

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISION DE AGRONOMIA



**Micropropagación de la Papa. Efecto de Citocininas,
Tipo de Explantes y Densidad de siembra**

Por:

SILVESTRE PEREZ PEREZ

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de :**

Ingeniero Agrónomo en Horticultura

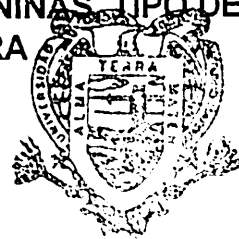
Buenvista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 1995

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

DIVISION DE AGRONOMIA

MICROPROPAGACION DE LA PAPA. EFECTO DE CITOCININAS TIPO DE
EXPLANTES Y DENSIDAD DE SIEMBRA



POR:

SILVESTRE PEREZ PEREZ
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

TESIS

QUE SE SOMETE A CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

APROBADA

PRESIDENTE DEL JURADO

DR. MARCO A. BUSTAMANTE GARCIA

SINODAL

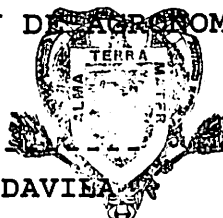
M.C. EMILIO PADRON CORRAL

SINODAL

M.S. LETICIA A. BUSTAMANTE GARCIA
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

M.C. MARIANO FLORES DAVILA



División de Agronomía
Coordinación

DEDICATORIA

A mis Abuelos:

Serapio Pérez Vargas (+)

Petra Cruz Jiménez (+)

Por sus grandes ejemplos de humildad, rectitud, honestidad y su capacidad emprendedora en el trabajo; que hoy en día son de gran utilidad en mi vida cotidiana.

A mis Padres:

Silvestre Pérez Cruz

Nicolasa Pérez Mendoza

Por sus sabios consejos que me brindaron, así como el gran apoyo moral y económico durante mi carrera profesional. Con profundo cariño y amor dedico este trabajo a ellos.

A mis Hermanos:

Gustavo

Juventino

Ruben

Por el gran apoyo, respeto y cariño que nos tenemos.

A mis tíos:

Gonzalo

Josefina

Hilario

Aurora

Eulogio

Candida

Eusebio

Por el cariño y apoyo que me brindan.

A mi novia:

Alicia Marín Miranda

Por los momentos valiosos que compartimos, el amor mutuo que nos tenemos y por ser una mujer maravillosa, así como el apoyo incondicional en el presente trabajo.

A dos grandes amigos:

César Escamilla Jiménez

José Luis Hernández Badillo

Por la confianza, amistad y apoyo que me han brindado, pero más que todo por compartir los momentos difíciles. En especial a chicharo.

A la familia Escamilla Jiménez:

Sr. Valeriano Escamilla Pérez

Sra. Felipa Jiménez Hidalgo

Lidia Alejandra *

Valeriano Dolores

Rogélio Sonia

Graciela Nohemi

Por soportarme tantas y tantas veces en su hogar, pero en particular por los momentos felices que compartimos y por sus invaluable consejos. * En especial con profundo amor que le tengo.

A la familia Hernández Badillo:

En especial a la Maestra Fidelia por brindarme su amistad y sus generosos consejos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por iluminarme en mi camino y ofrecerme fe, esperanzas y oportunidades en la vida.

A mi Alma Mater, UAAAN.

Por darme la oportunidad de forjarme profesionalmente.

Al Dr. Marco A. Bustamante García

Por su valiosa asesoría y orientación del presente trabajo de investigación, así como su tiempo y confianza que me brindo, que son de un valor incalculable.

Al M.C. Emilio Padrón Corral

Por su gran apoyo en el análisis estadístico

A la M.S. Leticia A. Bustamante García

Por haber aceptado ser el jurado examinador.

Al M.C. Alfredo Sánchez López

Por sus valiosa ayuda en mis trabajos durante mi carrera profesional y por la amistad que me brindo.

A T.L.Q. María Laura Durón O.

Por apoyarme en los trabajos de laboratorio.

A María Antonieta Alcázar G.

Por su inmensa ayuda en el escrito del presente trabajo.

A Rosario Ezquivel, Ilda y Martha

Por su grandes apoyos durante mi carrera profesional.

A mis compañeros e amigos:

Martha C. Torres, Emilia Rivas, Nancy A. González, Socorro Ramírez, Mari Cruz Carreño, Mario A. Serrano, Homero Ramón, Mario Ramón, Marcelo Siller, Guillermo Cena, Omar Amigon, Roberto Dorantes, José X. Palmeros, Miguel Angel Magaña, Salmón Díaz, Humberto Rodríguez, Faustino Lara, Rommel De la Garza, Roberto González y Joaquin Pliego.

Por brindarme su amistad y haberme apoyado en los trabajos académicos.

INDICE

I.- INTRODUCCION.....	1
II.- REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1. Origen geográfico e historia del cultivo....	4
2.2. Clasificación taxonómica.....	5
2.3. Descripción fisiológica y morfológica del.	
cultivo de la papa.....	6
2.3.1. Raíz.....	6
2.3.2. Tallo.....	7
2.3.3. Hoja.....	7
2.3.4. Flores.....	8
2.3.5. Frutos.....	8
2.3.6. Tubérculos.....	8
2.4. Condiciones edáficas.....	9
2.5. Condiciones climáticas.....	10
2.6. Producción de tubérculo-semilla.....	10
2.6.1. Producción de tubérculo-semilla básica.	11
2.6.2. Producción de tubérculo-semilla	
registrada.....	12
2.6.3. Producción de tubérculo-semilla	
certificada.....	13

2.7. Producción de plantas libres de virus.....	13
2.7.1. Generalidades de los virus de la papa.	13
2.7.2. Termoterapia.....	14
2.7.3. Cultivo de meristemas.....	17
2.7.4. Pruebas serológicas.....	21
2.8. Micropropagación de la papa y otros cultivos.	22
2.8.1. Métodos de micropropagación.....	23
2.8.2. Medios de cultivo y reguladores de crecimiento.....	24
2.8.3. micropropagación de otros cultivos.	28
 III.- MATERIALES Y METODOS.....	30
3.1 Ubicación del lugar.....	30
3.2 Material vegetativo.....	30
3.3 Esterilización del medio e instrumentos.....	30
3.4 Experimentos.....	30
3.4.1 Experimento uno.....	31
3.4.2 Experimento dos.....	31
3.4.3 Experimento tres.....	31
3.5 Condiciones de cultivo.....	32
3.6 Diseño experimental.....	32
3.7 Parámetros evaluado.....	33

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	35
V.- CONCLUSIONES.....	40
VI.- LITERATURA CITADA.....	41
VII.- APENDICE.....	51

I. INTRODUCCION

La papa Solanum tuberosum L. es considerada uno de los alimentos más importantes del mundo y ha sido clasificada en cuarto lugar en importancia mundial debido a la adecuada obtención de proteínas por superficie. En algunos países Europeos y en Estados Unidos presentan un consumo promedio per cápita de 180 kg/año (CIP, 1983), reportándose en México un consumo per cápita anual de 16 kg/año (DGA, 1982).

A nivel mundial la producción de papa ocupa el cuarto lugar, superada únicamente por el maíz, trigo y arroz, ocupando una superficie de 21 millones de has con una producción de 290 millones de toneladas y un rendimiento promedio de 13.8 ton/ha (SOMEFI, 1994), siendo los principales países productores: Polonia, Estados Unidos, República Popular de China, Inglaterra, Irlanda, Holanda, Alemania, Perú, México y Suecia (SARH, 1994).

La superficie sembrada a nivel nacional en 1992 fue de 80,000 has. con una producción de 1'350,000 ton. y un rendimiento promedio de 20 ton/ha., siendo los principales estados productores: Puebla, Veracruz, Estado de México, Michoacán, Sinaloa, Chihuahua, Sonora, Hidalgo, Tlaxcala, Coahuila y Nuevo León (SARH, 1994).

La siembra de la papa se efectúa mediante el uso de tubérculo-semilla y la demanda potencial de categoría certificada es de 185,500 toneladas. Sin embargo, únicamente

se producen 28,000 ton. cantidad que cubre el 15.5% de la superficie cultivada (Villarreal, 1987). Para cubrir sus necesidades, los productores seleccionan tubérculo a la cosecha, basándose exclusivamente en el tamaño y no por su sanidad (Ramírez, 1989).

Uno de los graves problemas que presenta la papa, es la asociación de enfermedades virosas, las cuales no solamente están relacionadas con las pérdidas, si no por las grandes sumas de dinero destinadas para su control, ya sea a través del uso de plaguicidas para eliminar a sus insectos vectores, y también por la organización de servicios muy especiales para el mantenimiento de cultivares destinados a la producción de material vegetativo libre de virus para sus siembras (Fernández, 1976).

Una alternativa de solución al problema, es el uso del cultivo *In vitro* de meristemas, combinado con la termoterapia, ya que con ambas técnicas se han obtenido plantas libres de virus (Sánchez et al., 1991).

La micropropagación se ha utilizado en un gran número de especies vegetales de importancia alimenticia, económica y ornamental, tales como fresa, papa, clavel, crisantemo, orquídea, etc. (Langhans y Horst, 1977; Villalobos, 1980).

En el caso de la micropropagación de la papa se ha utilizado en la obtención de plántulas *In vitro* de buena calidad y en un corto tiempo, para la producción de tubérculo semilla

(Wright, 1983). Sin embargo aun quedan muchos factores por estudiar para lograr una mayor eficiencia en las velocidades de multiplicación y en la calidad de plantas producidas; siendo algunos de estos el tipo y niveles óptimos de los reguladores de crecimiento utilizados en los medios de cultivo, así como las densidades de siembra de explantes nodales; además condiciones de temperatura, fotoperiodo, humedad relativa, etc.. Dado lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el tipo y concentración de citocininas y el tipo y densidad de siembra de explantes nodales por frasco, en la papa.

II REVISION DE LITERATURA

2.1. ORIGEN GEOGRAFICO E HISTORIA DEL CULTIVO.

Gran parte de los investigadores están de acuerdo que el origen de la papa (*Solanum tuberosum* L.) se localice en la región de Andina (Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador y Chile) según Wihllack, (1967) y Harris, (1978) en regiones de altura hasta de 4,000 msnm prevaleciendo en forma silvestre desde hace unos 8,000 años.

En México existen alrededor de 30 especies silvestres, entre ellas la serie poliploide de 24, 36, 48, 60 y 72 cromosomas, las cuales por su diversidad genética, constituyen un germoplasma sumamente valioso en el fitomejoramiento (Rojas, 1977; Romero, 1972). Las culturas indígenas comenzaron a domesticar éste cultivo 400 años A.C., donde junto con el maíz, se convirtió en la base de su alimentación (Harris, 1978; Rojas, 1976).

En nuestro país el cultivo de la papa se inició hace unos 250 años en las partes altas de la sierra de la zona central del país. Sin embargo, no fue sino hasta hace 40 o 50 años que se inicio la producción intensiva de este cultivo, lográndose paulatinamente grandes aumentos en los rendimientos y producción total a medida que se tecnificó el cultivo (Rojas, 1976)

2.2 CLASIFICACION TAXONOMICA.

El cultivar de la papa de mayor importancia económica, industrial y alimenticia a nivel mundial es Solanum tuberosus L., dicho nombre técnico fue usado por primera vez por el botánico suizo Gaspar Bahin en 1959 (Ramos, 1991). Actualmente, la clasificación taxonómica es la siguiente:

REINO	Plantae
SUBREINO	Embryophyta
DIVISION	Espermatophyta
TIPO	Angiospermae
CLASE	Magnoliópside
SUBCLASE	Gamopétala
ORDEN	Tubiflora
FAMILIA	Solanaceae
GENERO	<u>Solanum</u>
SUBGENERO	Pachystemomun
SECCION	Tuberarium
SUBSECCION	Hyperbasarthrum
ESPECIE	<u>tuberosum</u>

NOMBRE CIENTIFICO: Solanum tuberosum L.

NOMBRES COMUNES: Papa y patata.

2.3 DESCRIPCION FISIOLOGICA Y MORFOLOGICA DEL CULTIVO DE PAPA

La papa, pertenece a la clase Magnoliópsidae (dicotiledóneas), es una planta anual de tipo herbáceo arbustivo, de 40 a 80 cm. de altura, el ciclo vegetativo varía de 90 a 180 días dependiendo de la variedad utilizada; presenta 92 días a floración, con un rango de 30 días (INIA, 1982); de acuerdo al proceso fotosintético se ubica en plantas C3 o ciclo de Calvin-Benson; presenta dos tipos de propagación: a) Asexual. La cual se realiza por partes vegetativas (tubérculos), que se utiliza para la producción y reproducción a nivel comercial. b) Sexual. Se lleva a cabo a través de semilla botánica, que se utiliza básicamente para el mejoramiento genético del cultivo. La planta de la papa esta constituida de las siguientes estructuras vegetativas y reproductivas.

2.3.1 RAIZ

Las plantas que se originan de semilla botánica presentan una raíz principal delgada, la cual conforme transcurre las etapas fenológicas de la planta se va modificando en un tipo fibroso. Las plantas de origen vegetativo, poseen una raíz de tipo fibroso con raíces laterales que emergen en grupos de tres a partir de los nudos de los tallos subterráneos (Hooker, 1980).

En plantas adultas el sistema radical es moderadamente extenso, las raíces alcanzan una longitud de 15 a 60 cm.. Sin embargo, algunas alcanzan longitudes de .90 a 1.20 m.,

7

tanto en sentido vertical como en sentido horizontal; se localizan en los primeros 40 cm. del suelo y la mayor densidad de raíces se ubica de 7.5 cm. a 10 cm. de profundidad (Edmond, 1989).

2.3.2 TALLO

La papa presenta tallos de tipo herbáceo, erguido, hueco, con tricomas y algo pubescente; el color varía de verde a púrpura dependiendo de la variedad y condiciones climáticas; los brotes al nacer son erectos y conforme maduran presentan cierta inclinación (Báez, 1983; Edmond, 1989).

La planta de la papa presenta dos tipos de tallos, aéreos y subterráneos. Los tallos aéreos son angulosos, erguidos, ramificados, de color verde a púrpura dependiendo de la variedad cultivada, su altura varía de 0.5 a 1.0 m. y presentan una toxina llamada solanina. Los tallos subterráneos, también llamados estolones, tienen una longitud aproximada de un lápiz, crecen lateralmente una distancia de 2.5 a 10 cm., en su extremidad dan origen a los tubérculos (Colemans, 1983; Guerrero, 1981).

2.3.3 HOJAS

Las hojas primarias provenientes de plántulas y tubérculos, son simples y muy pubescentes (Cronquist, 1977); las hojas de las plantas maduras son pinnadas-compuestas, alternas, pubescentes, ásperas al tacto, pecioladas, formadas por dos folíolos opuestos y uno grande terminal, que puede ser asimétrico y/o simétrico; en la axilas que forman las hojas

con el tallo se originan las yemas vegetativas (Pérez, 1985; SEP, 1987).

2.3.4 FLORES

Las flores que presenta la papa son pentámeras y de diversos colores según la variedad, son hermafroditas, completas, actinomorfas, individuales, de tamaño regular, provistas de un pedúnculo largo, nacen en racimos en el extremo apical de la planta y su inflorescencia es del tipo cima. Presentan un gineceo completo por estilo y estigma simple, ovario súpero, bilocular; el androceo formado por cinco estambres con anteras largas de color amarillo y unidos a un cono; la corola es completa, conformada por cinco pétalos de color amarillo, blanco, rosa, lila, morado, o combinaciones de los colores anteriores; el perianto consta de un cáliz de cinco sépalos de color verde (Báez, 1983).

2.3.5 FRUTOS

El fruto se origina de la fertilización sexual de la planta, es una baya carnosa, redonda u ovoide, de 1.25 a 2.5 cm. de diámetro, de color verde en estado inmaduro y amarillo o púrpura oscuro en estado de madurez; presenta un eje en placentación bicarpelar con aproximadamente de 100 a 300 semillas, las cuales son pequeñas y aplanadas (Báez, 1983; Edmond, 1989).

2.3.6 TUBERCULOS

El tubérculo constituye la parte comestible de la planta, morfológicamente es un tallo modificado, de forma alargada,

globosa u ovoide, con un eje corto, con entre nudos muy dilatados, con ojos dispuestos en forma helicoidal y hojas pobremente desarrolladas, donde se localizan las yemas vegetativas y los meristemos; cada yema lateral tiene tres yemas axilares en forma de triángulo obtuso o bien de forma irregular, que siguiendo su filotaxia también tiene su disposición helicoidal en el tubérculo. La pulpa del tubérculo varía de una tonalidad blanca a amarilla, oscura, el color de la piel también es variable según la variedad, esta puede ser amarilla, blanca, rosa o roja entre las comunes (Báez, 1983; Cabrera, 1991).

La formación del tubérculo se inicia en la región subapical del estolón por medio de dos procesos: La formación del estolón y la tuberización de la punta del mismo. El primer indicador de la formación y desarrollo del tubérculo es una ampliación radial, que es un engrosamiento del segundo entrenudo del estolón, dicha expansión se realiza por la división celular en la corteza y en la zona del perímetro medular, para que este proceso de expansión continúe debe haber la producción de nuevos entrenudos desde el brote apical (Báez, 1983).

2.4 CONDICIONES EDAFICAS

La planta de la papa se adapta a terrenos muy diversos, excluyendo a los muy húmedos y con mal drenaje, ya que se puede podrir el tubérculo-semilla. Las características óptimas para esta hortaliza son, suelos de textura media de tipo migajón-arenoso a migajón-arcilloso, estructura

granular y de consistencia fiable. El pH debe ser ligeramente ácido con un valor de 5 a 5.7, con un mínimo de 2% de materia orgánica y una profundidad mayor de 60 cm., el contenido de carbonatos totales debe ser bajo y sin exceso de sales de sodio (Narro, 1980).

2.5 CONDICIONES CLIMATICAS.

El cultivo requiere de clima seco estepario con lluvias en verano, con una precipitación promedio anual de 300 a 500 mm y una temperatura media anual de 18°C (SARH, 1983).

El cultivo de papa es uno de los más sensibles al fotoperíodo, ya que un incremento o disminución de horas-luz ocasiona una retardación, aceleración, o paro total de las etapas fenológicas del cultivo; por tanto se requiere de un fotoperíodo de 16 horas-luz, con una intensidad lumínica de 30,000 a 50,000 lux. La temperatura óptima ambientales para este cultivo son de 15.5°C a 18.3°C, sin embargo puede prosperar a los 2°C; dependiendo de la variedad y de las regiones productoras de papa se requiere 7°C a 13°C para una buena brotación, y de 14°C para la floración y maduración (SARH, 1983).

2.6 PRODUCCIÓN DE TUBERCULO-SEMILLA.

Considerando que uno de los factores que limita la producción de papa es la calidad del tubérculo-semilla que se emplea en la siembra, el gobierno federal creó en 1948 el programa nacional de papa, teniendo como objetivo producir tubérculo semilla sano; posteriormente en 1959 se implemento

el programa nacional de certificación de tubérculo semilla. Con este propósito se formularon normas específicas para la certificación de las diferentes categorías, se hizo una selección y clasificación de zonas paperas aptas para la producción de tubérculo-semilla, y se descartaron aquellas infestadas por el nematodo dorado (Globodera rostochiensis), pudrición anular (Corynebacterium sepeodonicum) y pudrición bacteriana (Pseudomonas solanacearum) (Ramírez, 1989).

2.6.1 PRODUCCION DE TUBERCULO-SEMILLA BASICA

La semilla de categoría básica constituye la base fundamental para un buen programa de producción. Por tanto debe ser manejado y producido en condiciones de estricto control, de manera que pueda mantener la sanidad y la pureza varietal, y sirva de base para la producción de las demás clases de semilla (Ramírez, 1989).

Algunos factores como la importancia del cultivo, la experiencia de los técnicos, clima, infraestructura disponible y condiciones varietales, determinan si un país debe producir su propia semilla básica o de importarla. Se puede producir Tubérculo-semilla básico por varios métodos, los cuales deben ser canalizados en cada país para utilizar la técnica adecuada (Christiansen, 1980).

Villarreal (1985). Menciona que en la obtención de tubérculo-semilla básica se emplea los siguientes métodos.

- Unidades tubérculos.
- Índice de tubérculos.

- Multiplicación por esqueje.
- Producción por el método clonal.
- Selección masal por sitio.
- Selección clonal o individual.

Los primeros cuatro métodos pueden ser utilizados en programas de producción de tubérculo-semilla bien establecidos y cuando se cuenta con material sano. En el caso de que la variedad o variedades producidas se encuentran totalmente contaminadas por enfermedades virosas, y no estén incluidas en un programa de certificación, deben emplearse los dos últimos métodos.

Meléndez y Quevedo (1980) mencionan que en un programa de producción de tubérculo-semilla de buena calidad, se trata de evitar la contaminación con enfermedades, principalmente de virus, ya que son causantes de la pérdida gradual de la capacidad de producción. Es importante entonces, elevar la tasa de incremento rápido a fin de obtener a corto plazo material sano. Lo anterior se logra aplicando técnicas de multiplicación rápida, las cuales a partir de porciones de tubérculo, terminales de tallo, hojas, yemas, brotes y tejido meristemático se producen plantas, manteniendo su identidad genética.

2.6.2 PRODUCCION DE TUBERCULO-SEMILLA REGISTRADA

Esta categoría es producida en base a tubérculo-semilla de categoría básica, generalmente incrementada por el estado, pero también es posible que la produzcan los agricultores.

En ambos casos deben ajustarse a las normas y reglamentos de producción de tubérculos-semillas establecidas (Christiansen, 1980).

2.6.3 PRODUCCION DE TUBERCULO-SEMILLA CERTIFICADO

La producción de esta categoría debe estar a cargo de agricultores semilleristas seleccionados. Se realiza en base a categoría registrada. Durante el ciclo de desarrollo del cultivo, se dan asistencias técnicas e inspectores oficiales practican supervisión rigurosa en base a normas y reglamentos. Los productores semilleristas deben llevar un estricto control fitosanitario, especialmente usando productos sistémicos en la siembra y durante el desarrollo del cultivo para controlar insectos vectores de virus (Christiansen, 1980).

2.7 PRODUCCION DE PLANTAS LIBRES DE VIRUS

2.7.1 GENERALIDADES DE LOS VIRUS DE LA PAPA

García et al, (1978) y García y Vela (1987) reportaron que es necesario hacer resaltar la importancia económica de las enfermedades virosas, porque afectan gradualmente el valor de la pureza varietal en calidad y cantidad en la producción de las plantas comerciales. En Europa occidental la reducción de los rendimientos debido al virus del enrrollamiento de la hoja, virus Y y A es aproximadamente un 50%; y por los virus X y S, es de 25%. Delgado y Cadena (1968) mencionan que los virus que causan perdidas en el cultivo de la papa son el virus del enrrollamiento y el

sinergismo causados respectivamente por el virus X y el virus Y (Mosaico rugoso). Estos virus son quizás los más destructivos en los programas de certificación de semilla de papa en Europa y Norteamérica.

Kristensen (1970) al referirse a los daños causados por los virus, estima en un 35% las pérdidas de la producción agrícola mundial, señalando que este porcentaje tiende a incrementarse con el paso del tiempo.

En México los virus más importantes son; PVX, PVY, PVLR y PVS, los cuales causan una disminución en el rendimiento de la cosecha que oscila de un 50 a 80% (Villalobos, 1980).

Se han propuesto soluciones para la erradicación de virus o producción de plantas libres de virus, como la aplicación de rayos x, ultrasonido y otros (Guerrero, 1978); sin embargo, en lo que más énfasis se ha hecho es en las técnicas siguientes:

- 1.- Termoterapia
- 2.- Cultivo de meristemos

2.7.2 TERMOTERAPIA

Guerrero (1978) señala que el calor modifica la estabilidad del virus *in vitro*, provocando su desintegración. Sin conocerse estos principios, la aplicación de altas temperaturas a plantas o propágulos, ha sido utilizada desde el siglo pasado con la finalidad de lograr un control en las enfermedades (Villalobos, 1977; Quak, 1977).

Kassanis y Posnette (1961) estiman que más de la mitad de los virus que son normalmente huéspedes de las plantas hortícolas pueden ser inactivados por medio de tratamientos con altas temperaturas.

Guerrero (1978) señala que el calor seco es más utilizado que el húmedo, por causar menos daños a la plantas, siendo el rango de temperaturas utilizadas de 35 a 54°C, variando los períodos de aplicación desde algunos minutos hasta meses inclusive.

Kassanis (1950) reporta la obtención de plantas sanas de papa, aplicando la termoterapia, originalmente infestadas por el virus del enrollamiento de la hoja de la papa.

Pennazi y Radolfi (1973) encontraron que los órganos de las plantas de tabaco infestadas con virus "X" de la papa responde en forma diferente a la termoterapia. Los virus pudieron eliminarse de las hojas, no así de la base del tallo ni de la raíz. Kassanis (1965) estima que para eliminar los virus se requieren de prolongadas exposiciones a temperaturas de 37°C de las plantas infestadas. Campbell y Best (1964) consideran necesario habituar a las plantas a temperaturas altas, para lo cual propone aumentar gradualmente el tratamiento a razón de 4 a 5°C cada cuarto día.

Walkey (1978) sugiere que la síntesis del virus se detiene por las altas temperaturas, ya que el ARN compete

desventajosamente con el ARNm del huésped por un limitado número de ribosomas disponibles para la síntesis de sus respectivas proteínas. Kristensen (1970) considera que la síntesis de los virus en el interior de la planta es un proceso continuo el cual es alterado por efectos de cambio de temperatura la que al ser alta conduce a la descomposición de la proteína viral. Este autor considera también que las altas temperaturas dañan a la planta, liberando sustancias como los fenoles, los cuales interfieren en la síntesis de los virus.

Welsh y Nyland (1965) señalan que muchas yemas axilares de algunos cultivares, pierden los virus por efectos de temperatura, sugiriendo que la inactivación de ellos no es excluida del todo. Algunos investigadores reportan que tratamientos con temperaturas fluctuantes son más favorables para la sobrevivencia de la planta que cuando ésta es constante (Mellor y Fitzpatrick, 1961; Larsen, 1974). Larsen (1966) aplicó el termoperíodo por ciclos para inactivar virus en crisantemo y manzano.

Mellor y Fitzpatrick (1961) han mantenido plantas de fresa durante 3 ó 4 meses a temperaturas que iniciaron en 35 hasta 46°C al final del tratamiento. Bolton (1967) aumentó la tolerancia de fresa a altas temperaturas, tratando las raíces con soluciones de permanganato de potasio. Algunas de las variedades tratadas soportaron temperaturas hasta de 48°C las cuales estuvieron libre de virus latente y el de bandedado de las nervaduras. Posnette y Cropley (1958)

realizaron experimentos con termoterapia en fresa, reportando que temperaturas de 40°C inhibe la formación de estolones.

Kristensen (1970) establece que la termoterapia no ha resuelto el problema del todo, ya que en primer término se requiere que la planta tenga mayor tolerancia a las altas temperaturas que la partícula viral; no obstante, Kassanis (1965) enfatiza que la habilidad de los virus para infectar y multiplicarse en plantas a 36°C no está correlacionada con el punto de inactivación térmica, por ejemplo algunos virus de la papa tienen este punto a 80°C pero no pueden infectar plantas a 36°C.

Sánchez et al., (1991) produjeron plantas libres de virus, de 34 genotipo de papa infestados inicialmente por los virus S, X, Y y enrrollamiento de la hoja. Logrando esto mediante la técnica de termoterapia y quimioterapia, en forma individual y combinado. Los resultados que obtuvieron fueron altamente aceptables.

Peter (1991) obtuvo plantas libres del virus S de la papa, utilizando 6 compuestos antivirales, resultando el "ribavirin" el más efectivo

2.7.3 CULTIVO DE MERISTEMOS

Desde que se utilizó por primera vez el cultivo *in vitro* de meristemos para la obtención de plantas libres de virus en

dalia y papa (Morel, 1952; Martín, 1955), esta técnica se ha aplicado a muchas especies hortícolas, algunas veces combinadas con termoterapia.

El uso de cultivo de meristemos acoplado a la termoterapia, ha sido por muchos años un importante componente en los programas de semilla de papa (Dodds, 1988). Las técnicas para producir plantas libres de virus de patógenos no solo incrementa el rendimiento comercial, si no también facilita el intercambio de germoplasma al eliminar las infecciones virosas; además de que permite conformidad con la regulación de cuarentenas (Hewitt y Chiarappa, 1977).

Evidencias pasadas indican que en la relación virus hospedante, el virus no penetra al meristemo (Walkey, 1978). Técnicas hechas en ápices vegetativos muestran que el nivel de invasión de virus al meristemo depende del tipo de virus así como del hospedero (Mori, 1971).

Mori (1971) encontró que el virus X de la papa, se localiza en los ápices meristemáticos y señalado que para éste y otros casos similares, se pueden obtener plantas libres de virus al combinarse el cultivo de meristemos con la termoterapia.

Walkey (1978) menciona que la utilización extensiva del cultivo de meristemos para la producción de plantas libres de virus ha resultado ser la línea económicamente mas importante de todas las que incluye el cultivo de tejidos

vegetales. De igual forma, dentro del cultivo de tejidos los meristemos apicales han resultado ser el tejido mas satisfactorio para obtener material fundador por tener una rápida división celular. El uso de cultivo de meristemos normalmente se emplea para eliminar virus; sin embargo, Baker y Phillips (1962) informa su utilización para eliminar hongos y bacterias.

Mori (1971) establece que el nivel de éxito en la obtención de plantas libres de virus por cultivo de meristemos, obedece al tamaño inicial del tejido sembrado. Esto es, que el número de plantas libres de virus producidas es en general inversamente proporcional al tamaño del tejido cultivado.

Walkey (1978) sostiene que porciones pequeñas de tejidos aunque no tengan virus, a menudo presentan muchos problemas para crecer *in vitro*; tejidos de 0.12 mm. extraídos de plantas infestadas con virus X de la papa, lograron la regeneración de un 30% de plantas sin síntomas de este virus.

Kassanis y Varma (1967) señalan que en papa, el tamaño de los tejidos sembrados es muy importante, particularmente para los virus X y S de la papa. Estos investigadores extrajeron meristemos de 0.1 mm. con o sin primordios foliares y observaron que solamente 20 desarrollaron en plantas completas de las 196 incubadas; pero de estas 20 plantas, 19 fueron libres de virus. Accatino (1966)

trabajando también con papa, sembró ápices con dos primordios foliares y reporto la obtención de plantas libres de virus. Kassani y Varma (1977) observaron que la forma y tamaño de los meristemos en papa, varía de acuerdo con el cultivar, haciendo difícil descripción. Así como Mellor y Smith (1977) consideran que es muy difícil precisar el tamaño de los meristemos apicales cuando presentan mucha variación.

Suobodova et al., (citado por Walkey, 1978) hicieron ensayos en cultivo de callosidades, para obtener plantas libres del virus del mosaico del tabaco a partir de callos infestados. El principio se apoya en que el cultivo de callos pueden aparecer alguna parte de ellos libres de virus; y los tejidos originados de la multiplicación de los callos y la subsecuente formación de plantas a partir de éstos pueden dar origen a plantas sanas. Tales estudios demuestran que los virus se encuentran únicamente en un 30 ó 40% de las células que forman los callos, sugiriéndose que es debido a que la replicación del virus es menos rápida que la proliferación de células estimuladas por las citoquininas. Los mismos autores concluyen por lo tanto que la rápida proliferación celular, trae como consecuencia la eliminación de virus, teniendo implicaciones también la temperatura en condiciones *in vitro*, ya que en Nicotina rústica cultivada a 22°C se retuvieron los virus en la planta, mientras en cultivo similar cuando fue crecido a 32°C se logró su eliminación.

Stone (1963) considera que es necesario estudiar más las condiciones *in vitro* para propiciar el desarrollo de raíces en los tejidos más pequeños, que son los que están libre de virus. Señala también que al, contrario de lo que se esperaba, no se observó ninguna ventaja con la utilización de meristemos apicales para la formación de raíces. Tejidos menores a 0.2 mm. no formaron raíces y los de tamaño mayor de 0.7 mm. produjeron plantas pero con virus. En éste trabajo los ápices de 0.2 mm a 0.5 mm fueron los más indicados.

Chávez (1995) logró obtener plantas libres de virus, especialmente el PVX y PVY de la papa, por medio del cultivo de meristemos. En tanto, Anaya (1995) erradico los mismos virus en plantas de papa, infestadas inicialmente.

2.7.4 PRUEBAS SEROLOGICAS

Para la detección y el estudio de los virus han sido descritas muchas pruebas serológicas, entre las que se mencionan la microprecipitación, latex sensibilizado con anticuerpo y la técnica serológica por medio de conjugados enzimáticos (ELISA) (Salazar, 1982); con diferente variaciones como: doble anticuerpo o sandiwich (DAS-ELISA), membrana nitrocelulosa (NCM-ELISA), conjugado enzimático con penicilinas (PNC-DAS-ELISA) y la doble difusión en gel (Jayasinghe y Salazar, 1993).

Jayasinghe y Salazar (1993) mencionan las ventajas del doble anticuerpo (DAS-ELISA), siendo éstas; presenta una mayor sensibilidad que otros métodos serológicos para detectar la mayoría de los virus, incluyendo al PLRV y PVA que se encuentran en savia de plantas infestadas en baja concentración, requiere menos antisuero que otros métodos serológicos y es fácilmente adaptada a un programa de certificación de semilla, para producir resultados rápidos y confiables con la mayoría de los virus; además de que es el único método para detectar PLRV en los tubérculos o en el follaje.

Singh y Somerville (1992) utilizaron la técnica de ELISA para detectar los virus A, M, S, X, Y y del enrollamiento de la hoja (PLRV) en el follaje de la papa.

2.8 MICROPROPAGACION LA PAPA

Muchos programas de semilla de papa usan como material inicial, plántulas *in vitro* libre de patógenos. Las etapas iniciales de tales programas pueden hacer uso de diversas técnicas de micropropagación dependiendo del tamaño y localización del programa. Sin embargo los métodos básicos son muy similares en la mayoría de las instituciones dedicadas a ello, y se basan en un desarrollo rápido en los medios de cultivo líquidos ó sólidos, de esquejes nodales individuales ó tallos con múltiples nudos (Dodds,1988).

2.8.1 METODOS DE MICROPROPAGACION

Goodwin (1982) menciona que se han descrito y comparado hasta ahora varios métodos de micropropagación, para una rápida clonación *in vitro* de papa. Algunos de estos métodos se presentan enseguida.

CULTIVO DE SEGMENTOS NODALES. Este tipo de cultivo se usa principalmente para fines de una multiplicación rápida de brotes *in vitro*. Los explantes se pueden obtener a partir de brotes derivados *in vitro*, plántulas cultivadas en invernadero ó brotes de tubérculo (Li, 1985).

CULTIVO DE APICES DE TALLO. Algunos autores se refieren al cultivo de meristemos como un tipo de cultivo de ápices de tallo (Klein y Livingston, 1983). Sin embargo, Li (1985) considera el cultivo de ápices de tallo, como una porción de tallo más allá de la región ó zona meristemática subápical, los explantes son mayores ó iguales a 1 mm de longitud.

ESTRATIFICACION *IN VITRO*. Este método fue desarrollado por Wang (1977). Según Li (1985), por medio de la estratificación y subcultivos continuos de un tallo individual, se pueden producir aproximadamente 2.5^{17} plántulas en un año. De esta manera se producen anualmente grandes cantidades de brotes enraizados de varios cultivares para ser utilizados como parte del proceso de la producción de papa libre de virus.

CULTIVO MULTIMERISTEMATICO. Este método fue desarrollado por Roca, et al (1978), en donde se aceleró una rápida proliferación de yemas a partir de cortes de ápices de tallo mediante el cultivo de agitación, observándose desarrollo tanto de yemas axilares como de yemas adventicios a partir de los explantes y formación de una masa multimeristemática.

2.8.2. MEDIOS DE CULTIVO Y REGULADORES DE CRECIMIENTO

Según López (1985) y Merino, et al (1991) los medios generalmente están constituidos por los siguientes componentes.

a). Sales inorgánicas. Estos se dividen en macroelementos (N,P,K,Ca,Mg y S) y microelementos (Bo,Co,Cu,Mn,I,Fe y Zn), ambos son los Iones que las plantas requieren para efectuar en forma eficiente sus procesos metabólicos (Gamborg, et al. 1983; López, 1985). También en las sales inorgánicas, se encuentran los agentes quelatos como el $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ y FeSO_4 que son compuestos cuyas moléculas son capaces de tener un Ion de un metal con varias uniones químicas formando un anillo complejo (López, 1985).

b). Vitaminas. Son compuestos orgánicos necesarios para llevar a cabo una serie de reacciones catalíticas en el metabolismo de la planta, la cual requiere en pequeñas cantidades; Las vitaminas más usadas en el cultivo de tejidos son la tiamina, piridoxina, ácido nicotínico, ácido pantoténico y myo-inositol (López, 1985).

c). Carbohidratos. La sacarosa es la fuente de carbono más ampliamente usado, y se emplea a una concentración de 2 a 3%, sin embargo, en ciertas especies se emplean concentraciones muy elevadas (5 a 12%); en ocasiones se emplea la glucosa en cultivos de monocotiledóneas (López, 1985; Merino, et al., 1991).

d). Materiales inertes de soporte. El agar es el material de soporte más usado en el cultivo de tejidos. Cuando se utilizan medios líquidos es muy frecuente utilizar papel filtro estéril como soporte del explante (Merino et al., 1991).

e). Reguladores de crecimiento. Las dos clases de hormonas más importantes son las auxinas y las citocininas, que controlan la formación de la raíz, del tallo y el callo. En ocasiones se han usado las giberelinas para inducir el alargamiento de los tallos (Hartman y Kester, 1987). Las citocininas incluyen a BA (N⁶-benciladenina), Kinetina y zeatina, y las auxinas incluyen a NAA (ácido naftalenacético), IBA (ácido indolbutírico) y 2,4-D (2,4 diclorofenoxiacético); y son los más ampliamente utilizados en la micropropagación de los vegetales (Hartman y Kester, 1987).

Li (1985) menciona que el medio White (1943), fue el más ampliamente usado durante los primeros trabajos en la micropropagación de la papa. Desde entonces se han hecho un sin número de mejoramiento a este, en los cuales se

encuentra el aumento de los niveles de nitrógeno, fósforo y potasio, la reducción del nivel de calcio y la prevención de la precipitación del hierro al alto pH.

Entre los medios listados, el medio "MS" o sus modificaciones es el más frecuentemente usado en los trabajos de cultivo *in vitro* en papa, y comparado a otros medios de cultivo, este medio de acuerdo a muchos investigadores a mostrado ser mas consistente. (Goodwin et al., 1980)

Además, de los compuestos orgánicos presentes en el medio "MS", se necesita algún tipo de proteínas hidrolizadas (por ejemplo; el bacto-triptan ó caseína hidrolizada) para el cultivo de papa *in vitro* (Li, 1985).

Mellor y Stace-Smith (1977) mencionan que la adición del carbón activado al medio de cultivo, resulta no solo de un desarrollo más rápido si no también en un incremento en porciento de enraizamiento de los explantes. Se cree que el carbón remueve los productos metabólicos dañinos concentrados alrededor de explante en el medio sólido y este es particularmente útil para cultivares de papa que no enraízan rápidamente (Li, 1985).

Mellor y Stace-Smith (1977) y Wang y Hu (1986) determinaron los requerimientos del medio para el cultivo de meristemos y también los componentes de los medios comúnmente usados, especialmente para el cultivo *in vitro* de la papa.

Hussey y Stacey (1981) menciona que mezclas de sales de MS con 3% de sacarosa ó MS con la adición de 0.1 mg/L de ácido giberelico; son comúnmente utilizados en la micropropagación de segmentos nodales.

Según Hu y Wang (1983), dicen que en la mayoría de las especies vegetales, es necesaria la adición de citocininas en el medio para la proliferación de yemas axilares, para liberar la dominancia apical. Sin embargo, estas no parecen ser esenciales en papa (Wang, 1977 y Hussey y Stacey, 1983). La razón de que la citocininas no juegan un papel importante podría deberse a que la papa posee una dominancia apical débil y porque las raíces adventicias regeneradas; sintetizan citocininas endógenas para eliminar la dominancia apical (Li, 1983). Por otra parte Roca, et al. (1978) y Goodwin, et al. (1980a) realizaron la adición de BA y Kinetina con AG, a los medios de proliferación a base de MS, originando lo siguiente; producción de brotes múltiples, y en la base de los tallos se incharon y produjeron callos organogénicos.

A pesar de que las citocininas son necesarias en el cultivo de meristemos de muchas especies vegetales (Hu y Wang, 1983). Wang y Loo (1973) encontraron que estas no juegan un papel importante en el cultivo de meristemos de 21 variedades de papa estudiadas. Así mismo, las auxinas y giberelinas, son necesarias en ciertas; sin embargo, en el caso particular del cultivo de meristemos de papa no son esenciales (Wang y Loo, 1973).

Cassells y Long (1982) obtuvieron resultados alentadores al incluir los tres tipos de reguladores de crecimiento en el medio, de cultivares de papa. Por su parte Pennazio y Rodolfi (1973) encontraron que el enraizamiento del cultivo de meristemo de papa se incrementó de un 17 a 66% al aplicar AG al medio del cultivo.

Stallknet y Farsworth (1982) menciona que la kinetina y coumarina producen un efecto inmediato en brotes axilares extraídos de brotes de tubérculos de papa cultivados *in vitro* causando un 100% de tuberización.

Pelacho y Mingo (1991) observaron los efectos de la kinetina y fotoperiodo sobre el desarrollo del estolón y tubérculo en papa *in vitro*.

Losoya (1992) indujo diferenciación floral *in vitro* en el cultivar marijke de la papa, utilizando varias concentraciones de kinetina, GA3 y sacarosa obteniendo resultados sobresalientes en 0.3 a 3.0 mg/l de kinetina en el número de yemas florales.

2.8.3 MICROPROPAGACION EN OTROS CULTIVOS

Can y Koc (1992) realizaron investigaciones sobre la micropropagación de clavel, através de técnicas de cultivo de meristemas, en un medio MS suplementado con diferentes combinaciones de auxinas, citocininas y ácido giberelico. Logrando obtener más yemas axilares en el medio con 5.0 mg/l de BA + 1.0 mg/l de AIA.

Rogers (1993) micropropago a Haworthia retusa sobre el medio MS conteniendo 1, 2 ó 4 mg/l de kinetina o BA. Resultando las concentraciones bajas de las citocininas incrementó los brotes regenerados en un largo tiempo, las concentraciones altas produjeron más brotes pero diminutos.

Brezeanu (1991) menciona que bajos niveles de kinetina (0.5 mg/l) promueve crecimiento de callo en la vid Vitis vinifera, en tanto las altas concentraciones favorece la formación de callo.

III MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACION DEL LUGAR.

El presente trabajo de investigación fue realizado en el laboratorio de biotecnología del departamento de horticultura de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".

3.2 MATERIAL VEGETATIVO.

El material vegetativo utilizado fueron plántulas de papa multiplicadas *In vitro*, de la variedad comercial "alpha", por lo cual no se llevó a cabo una previa desinfección del mismo.

3.3 ESTERILIZACION DEL MEDIO E INSTRUMENTO.

La esterilización del medio del cultivo se realizó en autoclave, durante un tiempo de 45 min., con una presión de 1.5 Kg/cm². De la misma manera, los materiales de apoyo (pinzas, visturi, cristalería, etc.) y agua destilada se esterilizaron. Posteriormente, pudiéndose efectuar asépticamente la siembra en la campana de flujo laminar.

3.4 EXPERIMENTOS.

Se realizaron 3 experimentos, el primero consistió, en la determinación de la concentración óptima de Kinetina y BA en explantes nodales. El segundo, se refirió a explantes nodales que contenían 1, 2 y 3 yemas axilares. El último experimento consistió en el establecimiento de 3 densidades de siembra diferentes.

3.4.1 EXPERIMENTO UNO.

Este experimento se realizó de la siguiente manera: Segmentos de tallo conteniendo una yema axilar y removida la hoja, fueron disectadas de plántulas cultivadas *In vitro*, colocadas en frascos gerber que contenían 20 ml de medio MS (Murashig y Skoog, 1962), suplementado con Kinetina y BA a 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ó 2.0 mg/l + 0.2 mg/l de IBA + 0.1 mg/l de GA3. Se sembraron 4 explantes por frasco, contándose con diez frascos (repeticiones) por tratamiento.

3.4.2 EXPERIMENTO DOS

Explantes nodales que contenían 1, 2 y 3 yemas axilares y la hoja removida, fueron disectadas de plántulas cultivadas *In vitro*, y sembradas en frascos gerber con 20 ml de medio MS, que contenía 0.5 mg/l de Kinetina + 0.2 mg/l de IBA + 0.1 mg/l de GA3. Se plantaron cuatro explantes por frasco, con diez repeticiones por tratamiento.

3.4.3 EXPERIMENTO TRES

Explantes nodales que contenían una sola yema axilar y la hoja removida, fueron extraídas de plántulas multiplicadas *In vitro*, y plantadas a densidades de siembra de 4, 8 y 12 explantes, en frascos con 20 ml de medio MS, que contenía 0.5 mg/l de kinetina + 0.2 mg/l de IBA + 0.1 mg/l de GA3. Contándose con diez frascos por tratamiento.

3.5 CONDICIONES DE CULTIVO

En los tres experimentos los explantes se encubaron a una temperatura de 25°/18°C (día/noche) y con un fotoperíodo de 16 horas luz.

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el experimento uno se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 X 5 en diez repeticiones; donde el factor A son los reguladores de crecimiento (kinetina y BA) y el factor B son las concentraciones (0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l), cuyo modelo fué siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + C_j + RC_{ij} + E_{ijk}$$

con:

$i = 1, 2$ reguladores

$j = 1, 2, 3, 4, 5$ concentraciones

$k = 1, 2, 3, 4, 5 \dots 10$ repeticiones

Donde:

Y_{ijk} = Variable aleatoria observable del i -ésimo regulador con la j -ésima concentración y la k -ésima repetición

μ = Media general

R_i = Efecto del i -ésimo regulador

C_j = Efecto de la j -ésima concentración

RC_{ij} = Efecto de la interacción del i -ésimo regulador y la j -ésima concentración.

E_{ijk} = Error experimental

En el experimento dos y tres se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos; donde los tratamientos para el experimento dos fueron, 1, 2 y 3 nudos por explante, y para el experimento tres fueron 4, 8 y 12 densidades de siembra. Ambos experimentos con diez repeticiones, cuyo modelo fué;

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Con: $i = 1, 2, 3$ tratamientos

$j = 1, 2, 3 \dots 10$ repeticiones

Donde:

Y_{ij} = Variable aleatoria observable del
i-ésimo tratamiento y la j-ésima repetición

μ = Media general

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

E_{ij} = Error experimental

Además se utilizaron polinomios ortogonales debido a que los niveles de uno de los factores fué cuantitativo. También se hizo uso de pruebas de medias por el método de Tukey y diferencia mínima significativa (DMS).

3.7 PARAMETROS EVALUADOS

La evaluación se realizó treinta días después de la siembra, en los tres experimentos, evaluandose los siguientes parámetros.

- 1.- Por ciento de explantes con raíces.
- 2.- Por ciento de explantes con tallo.
- 3.- Longitud de tallos, expresado en mm.
- 4.- Numero de nudos en tallos.

5.- Numero de tallos por frasco.

El quinto parámetro, fue utilizado exclusivamente para el segundo y el tercer experimento.

IV RESULTADOS Y DISCUSION

EXPERIMENTO UNO

En este experimento se encontró que el porciento de explantes con tallos (figura 1) fue de 85, 80, 80, 83 y 78% cuando se utilizaron 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ó 2.0 mg/l de Kinetina respectivamente. En el caso del BA fue de 73, 78, 68, 58 y 48% cuando se utilizaron las concentraciones anteriores, respectivamente. Se observa que con 0.5 mg/l de BA, se obtuvo el más alto porcentaje de explantes con tallos, pero no superó a la Kinetina a todas las concentraciones; sin embargo, el testigo de este indujo el más alto porciento, y al hacer un análisis de varianza y pruebas de medias (apéndice; tabla 1 y 1a) se encontró diferencia significativa entre kinetina y BA y en las concentraciones, siendo superior la primera que la segunda.

El porciento de explantes con raíces (figura 2) fue de 65, 98, 85, 58 y 43% con 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ó 2.0 mg/l de Kinetina, respectivamente. Para BA fue de 55, 48, 25, 23 y 18%, cuando se utilizaron las mismas concentraciones. Con 0.5 mg de Kinetina se tubo el más alto porcentaje que los demás tratamientos, en cambio el testigo del BA supero a los tratamientos de esta. No obstante, al comparar la kinetina con el BA se encontró que son diferentes estadísticamente con un 99% de confianza al hacer un análisis de varianza y prueba de medias (apéndice; tabla 2 y 2a).

% explantes con tallos

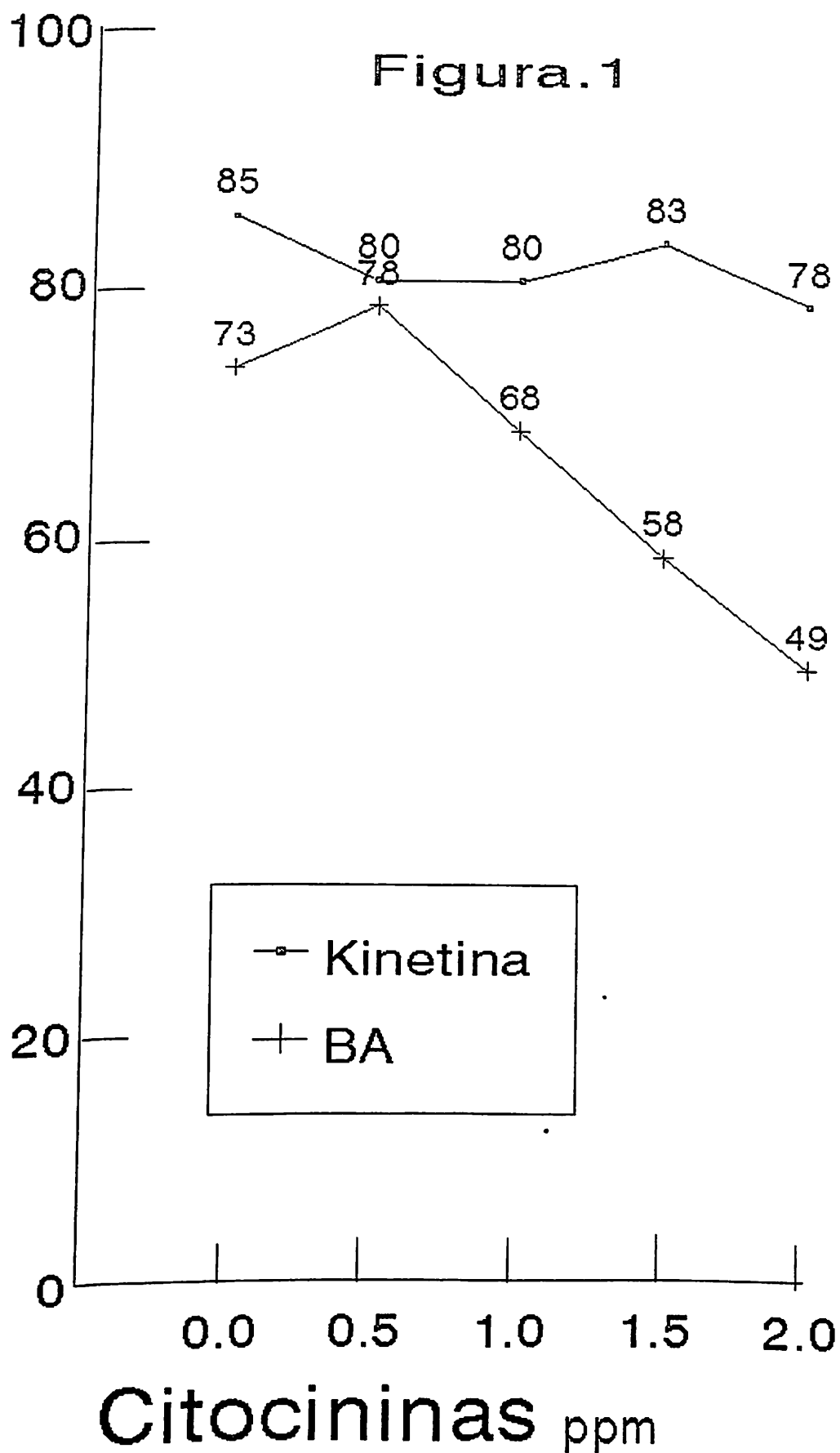
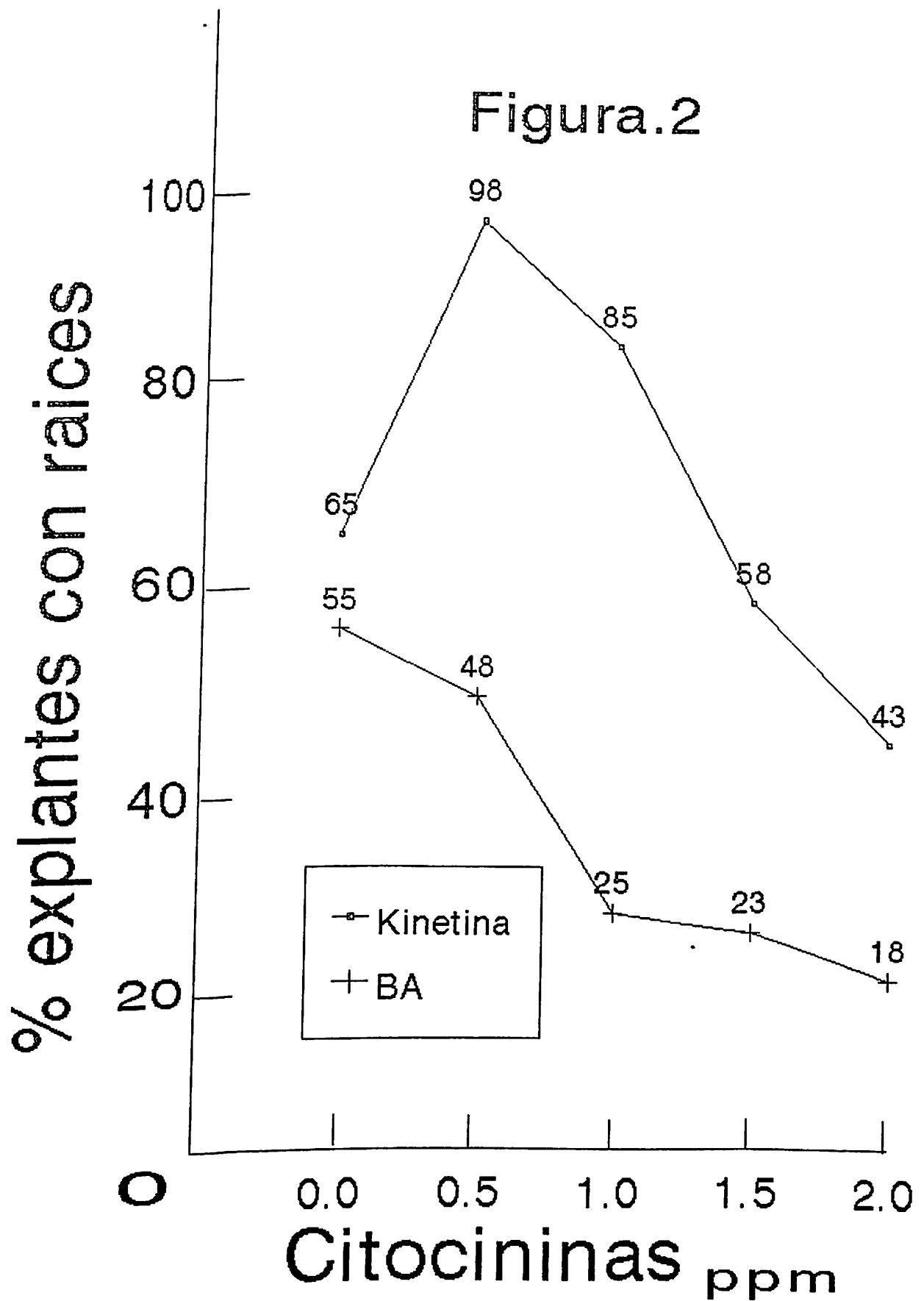


Figura.2

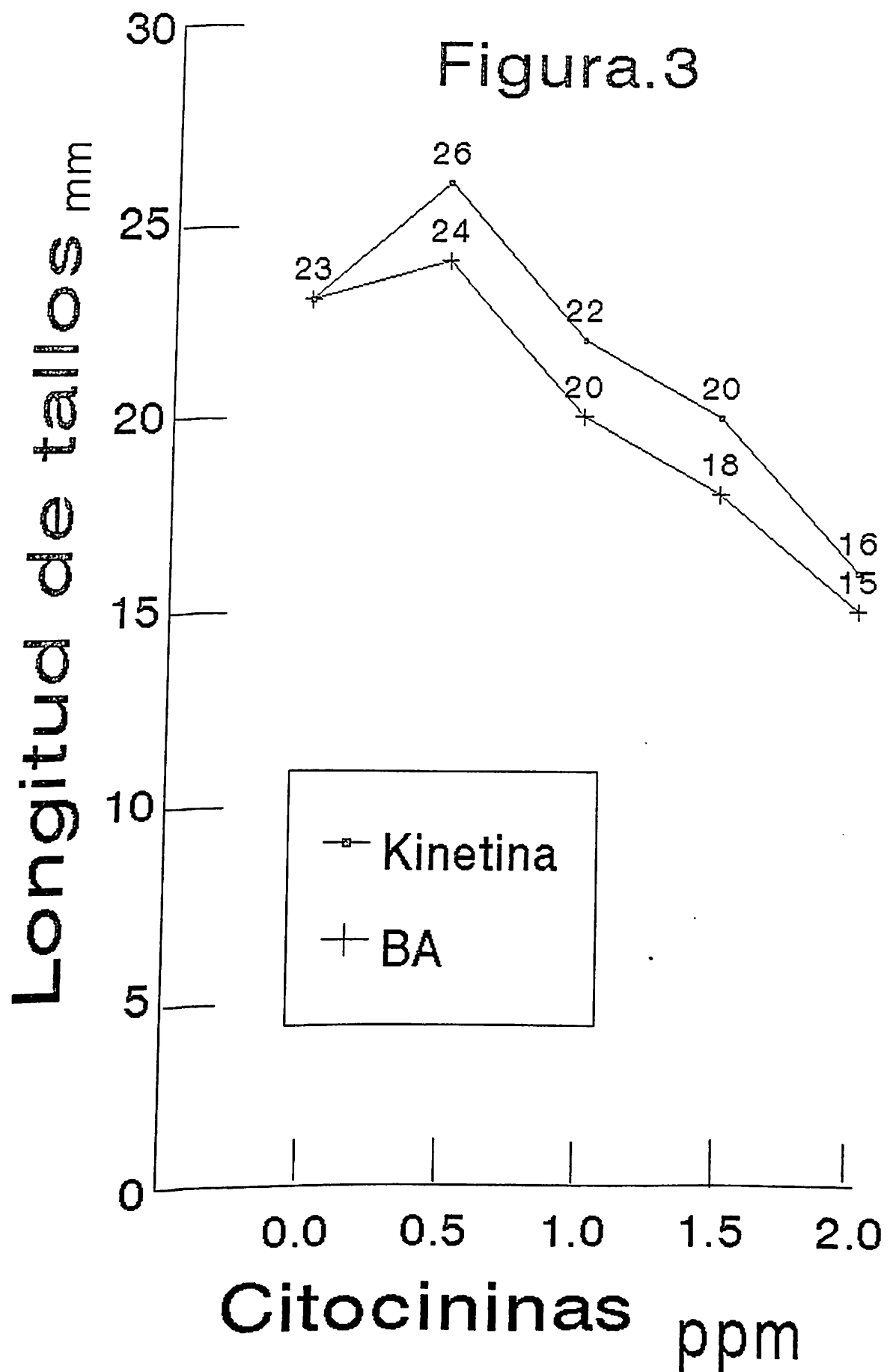


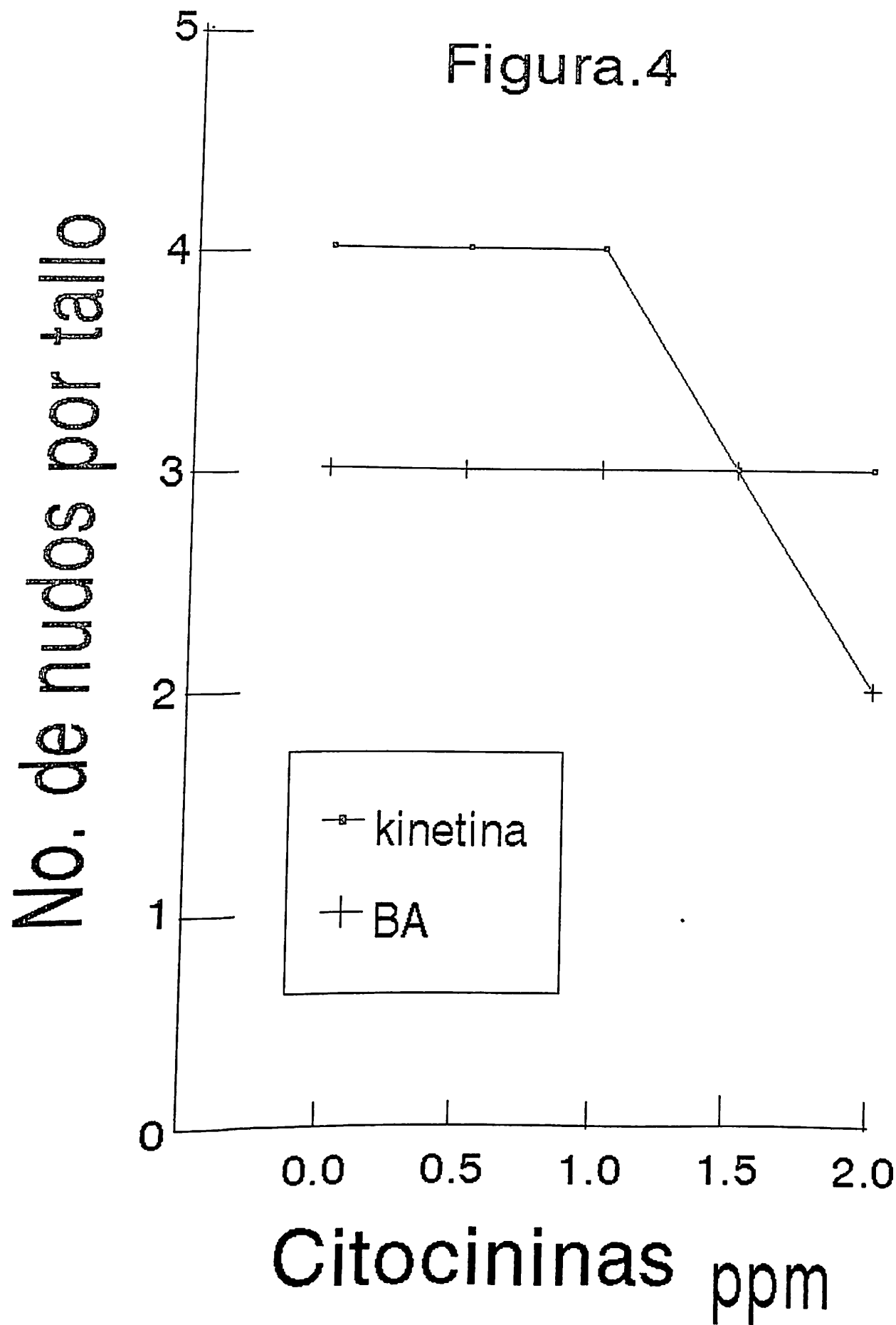
En lo que respecta a la longitud de tallos (figura 3) esta fue de 23, 26, 22, 20 y 16 mm. cuando se utilizaron las concentraciones de kinetina respectivas del experimento. Con BA se encontró 23, 24, 20, 18 y 16 mm. con las mismas concentraciones. Ambas citocininas superaron al testigo, especialmente en 0.5 mg/l, dando mejor respuesta la Kinetina que el BA. Sin embargo, no hubo diferencia estadística (apéndice; tabla 3) entre las dos citocininas, pero se encontró diferencia entre tratamientos (apéndice; tabla 3a).

El número de nudos en tallos (figura 4) fue de 4, 4, 4, 3 y 2, cuando se utilizaron 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ó 2.0 mg/l de Kinetina. Con BA fue de 3 para el testigo y los demás tratamientos. Encontrándose diferencia significativa (apéndice; tabla 4, 4a y 4b) entre kinetina y BA y entre tratamientos, siendo superior kinetina que BA.

Es claro que el porcentaje de explantes con tallos, la longitud de tallos, el número de nudos en tallos y el porcentaje de explantes con raíces fue estadísticamente superior con Kinetina que con BA, en todas las concentraciones probadas; pero en general las mejores respuestas fueron observadas con 0.5 mg/l de ambas citocininas, aclarando que el testigo, donde no se utilizaron citocininas, se observaron también buenas respuestas seguido del mejor tratamiento de kinetina y BA.

Al hacer un análisis de varianza para polinomios ortogonales (apéndice; tabla 1d, 2d, 3c y 4d) en las cuatro variables de





respuesta, se encontró significancia con tendencia lineal decreciente, es decir a medida que se incrementa las concentraciones de las citocininas, desciende el porcentaje de raíces y tallos, longitud de tallos y numero de nudos.

Una de las razones por el que las concentraciones superiores a 0.5 mg/L de kinetina y BA , fueron inhibitorias para el desarrollo rápido de los segmentos nodales, es de que altas concentraciones de citocininas tienden a inhibir la brotación de yemas axilares y la formación de raíces adventicias; es por ello que la concentración más baja (0.5 mg/L) de ambas citocininas, dieron las mejores respuestas.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Roca et al. (1978), Goodwin et al. (1980a), Stallknecht y Fansworth (1982) y Losoya (1992), en cuanto a que la micropropagación de la papa *in vitro* se puede realizar con la presencia de citocininas en el medio de cultivo. Sin embargo, en la ausencia de las citocininas se tiene también proliferación de explantes nodales de papa, como se observo en el testigo.

EXPERIMENTOS DOS Y TRES

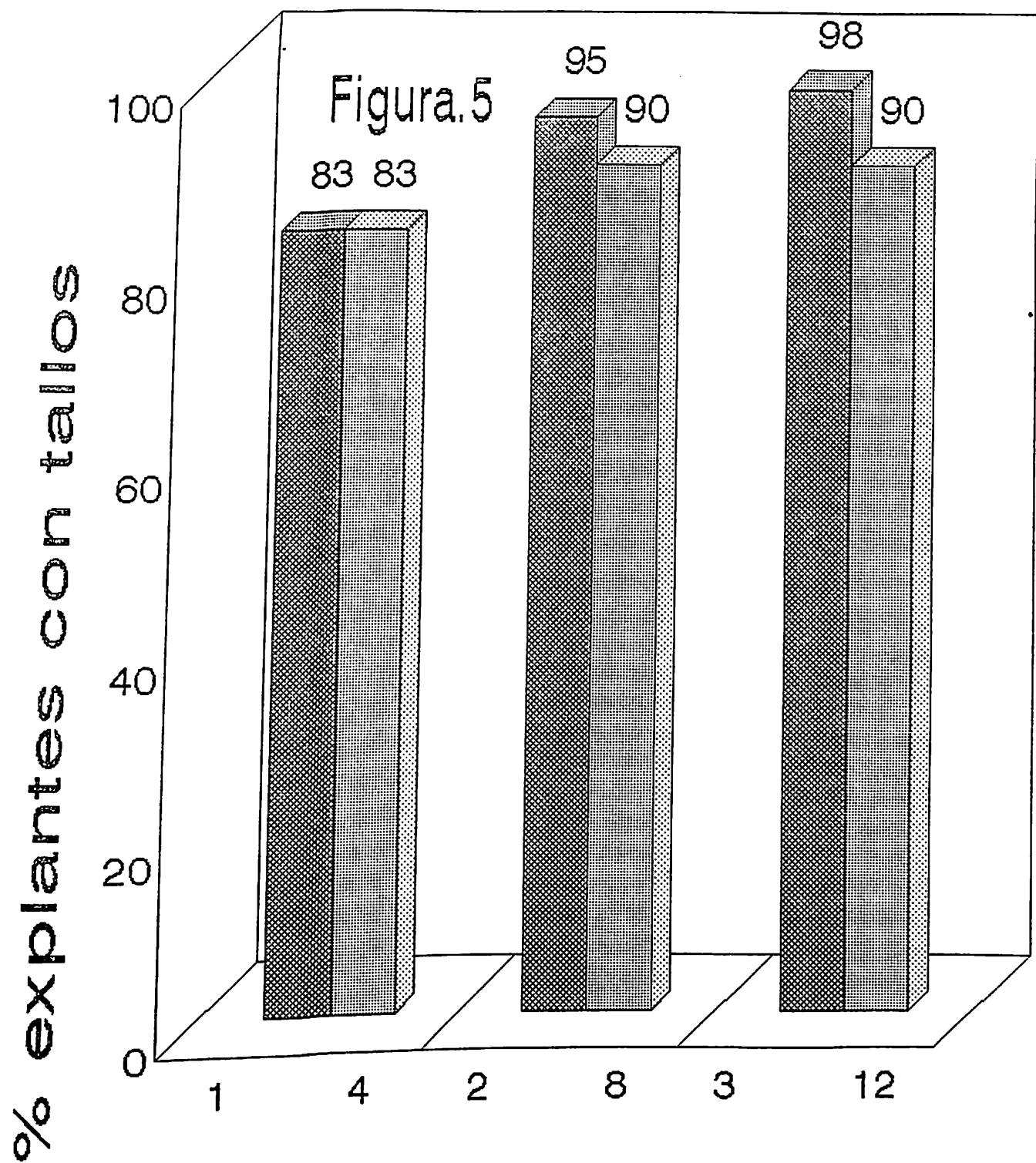
Se encontró que el porciento de explantes con tallos (figura 5) aumento de 83 a 95 y 98% al incrementarse el número de nudos en explantes de 1, 2 y 3, respectivamente; y aumento de 83 a 90 y 90% cuando se utilizaron densidades de 4, 8 y 12 explantes por frasco, respectivamente. Se presentó diferencia significativa (apéndice; tabla 5 y 5a) entre 1, 2 y 3 nudos por explante.

El porciento de explantes con raíces (figura 6) fue de 93, 95 y 98% con 1, 2 y 3 nudos por explante, respectivamente; y de 93, 93 y 96% con 4, 8 y 12 explantes por frasco, respectivamente. En ambos casos no se encontró diferencia estadística entre tratamientos.

La longitud de tallos (figura 7) fue de 23, 23 y 24 mm. con 1, 2 y 3 nudos por explante, respectivamente; y de 23, 25 y 30 mm., al incrementarse las densidades de 4 a 8 y 12, respectivamente. Se presentó diferencia significativa (apéndice; tabla 7 y 7a) entre las densidades.

El número de nudos por tallo (figura 8) fue de 4 en los tres tipos de explante; y fue de 4, 5 y 5 con 4, 8 y 12 explantes por frasco, respectivamente. En ambos casos no se presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos.

El número de tallos por frasco (figura 9) fue de 3, 4 y 4 cuando se utilizaron 1, 2 y 3 nudos por explante, respectivamente; y el número de tallos se incremento de 3 a



■ Nudos por explante

■ Explantes por frasco

Figura.6

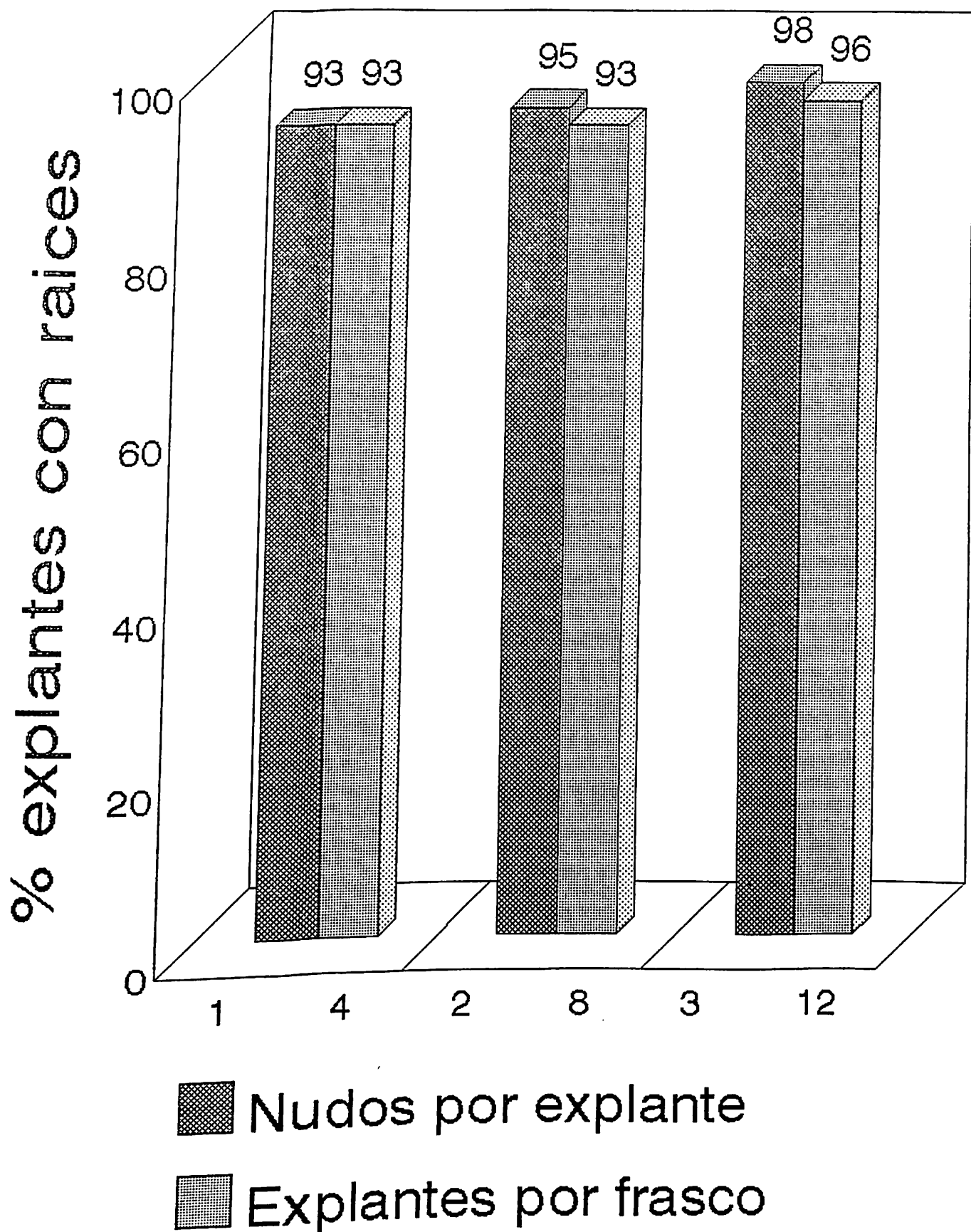
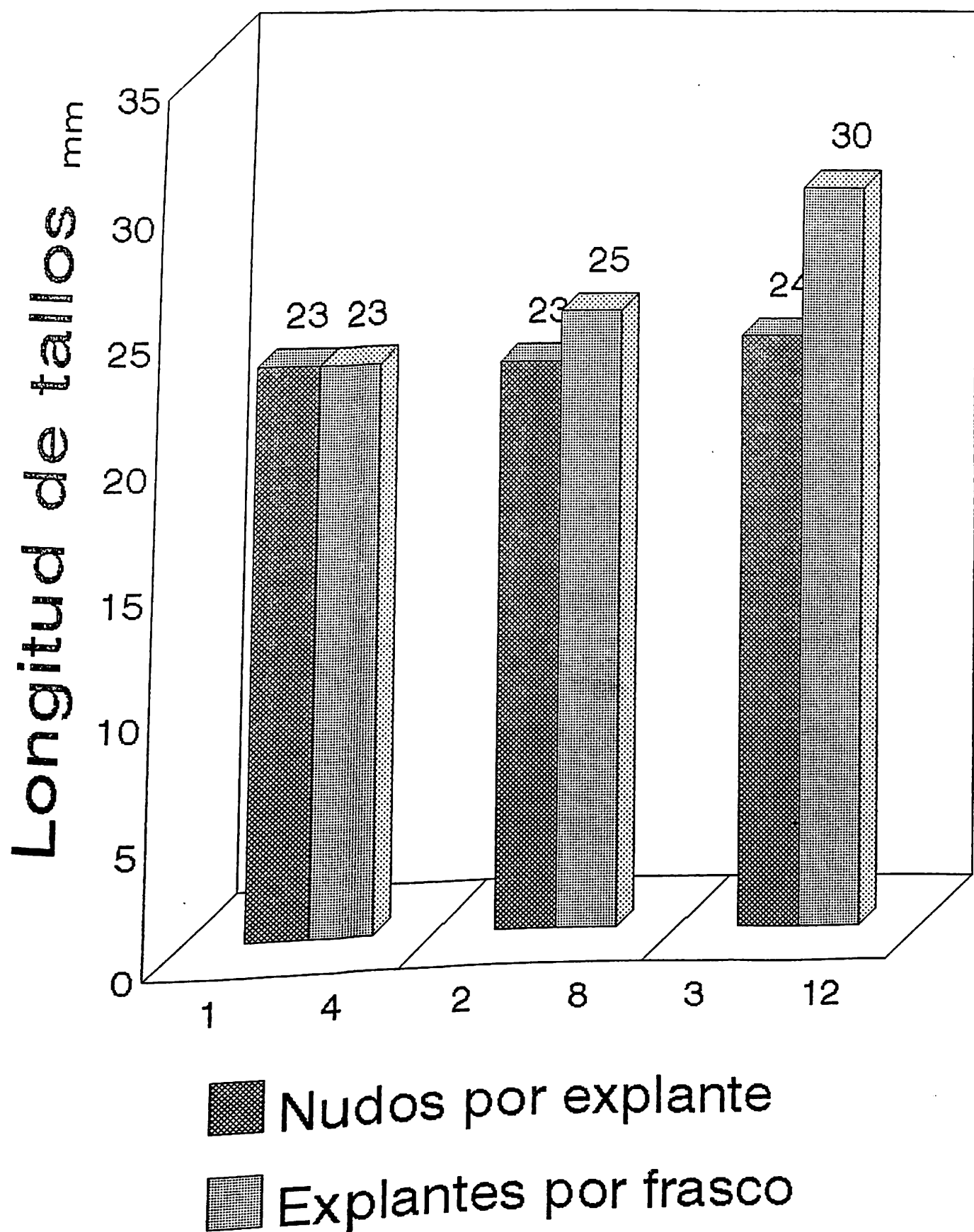
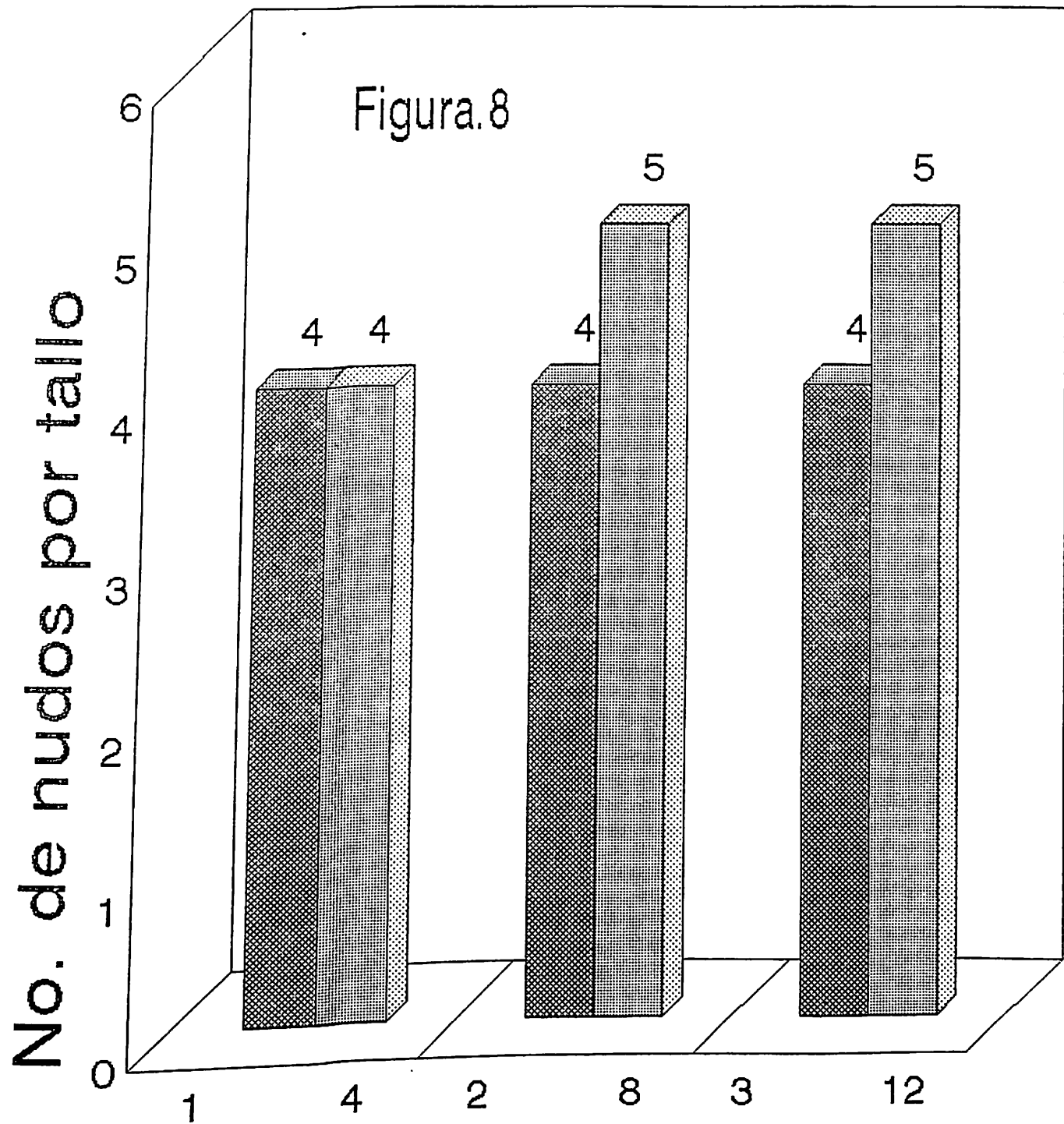


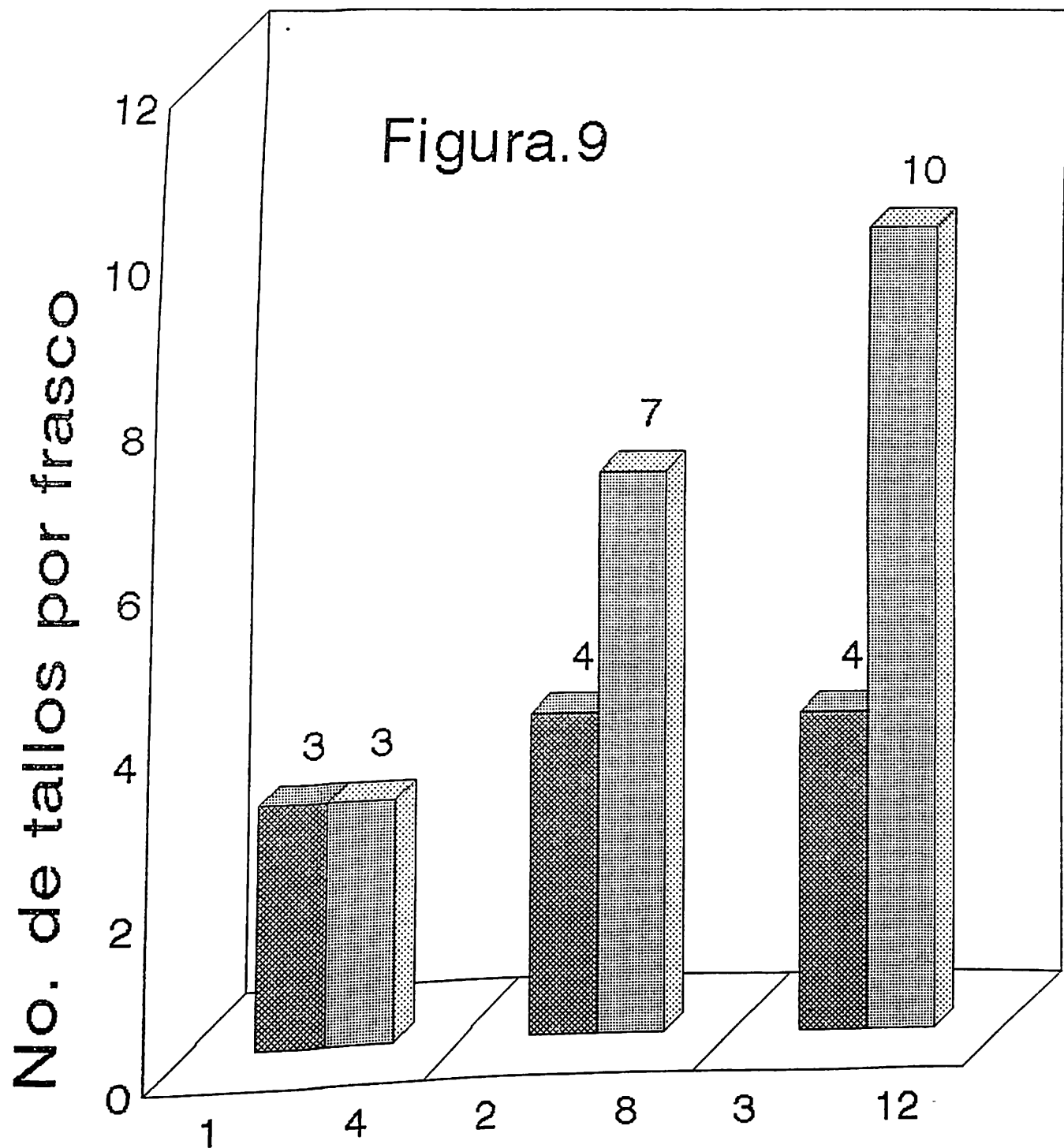
Figura.7





■ Nudos por explante

■ Explantes por frasco



■ Nudos por explante

■ Explantes por frasco

7 y 10 con 4, 8 y 12 explantes por frasco, respectivamente. En ambos casos se encontró diferencia significativa (apéndice; tabla 6, 6a, 8 y 8a) entre tratamientos.

En las variables que se encontró diferencias significativa; porcentaje de explantes con tallo (del segundo experimento), longitud de tallos (del tercer experimento) y el número de tallos por frasco (del segundo y tercer experimento), se hicieron análisis de varianza para polinomios ortogonales (apéndice; tabla 5c, 6c, 7c y 8c), en donde se encontró significancia con tendencia lineal creciente en las variables de respuesta antes mencionadas, es decir al incrementarse los nudos o densidades de explante, ascendió la longitud, porcentaje de tallos y número de tallos por frasco.

Es evidente que los tres tratamientos del segundo y tercer experimento son equiparables, ya que en ambos casos se tienen 4, 8 y 12 yemas axilares por frasco; aunque en el primer caso hay menos cortes ó tejido dañado, pero pudiera presentarse una mayor dominancia apical que afectara la brotación de las yemas axilares. Lo cual así fue, ya que como se observa en la figura 9, los explantes con 2 y 3 nudos solamente brotó una yema axilar, por lo que el número de tallos por frasco fue mayor con 8 y 12 explantes (de un nudo) por frasco.

V CONCLUSIONES

En base a los resultados del presente trabajo de investigación, se llegaron a las siguientes conclusiones:

En la micropropagación de la papa, por medio de segmentos nodales, es conveniente utilizar el medio "MS" suplementado con Kinetina y no con BA, ya que con la primera se obtienen plántulas *in vitro* de buenas características para la producción de tubérculo-semilla, especialmente a una concentración de 0.5 mg/L. Además, utilizando densidades de siembra de 8 a 12 explantes con una sola yema axilar por frasco, se obtendrían más plántulas en un corto tiempo y en un reducido espacio.

VI. LITERATURA CITADA

- Accatino, P. 1966. Para Corahila libre de virus mediante cultivo de meristemos. Agric. Tech. (Santiago) 26: 34-39.
- Anaya, V.V. 1995. Efecto de la intensidad luminica y medios de cultivo en la en la obtención *in vitro* de plantas libres de virus de tres genotipos de papa (Solanum tuberosum L.). Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.
- Báez, M. 1983. La papa (*Solanum tuberosum* L.). Monografía. U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coah. México.
- Baker, R. and D.J. Phillips. 1962. Obteining pathogen-free stock by shoot tip culture. Phytopathology 52: 1242-1244.
- Bolton, A.T. 1967. The inactivation of vein banding and latent viruses in strawberries by heat treatment. Can. J. Plant Sci. 47: 375-380.
- Brezeanu, A. 1991. Ultrastructural peculiarities of the plastidial system in Vitis vinifera L. cell from callus culture. Revue Roumaine de Biologie. 36(1-2):45-48.
- Campbell, A.I., and M.W. Best. 1954. The effect of heat therapy of several apple viroses. Ann. Rep. Agr. Hort. Res. Sta. long Ashton, England 63:63-70.
- Can, C. and N.K. Koc. 1992. Investigation on in *in vitro* micropropagation of carnation (Dianthus sp.) through meristem culture tecchniques. Doga Turk Tarim ve Ormancilik Drgisi. 16(3):641-648.

- Cassalls, A.C. and R.D. Long. 1982. The elimination of potato viruses X y S and M in meristem and explant cultures of potato in the presence of vrazole. *Potato Res.* 25:165-173.
- Chávez, T.V.H. 1995. Erradicación de agentes virales de genotipos de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Caah.
- Christiansen, G.J. 1980d. Métodos prácticos de producción de semilla mejorada de papa. Memorias del primer curso de tecnología del cultivo de papa. SRN-PRECODEPA. La Esperanza, Intibuca, Honduras. p.72-80.
- Cronquist, A. 1977. Introducción a la Botánica. 2a. ed. IEM. México, D.F. p. 412-492.
- Colemans, W.K. 1983. An evaluation of bromoethane for breakino tuber dormancy is *Solanum tuberosum* L. *Am. Pot. J. Maine* 60(3): 161- 167.
- Conrad, P.L. 1991. Potato virus s-free plants obtained using antiviral compounds and nodal segment culture of potato. *Am. Potato J.* 68:507-513.
- Delgado S.S. y M.H. Cadena. 1968. Efecto del virus X de la papa en el rendimiento de la variedad atzimba. *Agricultura Técnica en México.* 2(9):391-393.
- Dodds, J.H. 1988. Tissue culture technology practical application of sophisticated methods. *Am. Potato J.* 65:167-180
- Earle, E.D. and R.W. Langhans. 1975. Carnation propagation from shoot tips cultured in liquid medium. *Hort. Science.* 10:608-610.

- Edmond, J.B. 1989. Principios de Horticultura. 5a. ed. Ed. Continental. México-España.
- Fernández, B.J. 1976. La producción y certificación de semilla de papa en México. Folleto SNICS-SAG. México. 50p.
- Gamborg, R. 1983. Nutrition media and characteriste af plantcell and tissue culture. International plant research institute. San Carlos California
- García, T.E. y E. Vela. 1987. Incidencia de enfermedades virosas y fungosas en diferentes variedades de papa (Solanum tuberosum L.) de nueva introducción en Cuba. Cienc. Tec. Agric. 10(1):93-100.
- García, T.E., Y.M.T. Curbelo Y C.A. Isyplenkov. 1978. Incidencia y distribución de las enfermedades virosas en el cultivo de papa durante la camapaña de 1976-1977. Cienc. Tec. Agric. 1(3):13-20.
- Goodwin, P.B., Y.C. Kim and T. Adisarwanto. 1980a. Propagation of potato by shoot-tip culture, 1. shoot multiplication. Potato Res. 23:9-18.
- Goodwin, P.B. 1982. Methods for the rapid propagation of potato. In Potato Production in the Humid Tropics (L. J. Hormsworth, J.T. Awoodford, and M. E. Marvel, eds). p.181-196. International Potato Center, for East and Southeast Asia Regional officce, los Baños, Laguna, Plilippines.
- Guerrero, G.A. 1981. Cultivos Herbáceos Extensivos. 2a ed. Review amp.

- Guerrero, N.J. 1978. Búsqueda de recursos para mejorar la eficiencia de técnicas para erradicar virus en materiales vegetativos. Tesis de Maestría, Rama de Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Harris, P.M. 1978. The Potato Crop. John Wiley and Sons IMC: New York, (U.S.A.).
- Hartman, H.T. y D.E. Kester. 1987. Propagación de Plantas. Editorial Continental S.A. de C.V. México, D.F.
- Hewitt, W.B. and L. Chiarappa. 1977. Plant Healhand Quarantine in International Transfer of Genetic Resources. IBPG. CRC Press Inc.
- Hooker. 1980. Compendio de Enfermedades de la Papa. CIAP. Lima, Perú.
- Hussey, G. and N.J. Stacey. 1981. *in vitro* propagation of potato (Solanum tuberosum L.). Ann. Bot. 48:787-796.
- Hu, C.Y. and P.J. Wang. 1983. Meristen, shoot tip and bud culture. In "Hanabook of Plant Cell Culture". 1(5):177-227. Mecnillan, New York
- INIA. 1982. Ciclos de los Cultivos Agrícolas. 1a. ed. SARH. México, D.F.
- Jayasinghe, U.L. y F. Salazar. 1993. Manual de Técnica en Virología de Plantas. Sasículos. CIP. Lima, Perú.
- Kassanis, B. 1965. Therapy of virus-infected plants. J.R. Agric. Soc. England 126: 105-114.
- Kassanis, B. and A.F. Postnette. 1961. Thermotherapy of virus-infected plants. Recent Adv. Bot. I. Int. Bot. Congr. Montreal. 557-567.

- Kassanis, B. and A. Varma. 1977. The production of virus-free clones of some british potato varieties. *Ann. Appl. Biol.* 59:449-450.
- Klein, R.E. and C.H. Livingston. 1983a. Effect of Benomyl on shoot-tip culture from PVX and PVS-infested potatoes. *Am. Potato J.* 60:469-473.
- Klein, R.E. and C.H. Livingston. 1983b. Eradication of potato viruse X and S from potato shoot-tip cultures with ribavirin. *Phytopathology.* 73:1049-1050.
- Kristensen, H.R. 1970. The distribution and economica importance of plant diseases. Proceedings of the 18 the international Horticultural Congress. Vol 3. Tel. aviv.
- Langhans, R. and Hort, K. 1977. Disease-free plants via tissue culture propagation, *Hort. sci.* Vol. 12(2): 25-26.
- Larsen, E.C. 1966. Daily temperature - cycles in heat inactivation of viruses in chrysanthemum and apple. *Proc. 17 th Int. Hort. Congress I. East Lansing, Mich.* No. 104.
- Larsen, E.C. 1974. heat inactivation of viruses in apple CL MM 109 by use of daily temperature cucles. *Tidsskr. Planteaul* 78: 422- 428.
- Li, P.H. 1985. *Potato Physiology.* Academic Press, Inc. USA. 586 p.
- López, C. 1985. Medios de cultivo. Funadamento teoricos prácticos de cultivo de tejidos vegetales. Colegio de postgraduados. Texcoco, México.

- Losoya, S.H. 1992. Photoperiod, gibberellic acid and kinetin in potato flower differentiation *in vitro*. *Am Potato J.* 69:265-275.
- Mélendez, G.Q. y M. Quevedo B. 1980. Técnicas de multiplicación rápida. Memorias del curso de producción de semilla. INPAPA- IBTA- COTESUMACA. Cochabamba, Bolivia. p. 1-5.
- Mellor, F.C. and R.E. Fitzpatrick. 1961. Strawberry viruses. *Can. Plant Dis. Surv.* 41: 218-255.
- Mellor, F. C. and R. Stace-Smith. 1977. Virus-free potatoes by tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. J. Reinart and P. S. Bajaj. Springer Verlag, Berlin. 616-635.
- Merino H. 1991. Cultivo de Tejidos Vegetales. 2a. ed. Edi. Trillas. México, D.F..
- Morel, G. and C. Martín. 1952. Guérison de déhlias atteints d'une maladie a virus. *Compt. Rend.* 235:1324-1325.
- Morel, G. and C. Martín. 1955. Guérison de pommes de terre atteints de maladies a virus. *Compt. Rend.* 41:472-474.
- Mori, K. 1971. Production of virus-free plants by means of meristem culture. *Japan Agric. Res. Quart.* 6:1-7.
- Narro, E. 1980. Efecto de mejoradores de suelo sobre el rendimiento del cultivo de papa. Reunión sobre investigación y análisis de la problemática de la papa. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. Méx.

- Losoya, S.H. 1992. Photoperiod, gibberellic acid and kinetin in potato flower differentiation *in vitro*. *Am Potato J.* 69:265-275.
- Mélendez, G.Q. y M. Quevedo B. 1980. Técnicas de multiplicación rápida. Memorias del curso de producción de semilla. INPAPA- IBTA- COTESUMACA. Cochabamba, Bolovia. p. 1-5.
- Mellor, F.C. and R.E. Fitzpatrick. 1961. Strawberry viruses. *Can. Plant.Dis. Surv.* 41: 218-255.
- Mellor, F. C. and R. Stace-Smith. 1977. Virus-free potatoes by tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. J. Reinart and P. S. Bajaj. Springer Verlag, Berlin. 616-635.
- Merino H. 1991. Cultivo de Tejidos Vegetales. 2a. ed. Edi. Trillas. México, D.F..
- Morel, G. and C. Martín. 1952. Guérison de déhlias atteints d'une maladie a virus. *Compt. Rend.* 235:1324-1325.
- Morel, G. and C. Martín. 1955. Guérison de pommes de terre atteints de maladies a virus. *Compt. Rend.* 41:472-474.
- Mori, K. 1971. Production of virus-free plants by means of meristem culture. *Japan Agric. Res. Quart.* 6:1-7.
- Narro, E. 1980. Efecto de mejoradores de suelo sobre el rendimiento del cultivo de papa. Reunión sobre investigación y análisis de la problemática de la papa. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.Méx.

- Pelacho, A.M. and A.M. Mingo-Castel. 1991. Effects of photoperiod on kinetin induced tuberization of isolated potato stolons cultured *in vitro*. *Am. Potato J.* 68:533-541.
- Pennazio, S. and P. Redolfi. 1973. Factors affectine the culture *in vitro* of potato meristem tips. *Potato Res.* 16:20-29.
- Posmette, A.F. and R. Cropley. 1958. Heat treatment for the inactivation of strawberry viruses. *J. Host. Sci.* 33:282-288.
- Quak, F. 1977. Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Ed. by J. Reinert and Y. P. S. Bajaj Springer-Verlag Berlin. 598-615.
- Ramírez, Z.R. 1989. Identificación y análisis de los factores que limitan la producción y conservación del tubérculo-semilla de papa, variedad alpha en zonas del Norte Centro de México. Tesis, UAAAN. Saltillo, Coah.
- Ramos, P. 1991. Diagnóstico sobre el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en el área de influencia de la UAAAN. Tesis. Saltillo, Coah.
- Roca, W.M., N.O. Espinosa, M.R. y J.E. Bryan. 1978. A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. *Am. Potato J.* 55:691-701.
- Rojas, G. M. 1976. Fisiología Vegetal Aplicada. Libro Mc. Graw Hill. 581 Ip. p.285.

- Rojas, S.J.G. 1977. Efecto del tamaño y número de brotes del tubérculo-semilla en el rendimiento y otros caracteres de la papa (Solanum tuberosum L.), Colegio Chapingo. México.
- Rogers, S.M.D. 1993. Optimization of plant regeneration and rooting from leaf explants of five rare Haworthia. *Sciencia Horticulturae*. 56(2):157-161.
- Romero, G.R.L. 1972. Semilla certificada de papa estudio comparativo entre zonas de León Gto. y Zamora Mich. y análisis del grado de compatibilidad mexicana en Alac. Monterrey N.L..Tesis.
- Salazar, F. L. 1982. Enfermedades virosas de la papa. CIP. Lima, Perú. p. 111.
- Sánchez, G.E., et al. 1991. Response of selected *Solanum* species to eradication therapy. *Am. Potato J.* 68:299-315.
- SARH. 1983. Econotecnia agrícola. Producción y comercialización del cultivo de papa. Vol.7 No.3. Edi.DGEA. México, D.F.
- SARH. 1994. Cultivos de hortalizas y ornamentales. Boletín técnico informativo No. 5 INIFAP. México, D.F.
- SEP. 1987. Papas. Manual técnico. 1a. Ed. Ed.Trillas. México.
- Singh, R.P. and T.H. Somerville. 1992. Evaluation of the enzyme-amplified elisa for the detection of potato viruses A, M, S, X, Y and leafroll. *Am Potato J.* 69:21-26.

- SOMEFI.1994. La papa un recurso andino. Memorias de XV Congreso Latinoamericano de Fitogenética. Cd. Marin, N.L., México. p. 245-247.
- Stallknecht, G.A. and S. Fornsworth. 1982. The effect of the inhibitors of protein and nucleic acid synthesis on the coumarin induced tuberization and growth of excised axillary shoots of potato sprouts (Solanum tuberosum L.) cultured *in vitro*. Am. Potato J. 59:69-75.
- Stone, O.M. 1963. Factors affecting the growth of carnation plants from shoot apices. Ann. Appl. Biol. 52:199-209.
- Villalobos, V.M. 1977. Cultivo meristemático de *Fragaria* spp *in vitro*. Tesis Profesional. Esc. Nal. de Agricultura. Chapingo, México.
- Villalobos, V.M. 1980. Plantas libres de virus. Ciencia y Desarrollo. CONACYT. México. 6:33-49
- Villarreal, G.M.J. 1985. Métodos de producción y selección de papas, para semilla. Memorias del curso Internacional sobre tecnología de producción de papa. INIFAP - PRECODEPA. Toluca, México. p. 1-5
- Villarreal, G.M.J. 1987. Producción de tubérculo-semilla comercial de papa en México. Seminario sobre la producción de tubérculo-semilla comercial de papa. PRECODEPA-CIP. Lima, Perú. p. 8-15.
- Walkey, D.G.A. 1978. *in vitro* methods for virus elimination. Frontiers Plant tissue culture. Ed. Trevor A. Thorpe.
- Wang, P.J. 1977. Regeneration of virus-free potato from tissue culture. In "Plant Tissue Culture and Its Biotechnological application" (W. Barz, E. Reinhard and M.H. Zenk eds.). 391 p.

- Wang, P.J. and C.Y. Hu. 1980. Regeneration of virus-free plants through *in vitro* culture. *Hdv. Biochem. Eng.* 18:61-99.
- Wang, P.J. and Y.C. Loo. 1973. Elimination of potato viruses by means of shoot tip culture. *Chin. Biosci.* 2:19-24.
- Welsh, M.F. and G. Nyland. 1965. Elimination and separation of viruses in apple clones by exposure to dry heat. *Can. J. Plant. Sci.* 45:443-454.
- White, P.R. 1943. "A Handbook of plant tissue culture". Jaques Cattell Press, Lancaster, Pennsylvania.
- Wright, N.S. 1983. Uniformity among virus-free clones of ten potato cultivars. *Am. Potato J.* 40:381-388.

VII. APENDICE

EXPERIMENTO UNO

TABLA 1. Analisis de varianza para la variable de respuesta;porciento de explantes con tallo (datos transformado en Ln (x)).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	3.460205	3.460205	11.4547	0.001 **
FACTOR B	4	3.039673	0.759918	2.5156	0.046 *
INTERACCION	4	2.291260	0.572815	1.8962	0.117 NS
ERROR .	90	27.187012	0.302078		
TOTAL	99	35.978149			

C.V. = 13.16 %

** = Diferencia significativa al 1%

* = Diferencia significativa al 5%

NS = No significativo

PRUEBAS DE MEDIAS POR EL METODO DE TUKEY

Tabla 1a. Comparación de medias entre la kinetina y BA.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	4.3627 A
2	3.9909 B

Nivel de significancia = 0.01

Tukey = 0.2899

Nota: En las pruebas de medias que tengan la mismas letras son estadísticamente iguales.

PRUEBAS DE MEDIAS POR DMS

Tabla 1b. Comparación de medias de las concentraciones 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/l de kinetina y BA).

TRATAMIENTO	MEDIA
2	4.3368 A
1	4.3106 A
3	4.2269 A
4	4.1575 AB
5	3.8521 AB

Nivel de significancia = 0.05

DMS = 0.3439

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 1d. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	1.202201	1.202201	3.979771	3.91	6.83 *
CUADRATICO	1	0.277013	0.277013	0.917025	3.91	6.83
CUBICO	1	0.010020	0.010020	0.033170	3.91	6.83
RESTANTE	1	0.029354	0.029354	0.097175	3.91	6.83
ERROR	90	27.187021	0.302078			

* = Significancia

TABLA 2. Analisis de varianza para la variable de respuesta; % de explantes con raíces (datos transformados Ln (X+3))

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	46.950928	46.950928	48.8620	0.000 **
FACTOR B	4	27.346924	6.836731	7.1150	0.000 **
INTERACCION	4	9.141235	2.285309	2.3783	0.057 NS
ERROR	90	86.479980	0.960889		
TOTAL .	99	169.919067			

C.V. = 28.17%

PRUEBAS DE MEDIAS POR EL METODO TUKEY

Tabla 2a. Comparación de medias entre kinetina y BA

TRATAMIENTO	MEDIA
1	4.1650 A
2	2.7946 B

Nivel de significancia = 0.01

Tukey = 0.5171

Tabla 2b. Comparación entre concentraciones 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.5 mg/l de kinetina y BA

TRATAMIENTO	MEDIA
2	4.2004 A
1	3.8676 A
3	3.3542 AB
4	3.3038 AB
5	2.6730 B

Nivel de significancia = 0.01

Tukey = 1.044

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 2d. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)	
LINEAL	1	10.796478	10.796478	11.235927	3.91	6.83	*
CUADRATICO	1	0.914332	0.914332	0.951548	3.91	6.83	
CUBICO	1	0.358322	0.358322	0.372906	3.91	6.83	
RESTANTE	1	1.604172	1.604172	1.669467	3.91	6.83	
ERROR	9	8 6.480008	0.960889				

TABLA 3. Analisis de varianza para la variable de respuesta; longitud de tallos (datos transformados en $\ln X+3$).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	0.372559	0.372559	1.9499	0.162 NS
FACTOR B	4	3.390076	0.847519	4.4357	0.003 **
INTERACCION	4	0.454224	0.113556	0.5943	0.671 NS
ERROR	90	7.196167	0.191069		
TOTAL	99	21.413025			

C.V. = 14.20 %

PRUEBAS DE MEDIAS POR EL METODO DE TUKEY

Tabla 3a. Comparación de medias entre concentraciones; 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/l de kinetina y BA

TRATAMIENTO	MEDIA
2	3.2828 A
1	3.1923 AB
3	3.1716 AB
4	2.9790 AB
5	2.7682 B

Nivel de significancia = 0.01

Tukey = 0.4657

POLINOMIOS ORTOGONALES.

Tabla 3c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	1.326874	1.326874	6.944477	3.91	6.83 *
CUADRATICO	1	0.334379	0.334379	1.750041	3.91	6.83
CUBICO	1	0.033690	0.033690	0.176326	3.91	6.83
RESTANTE	1	0.000462	0.000462	0.002416	3.91	6.83
ERROR	90	17.196211	0.191069			

TABLA 4. Análisis de varianza para la variable de respuesta; numero de nudos en tallos (datos transformados en $\sqrt{X+0.5}$).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	0.725220	0.725220	12.0903	0.001 **
FACTOR B	1	1.339172	0.334793	5.5814	0.001 **
INTERACCION	4	1.349945	0.337486	5.6263	0.001 **
ERROR	90	5.398529	0.059984		
TOTAL	99	8.812866			-

C.V. = 12.91%

PRUEBAS DE MEDIAS POR EL METODO DE TUKEY

Tablas 4a. Comparación de medias entre kinetina

TRATAMIENTO	MEDIA
1	1.9820 A
2	1.8118 B

Nivel de significancia = 0.01

Tukey = 0.1292

Tabla 4b. Comparación de medias entre concentraciones
0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/l de kinetina y
BA

TRATAMIENTO	MEDIA
2	1.9944 A
3	1.9625 A
1	1.9588 A
4	1.8938 AB
5	1.6749 B

Nivel de significancia = 0.01
Tukey = 0.2610

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 4d. Análisis de varianza para polinomios
ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	0.446625	0.446625	7.463654	3.91	6.83 *
CUADRATICO	1	0.213018	0.213018	3.559788	3.91	6.83
CUBICO	1	0.006831	0.006831	0.114155	3.91	6.83
RESTANTE	1	0.002973	0.002973	0.049674	3.91	6.83
ERROR	90	5.385600	0.059840			

EXPERIMENTO 2

TABLA 5. Análisis de varianza para la variable de
respuesta; porciento de explantes con tallos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	1291.671875	645.835938	4.2273	0.025 *
ERROR	27	4125.000000	152.777771		
TOTAL	29	5416.671875			

C.V. = 13.48 %

PRUEBA DE MEDIAS POR EL METODO DMS (DIFERENCIA MINIMA SIGNIFICATIVA).

Tabla 5a. Comparación de medias de 1, 2 y 3 nudos por explantes.

TRATAMIENTO	MEDIA
3	97.500000 A
2	95.000000 A
1	82.500000 B

Nivel de significancia = 0.05
POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 5c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	1125.000000	1125.000000	7.363637	4.21	7.68
CUADRATICO	1	166.666672	166.666672	1.090909	4.21	7.68
ERROR	27	4124.999817	152.777771			

TABLA 6. Análisis de varianza para la variable de respuesta; numero de tallos por frasco.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTO	2	2.066650	1.033325	4.2272	0.025 *
ERROR	27	6.600006	0.244445		
TOTAL	29	8.666656			

C.V. = 13.48 %

PRUEBA DE MEDIAS POR EL METODO DMS

Tabla 6a. Comparación de medias entre tratamiento.

TRATAMIENTO	MEDIA
3	3.9000 A
2	3.8000 A
1	3.3000 B

Nivel de significancia = 0.05

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 6c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	1.800001	1.800001	7.363623	4.21	7.68 *
CUADRATICO	1	0.266667	0.266667	1.090907	4.21	7.68
ERROR	27	6.600015	0.244445			

EXPERIMENTO 3**TABLA 7.** análisis de varianza para la variable de respuesta; longitud de tallos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	257.250000	128.625000	3.3816	0.048 *
ERROR	27	026.992188	38.036747		
TOTAL	29	1284.242188			

C.V. = 23.55 %

PRUEBA DE MEDIAS POR EL METODO DMS

Tabla 6a. Comparación de medias entre tratamiento.

TRATAMIENTO	MEDIA
3	3.9000 A
2	3.8000 A
1	3.3000 B

Nivel de significancia = 0.05

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 6c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	1.800001	1.800001	7.363623	4.21	7.68 *
CUADRATICO	1	0.266667	0.266667	1.090907	4.21	7.68
ERROR	27	6.600015	0.244445			

EXPERIMENTO 3**TABLA 7.** análisis de varianza para la variable de respuesta; longitud de tallos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	257.250000	128.625000	3.3816	0.048 *
ERROR	27	026.992188	38.036747		
TOTAL	29	1284.242188			

C.V. = 23.55 %

PRUEBA DE MEDIAS POR EL METODO DE DMS

Tabla 7a. Comparación de medias de 4, 8 y 12 densidades de explantes (tres tratamientos).

TRATAMIENTO	MEDIA
3	30.1000 A
2	25.3900 AB
1	23.0600 B

Nivel de significancia = 0.05

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 7c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)
LINEAL	1	247.807938	247.807938	6.514961	4.21	7.68 *
CUADRATICO	1	9.440660	9.440660	0.248198	4.21	7.68
ERROR	27	1026.992168	38.036747			

TABLA 8. Analisis de varianza para la variable de respuesta; numero de tallos por frasco.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTO	2	263.465675	131.733337	114.0002	0.000 **
ERROR	27	31.199951	1.155554		
TOTAL	29	294.665626			

C.V. = 16.2

PRUEBA DE MEDIAS POR EL METODO DMS

Tabla 8a. Comparación de medias de las 3 densidades de siembra (4, 8 y 12 explantes).

TRATAMIENTO	MEDIA
3	10.0000 A
2	7.2000 B
1	2.8000 C

Nivel de significancia = 0.01

POLINOMIOS ORTOGONALES

Tabla 8c. Análisis de varianza para polinomios ortogonales

FV	GL	SC	CM	F	F(0.05)	F(0.01)	
LINEAL	1	259.199982	259.199982	224.307968	4.21	7.68	*
CUADRATICO1		4.266664	4.266664	3.692310	4.21	7.68	
ERROR	27	31.199960	1.155554				