en los clones MCol-22, Okra y Portland en tres concentraciones de GA₃ y 0.04 mg/l de BAP en el tercer subcultivo

3.2 Fase II: Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca .

3.2.1 Altura de planta

En el análisis de varianza realizado a la variable altura se observan diferencias significativas entre las consistencias (semisólida y líquida) (Tabla 10A).

La prueba para rangos múltiples demuestra que no existen diferencias significativas entre clones sobre la altura de planta, aunque numericamente la variedad C6-1141 presentó la mayor altura con 2.025 cm. Por otra parte demuestra diferencias significativas entre las consistencias líquida y semisólida, donde la consistencia líquida influye en la altura con mayor magnitud con 2.163 cm, caso contrario sucede en la consistencia semisólida con 1.071 cm de altura (Tabla 13; Figura 14).

3.2.2 Número de raíces

En el análisis realizado a la variable número de raíces se observan diferencias significativas entre las consistencias (semisólida y líquida) (Tabla 11A).

No existe significancia alguna entre los clones sobre el número de raíces, según la prueba de DUNCAN. Sin embargo existen diferencias significativas entre las consistencias, donde , la consistencia semisólida ejerce mayor influencia sobre el número de raíces con 0,762 raíces y la consistencia líquida apenas proporciona 0,263 raíces (Tabla 13; Figura 14).

Tabla 13. Comportamiento de la altura de planta y número de raíces de los clones C6-1141, MCol-1505, MCol-2215 y MMex-59 para el efecto de las consistencias semisólida y líquida de los medios nutritivos.

VARIABLES	CLONES				CONSISTENCIAS	
	C6-1141	MCol-1505	MCol-2215	MMex-59	semisólida	líquida
ALTURA DE PLANTA	2,025 a	1033 a	1,767 a	1,642 a	1,071 b	2,163 a
NUMERO DE RAICES	0,258 a	0,600 a	0,792 a	0,400 a	0,762 a	0,263 b

*Prueba de DUNCAN: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente.

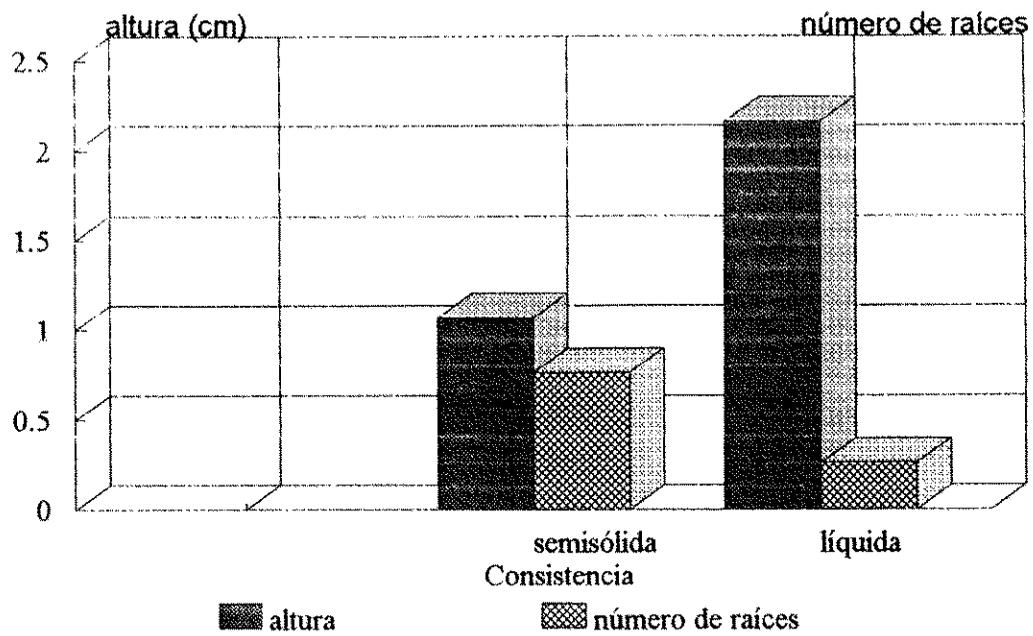


Figura 14. Efecto de las consistencias semisólida y líquida sobre la altura de planta y número de raíces en el cultivo *in vitro* de ápices de yuca.

IV DISCUSION

4.1 Efecto de las concentraciones de BAP y GA₃ en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca

La micropropagación *in vitro* es una técnica a través de la cual se logra una tasa de multiplicación más rápida en un período corto. Para esta técnica se utilizan meristemas (tejido compuesto por células que se dividen rápidamente) que constituyen el punto activo de crecimiento de la yema apical. Esta es una técnica que posee varias ventajas sobre la empleada tradicionalmente en el campo; tales como: Menores costos, eliminación de patógenos, disponibilidad permanente de material para propagación e intercambio de germoplasma (Espinoza *et al.*, 1985).

Las plantas por sus características genotípicas se comportan de diferentes maneras aun estando bajo las mismas condiciones medio ambientales. Hurtado & Merino, (1994); Villalobos & Thorpe, (1991) afirman que los procesos morfológicos están influenciados por otros factores (no hormonales), entre los que se mencionan factores físicos como la luz, temperatura, consistencia del medio (líquido y/o semisólido) y por la calidad del tipo de tejido utilizado.

La yuca es una especie altamente heterocigota y poliploide ($2n = 4x = 36$) y esto influye para que las respuestas de los clones en estudio hayan sido diferentes, (CIAT, 1987).

Los clones evaluados tuvieron un comportamiento heterogéneo, donde los clones Portland y MCol-22 fueron los de mayor importancia en el primer subcultivo. El clon Portland sobresalió en las variables altura de planta y número de yemas y el clon MCol-22 en el número de raíces, presentándose el clon Okra sin relevancia alguna. Esto indica la importancia de variabilidad genética sobre la respuesta

organogénica del cultivo *in vitro* de yemas apicales de yuca (Figura 1).

Las proporciones de auxinas y citocininas son importantes en la determinación de la respuesta organogénica *in vitro* (Litz & Jarret, 1991). 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).

En general, las citocininas están ampliamente difundidas en las plantas, no solamente ligadas al ARN, sino también de forma libre. 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 citocinínica alta con respecto a las auxinas (Weaber, 1984; Krikorian, 1991).

Según Rojas & Ramírez, (1991); Vásquez & Torres, (1987) afirman que las citocininas tiene efectos fisiológicos en la planta sobre la división celular, alargamiento celular, iniciación y crecimiento de raíces y brotes foliares entre otros. Se ha demostrado en tejidos de otras especies que además de la citocinina se necesita auxina para obtener el crecimiento. Apoyando este resultado se observó 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 proceso de división celular (Armas *et al.*, 1988).

La concentración de 0.04 mg/l de BAP, experimentó resultados satisfactorios sobre las variables en estudio (altura de planta, número de yemas y número de raíces) debido a que esta hormona tiene efectos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, dado que estimula la división y alargamiento celular, así como, la iniciación de crecimiento de raíces auxiliado por el ANA que tiene efectos sobre el

desarrollo morfofisiológico de los vegetales y específicamente sobre el desarrollo radicular (Figura 2)

Las giberelinas actúan de forma sinérgica con las auxinas en la inducción del alargamiento celular. En estudios realizados en otros cultivares, se demostró que con la aplicación de giberelinas se produce un aumento en el contenido auxínico. lo que apoya la hipótesis de que el ácido giberélico refuerza la conversión de triptófano en ácido indolacético (Vásquez & Torrez, 1987)

Barba, (1987) ; Villalobos & Thorpe (1991) consideran que al aplicar giberelina exógena, los entrenudos se alargan y hay una respuesta al crecimiento, pero para lograr esta respuesta, es necesario que reciban determinadas concentraciones de acuerdo con el tipo de planta. En presencia de luz y determinadas concentraciones el ácido giberélico (GA_3) las mayores aplicaciones de esta hormona promueven la formación de auxina, hormona que estimula la iniciación de raíces.

En el estudio realizado, pudimos observar que la concentración 0.05 mg/l de GA_3 , estimuló la altura de planta y número de yemas, en comparación con las demás concentraciones para el primer subcultivo. Sin embargo, para el número de raíces, donde observamos que mayores concentraciones de GA_3 (0.10 y 0.20 mg/l) dan como resultado una mejor respuesta en la variable. Aquí se afirma que el aumento de niveles de GA_3 incrementan el contenido auxínico dando como resultado un incremento en el número de raíces (Figura 3).

Por otro lado la interacción entre los clones y las concentraciones de GA_3 para la variable número de raíces, el clon Mcol-22, en las concentraciones 0.10 y 0.20 mg/l de GA_3 presentó el mejor resultado. Esto se debe al efecto del genotipo sobre la respuesta organogénica en el cultivo de tejidos, y al efecto del GA_3 sobre la

producción de auxina (Figura 4; Tabla 7).

Para el segundo subcultivo el clon MCol-22 superó a los clones Okra y Portland ejerciendo mayor influencia sobre el número de raíces, esto es debido a la variabilidad genotípica existente entre los clones. A este respecto, Hughes, (1982) reporta que el genotipo es un factor determinante sobre el cultivo de tejidos de plantas ornamentales y en muchos casos de éste depende la respuesta de crecimiento del explante. (Figuras 1 y 5)

Se determinó que la concentración 0.04 mg/l de BAP ejerce el mayor efecto sobre las variables en estudio: altura de planta, número de yemas y número de raíces a como se señala en el primer subcultivo. O sea que el BAP es importante en la respuesta organogénica en el cultivo *in vitro* (Figura 6), dado que influye en la división, alargamiento celular, así como en la formación de raíces.

Hurtado & Merino, (1994) y Barceló *et al.*, (1992) señalan que las giberelinas presentan un espectro de actividad biológica muy variado, con un papel regulatorio principal en el crecimiento. En el estudio se observó que el GA₃ tuvo efecto sobre las variables evaluadas, presentándose los mejores resultados en la concentración 0.10 mg/l, ejerciendo una mayor influencia en la altura de planta y número de yemas y menor en el número de raíces debido a la poca influencia del GA₃ sobre la iniciación radicular y la variabilidad genotípica (Figura 7).

Para la interacción entre los clones y las concentraciones de GA₃, el clon MCol-22 fue el que mejor comportamiento manifestó en la variable número de raíces en interacción con la concentración 0.10 mg/l de GA₃ quizá por sus características genotípicas principalmente y por el efecto del GA₃ que acarrea un aumento en el contenido auxínico, hormona intimamente relacionada con la iniciación de raíces (Barceló *et al.*, 1992) Figura 8; Tabla 9.

Es interesante observar que al analizar los tres subcultivos de la primera fase del experimento, los clones se alternan la preferencia por determinadas concentraciones de GA₃ o BAP para sobresalir sobre las variables evaluadas.

Esta alternabilidad de los clones es fundamentalmente ocasionada por el comportamiento del genotipo en relación con los tratamientos experimentados o sea que el genotipo respondió de manera diferente a los tratamientos estudiados, (Espinoza *et al.*, 1985). Por tal razón el clon Portland experimentó mayor relevancia en la altura de planta y el clon MCol-22 sobre la variable número de yemas y número de raíces, en el tercer subcultivo (Figura 9).

Aún cuando las especies se comportan de manera diferente morfofisiológicamente estando bajo determinadas condiciones medioambientales, existen factores importantes que determinan modificaciones en las plantas, entre otros las fitohormonas u hormonas reguladoras del crecimiento alteran el comportamiento de los organismos vegetales.

El GA₃ hormona encargada principalmente de la expansión celular, además de otras funciones (Weaber, 1984; Barceló *et al.*, 1992) manifiesta que la presencia de giberelina incrementa la concentración de auxina (interviene en la iniciación de raíces) por eso el efecto sinérgico entre GA₃ y ANA permitió el aumento de número de raíces (Figura 10)

Quizá haya efecto de los subcultivos en cuanto a las concentraciones de GA₃ sobre el número de raíces dado que a medida que aumentan los subcultivos se incrementa el número de raíces, esto sucede en las tres concentraciones en estudio (Figuras 3, 7 y 10)

Anteriormente se explicaban las funciones principales del BAP; se dice que

es la hormona más importante en la iniciación de primordios radiculares y en la división celular (Weaver, 1984 citando a Skoog y colaboradores, 1951; Barceló *et al.*, 1992; Rojas & Ramírez, 1991).

Existió interacción entre BAP*GA₃ y ciertas concentraciones de estas hormonas dieron como resultado mayor número de raíces. El incremento sobre esta variable se debió porque el GA₃ facilita la disponibilidad de ANA, y ésta junto con el BAP tienen efecto directo sobre la formación y desarrollo radicular. Además es importante observar que la relación existente entre BAP*GA₃, que mientras están en equilibrio existe una mejor respuesta. Por eso concentraciones bajas como 0.00 mg/l de BAP combinado con 0.05 mg/l de GA₃ tienen la misma respuesta que las concentraciones de 0.04 mg/l de BAP combinada con 0.10 mg/l de GA₃ (Figura 11; Tabla 11).

Es interesante como las interacciones entre hormonas son importantes para el crecimiento y desarrollo del vegetal porque el efecto de una es muchas veces determinado por la presencia de otras (sinergismo) (Vásquez & Torrez, 1987). Interactuaron los clones con el BAP y el GA₃ sobre la variable número de raíz y se observó que el clon MCol-22 se comportó mejor con 0.00 mg/l y 0.04 mg/l de BAP en el medio nutritivo al relacionarse con las concentraciones de GA₃.

Es notorio observar que cuando se aumenta la concentración de GA₃ se disminuye el número de raíces. Esta disminución es debido a que el BAP tiene mayor influencia sobre la formación de raíces y el GA₃ tiene menor efecto sobre esta actividad, entonces, mientras se aumenta la concentración de GA₃ o se pierda el equilibrio entre hormonas el efecto será en detrimento de la formación radicular sumando a esto el comportamiento heterogéneo entre los genotipos (Figuras 12 y 13; Tabla 12).

El clon Okra en la Figura 13 es el único que se comporta de forma diferente, quizá por lo que mencionábamos anteriormente, que los genotipos estudiados son variables y ésta característica es más común en la yuca.

4.2 Efecto de las consistencias de medios nutritivos en el cultivo *in vitro* de yemas de yuca

La raíz tiene su origen a partir del periciclo, ésta desarrolla vellos que son los encargados de la absorción de nutrientes (minerales) necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta. En la técnica de cultivos de tejidos las sales minerales y los reguladores de crecimiento que se adicionan al medio nutritivo son absorbidos con mayor rapidez porque éstos se encuentran de forma disponible para el vegetal, aunque la rapidez de absorción pudiera estar en dependencia de otros elementos que se incorporan al medio nutritivo como el bacto agar que ejerció influencia sobre la formación de raíces.

El efecto de las consistencias evaluadas (semisólida y líquida), en la segunda fase del experimento, la consistencia semisólida respondió mejor para la formación de raíces y la consistencia líquida para la variable altura de planta. Esta respuesta posiblemente se haya debido a que el agente gelificante poseía elementos que ayudaron al enraizamiento en detrimento de la altura, o tal vez la consistencia sólida hizo más difícil la disponibilidad de nutrientes, obligando a la planta a desarrollar un mayor sistema radicular utilizando energía en este proceso de desarrollo, afectando el crecimiento (altura) del vegetal. A este respecto, Cisne (1988) y Skirvin (1982); sugieren que debido a la procedencia de el agar (algas rojas), la composición de éste es muy variada y que en algunos casos puede aportar algunas sustancias al medio nutritivo que pueden favorecer o reducir el crecimiento o desarrollo del explante. Así mismo la concentración de agar utilizada en el medio puede incidir sobre la absorción de los elementos nutritivos (Figura 14; Tabla 13)

V CONCLUSIONES

1. Cada clon responde de manera particular debido al efecto de los tratamientos y a su genotipo.
2. El clon Portland se comportó mejor con la concentración 0.04 mg/l de BAP para las variables altura de planta y número de yemas en el primer subcultivo.
3. El clon MCol-22 en la variable número de raíces en el primer subcultivo se comportó mejor con 0.04 mg/l de BAP y 0.10 mg/l de GA₃.
4. El clon MCol-22 obtuvo buenos resultados en el segundo subcultivo con 0.04 mg/l de BAP y 0.10 mg/l de GA₃ en las tres variables evaluadas.
5. El clon Portland en el tercer subcultivo dio mejores resultados sobre la variable altura de planta, siendo no significativas las concentraciones de las fitohormonas.
6. El clon MCol-22 obtuvo resultados satisfactorios solamente con 0.05 mg/l de GA₃ para la variable número de yemas en el tercer subcultivo.
7. En la variable número de raíces en el tercer subcultivo el clon MCol-22 y Okra resaltaron en la combinación 0.00 mg/l de BAP y 0.05 mg/l de GA₃. El clon Okra sobresalió con 0.04 mg/l de BAP y 0.10 mg/l y 0.05 mg/l de GA₃ y el clon Portland tuvo buenos resultados en esta variable con 0.04 mg/l de BAP y 0.05 mg/l de GA₃.
8. De las dos consistencias de medios nutritivos estudiados, el medio líquido presentó mejores resultados para la variable altura de planta. Por el contrario el medio semisólido tuvo mayor influencia sobre el número de raíces.

VI RECOMENDACIONES

1. Utilizar las concentraciones de BAP y GA₃ apropiadas para los clones MCol-22, Okra y Portland, si los objetivos a perseguir son de micropropagación acelerada.
2. Realizar estudios sobre el comportamiento de otros materiales en los medios que resultaron más adecuados en el presente ensayo.
3. Utilizar medios líquidos en la fase de multiplicación acelerada, dado que proporciona un mayor número de yemas y disminuye los costos.
4. Utilizar medio semisólido en las fases de establecimiento y de enraizamiento.

VII REFERENCIAS

- Armas U., R.; Ortega D., E. & Rodés G. , R. 1988. Fisiología vegetal. La Habana, Cuba, Pueblo y Educación. 324 p.
- Barceló C., J.; Rodrigo, G. N.; Sabater G., B.& Sánchez T., R. 1992. Fisiología vegetal. 6a ed. Madrid, España, Ediciones Pirámides.
- Barba Alvarez, S. 1987. Reguladores del crecimiento vegetal. Ed. por Daniel Hurtado V. y María Eugenia Merino en: Cultivo de tejidos vegetales. 1a ed. México, Trillas, 229 p.
- Berríos, R. 1994. Situación de la yuca en Nicaragua. Managua, Centro de Exportaciones e Inversiones. (comunicación personal).
- Blanco Navarro, M. 1990. Raíces y tubérculos. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias (ISCA); 2ª Ed. Managua, Nic. p 1-73.
- CIAT. 1987. Yuca: Investigación, producción y utilización. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Cali, Col. 660 p.
- Cisne Contreras, J. D. 1988. Introducción a la técnica de cultivo de tejidos vegetales. Tesis Ing. Agr. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias (ISCA). Managua, Nic.

- Espinoza, N.; Estrada, R., Tovar, P.; Bryan, J. & Dodds, J. H. 1985. Cultivo de tejidos: Micropropagación, conservación y exportación de germoplasma de Papa. Lima, Perú, Centro Internacional de la Papa. 17 p.

- FAO. 1994. Anuario de producción mundial. Italia, Rom., 47 (117):93

- Hughes, W. K. 1982. Ornamental species . *In* : Cloneng agriculture plants. via in vitro techniques. Ed. by B. V. Conger. Boca Raton, Florida, CC R Press. p. 5-50

- Hurtado M., D. V. & Merino, M. E. 1994. Cultivo de tejidos vegetales. 4a ed. México, Trillas. 232 p.

- Krikorian, A. D. 1991. Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación. *In* : Cultivo de tejidos vegetales en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed. por William M. Roca y Luis Mroginski. CIAT. Cali, Col. p. 41-77.

- Litz, R. E. & Jarret, R. L. 1991. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: Embriogénesis somática y organógenesis. *In* : Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed por William M. Roca y Luis Mroginski. CIAT. Cali, Col. p. 143-172

- Montaldo, A. 1985. La yuca o mandioca. Ed. por J. Escoto. 1a. ed. Sn. José, C. R. IICA. 381 p.

- Rogers, J. N. 1963. Studies of *Manihot sculenta* Crantz and related species. New York, Bull. Torrey Bot. Club. 90 (1): 43-54

- Murashige, T. and Skog, F. 1962. A revised medium, for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologi Plantarum*. 15: 473-497

- Rojas G., M. & Ramírez, H. 1991. Control hormonal del desarrollo de las plantas, fisiología- tecnología-experimentación. 2a. ed. México. Limusa. p. 27-39.

- Skirvin, M. R. 1982. Fruits crops, ornamental species. *In* : Cloning agriculture plants via *in vitro* techniques. Ed. by B. V. Conger. Boca Raton, Florida, CRC Press. p. 5-60

- Skoog , F. & Tsui, C. 1951. Growth sustances and the formation of buds in planta tissues. *Wicss, U.S.A.*, p. 263-285

- Vavilov, N. I. 1950. The origin, variation immunity and breeding of cultivated plants. *Wattham, Chronica Botanica*. 13-357 p.

- Vázquez B., E. & Torres G., S. 1987. *Fisiología Vegetal*. 2a ed. Habana, Cuba, Editorial Pueblo y Educación, 463 p.

- Villalobos A., V. M. & Thorpe, T. A. 1991. Micropropagación: Conceptos, metodología y reultados *In*: Cultivo de tejidos vegetales en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed. por William M. Roca, y Luis Mroginski. CIAT. Cali, Col. p. 127-141.

- Weaber, R. J. 1984. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Trad. por A. Contin. 3a. ed. México, Trillas. p. 41-171.

VIII ANEXOS

Tabla 1A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en el primer subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	0.9639	2	0.4819	3.64	0.0286*
BAP	1.2107	1	1.2107	9.14	0.0029**
CLON*BAP	0.0286	2	0.0143	0.11	0.8977
GA ₃	0.2782	2	0.1391	1.05	0.3523
CLON*GA ₃	0.5725	4	0.1431	1.08	0.3682
BAP*GA ₃	0.3081	2	0.1540	1.16	0.3152
CLON*BAP*GA ₃	0.4284	4	0.1071	0.81	0.5214
ERROR	20.4006	154	0.1324		
TOTAL	24.6043	171	CV % = 153.0619		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 2A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas en el primer subcultivo.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	24.999	2	12.4995	5.86	0.0035**
BAP	10.6521	1	10.6521	4.99	0.0269*
CLON*BAP	3.0609	2	1.5304	0.72	0.4896
GA ₃	2.9082	2	1.4541	0.68	0.5052
CLON*GA ₃	10.5028	4	2.6257	1.23	0.3000
BAP*GA ₃	3.7072	2	1.8536	0.87	0.4214
CLON*BAP*GA ₃	3.7828	4	0.9457	0.44	0.7771
ERROR	328.4666	154	1.4604		
TOTAL	391.6744	171	CV % = 130.8316		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 3A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces para el primer subcultivo

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P ≤ 0.05
CLONES	11.8989	2	5.9494	9.37	0.0001**
BAP	4.9739	1	4.9739	7.83	0.0058**
CLON*BAP	1.9459	2	0.9739	1.53	0.2193
GA ₃	5.1266	2	2.5633	4.04	0.0196*
CLON*GA ₃	6.9796	4	1.7449	2.75	0.0333*
BAP*GA ₃	2.8511	2	1.4255	2.25	0.1094
CLON*BAP*GA ₃	0.6234	4	0.1558	0.25	0.9121
ERROR	97.7888	154	0.6349		
TOTAL	137.8604	171	CV % = 190.3620		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 4A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta para el segundo subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P ≤ 0.05
CLONES	0.0387	2	0.0193	0.01	0.9935
BAP	25.0389	1	25.0389	8.44	0.0042*
CLON*BAP	8.9385	2	4.4692	1.51	0.2252
GA ₃	24.5445	2	12.2722	4.14	0.0179*
CLON*GA ₃	21.4556	4	5.3639	1.81	0.1305
BAP*GA ₃	12.0564	2	6.0282	2.03	0.1348
CLON*BAP*GA ₃	20.7606	4	5.1901	1.75	0.1424
ERROR	436.2782	147	2.9678		
TOTAL	549.4407	164	CV % = 169.2897		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 5A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas en el segundo subcultivo.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	5.6605	2	2.8302	0.55	0.5768
BAP	32.5840	1	32.5840	6.36	0.0127*
CLON*BAP	13.3041	2	6.6520	1.30	0.2761
GA ₃	34.6052	2	17.3026	3.38	0.0368
CLON*GA ₃	18.9683	4	4.7420	0.93	0.4509
BAP*GA ₃	17.6213	2	8.8106	1.72	0.1827
CLON*BAP*GA ₃	24.0594	4	6.0148	1.17	0.3248
ERROR	753.2222	147	5.1239		
TOTAL	899.7939	164	CV% = 94.079		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 6A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en el segundo subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUARADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	25.0328	2	12.5164	9.91	0.0001**
BAP	22.6653	1	22.6653	17.94	0.0001**
CLON*BAP	3.0685	2	1.5342	1.21	0.2998
GA ₂	6.1361	2	3.0680	2.43	0.0917
CLON*GA ₂	23.4246	4	5.8561	4.64	0.0015*
BAP*GA ₃	4.1800	2	2.0900	1.65	0.1947
CLON*BAP*GA ₃	2.1085	4	0.5271	0.42	0.7960
ERROR	185.688	147	1.2631		
TOTAL	272.1454	164	CV% = 143.7568		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 7A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta para el tercer subcultivo

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	3.2350	2	1.6175	2.91	0.05775*
BAP	0.2337	1	0.2337	0.42	0.5175
CLON*BAP	0.1498	2	0.0749	0.13	0.8739
GA ₃	2.3710	2	1.1855	2.14	0.1221
CLON*GA ₃	1.5626	4	0.3906	0.70	0.5908
BAP*GA ₃	0.3467	2	0.1733	0.31	0.7323
CLON*BAP*GA ₃	0.8368	4	0.2092	0.38	0.8249
ERROR	76.6280	138	0.5552		
TOTAL	86.6874	155	CV% = 107.8351		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 8A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de yemas para el tercer subcultivo

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	19.1854	2	9.5927	5.42	0.0054*
BAP	1.3235	1	1.3235	0.75	0.3888
CLON*BAP	1.6651	2	0.8325	0.47	0.6269
GA ₃	16.6259	2	8.3129	4.69	0.0107*
CLON*GA ₃	9.9309	4	2.4827	1.40	0.2365
BAP*GA ₃	1.3548	2	0.6774	0.38	0.6828
CLON*BAP*GA ₃	9.8605	4	2.4651	1.39	0.2399
ERROR	244.3591	138	1.7707		
TOTAL	310.2243	155	CV% = 75.4860		

* significativo

** altamente significativo

Tabla 9A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en el tercer subcultivo.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	116.4279	2	58.2139	35.46	0.0001**
BAP	1.8078	1	1.8078	1.10	0.2958
CLON*BAP	3.0520	2	1.5260	0.93	0.3972
GA ₃	25.3517	2	12.6756	7.72	0.0007**
CLON*GA ₃	13.9157	4	3.4789	2.12	0.0817
BAP*GA ₃	25.1509	2	12.5754	7.66	0.0007**
CLON*BAP*GA ₃	32.9457	4	8.2364	5.02	0.0008**
ERROR	226.5571	138	1.6417		
TOTAL	440.4807	155	CV% = 88.8365		

* significatvo

** altamente signifivativo

Tabla 10A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable altura de planta en la segunda fase del experimeto.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P < 0.05
CLONES	6.3616	3	2.1205	1.54	0.2182
CONSISTENCIA	14.3008	1	14.3008	10.41	0.0025**
CLON*CONS	8.8775	3	2.9591	2.15	0.1086
ERROR	54.9668	40	1.3741		
TOTAL	84.5066	47	CV% = 75.5102		

* significatvo

** altamente signifivativo

Tabla 11A. Análisis de varianza y coeficiente de variación de la variable número de raíces en la segunda fase del experimento.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	Fc	P _s 0.05
CLONES	1.9541	3	0.6513	1.75	0.1713
CONSISTENCIA	3.000	1	3.000	8.08	0.0070*
CLON*CONS	0.3316	3	0.1105	0.30	0.8267
ERROR	14.8466	40	0.3711		
TOTAL	20.1325	47	CV% = 118.8750		